

VARIACIÓN ESTACIONAL DE LA REPELENCIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE MONIMIACEAE SOBRE *Sitophilus zeamais* Motschulsky (CURCULIONIDAE)

SEASONAL VARIATION OF REPELLENCY OF ESSENTIAL OILS OF MONIMIACEAE AGAINST *Sitophilus zeamais* Motschulsky (CURCULIONIDAE)

Cristian Ortiz¹, Gonzalo Silva^{1*}, Ernesto Moya¹, Susana Fischer¹, Angélica Urbina¹, J. Concepción Rodríguez²

¹ Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

² Programa de Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Km 36,5 Carretera Federal, México-Texcoco, Montecillo, Estado de México, México.

* Autor para correspondencia E-mail: gosilva@udec.cl

RESUMEN

Sitophilus zeamais (gorgojo del maíz) en cereales almacenados se controla principalmente con insecticidas sintéticos. Una alternativa son los insecticidas botánicos, especialmente los aceites esenciales. En Chile, los mejores resultados se han obtenido con los de *Peumus boldus* (boldo), *Laurelia sempervirens* (laurel) y *Laureliopsis philippiana* (tepa). Se estudió en laboratorio la repelencia de estos tres extractos sobre *S. zeamais* a lo largo del año. Los componentes principales de *P. boldus* fueron 1-8-cineol (14,9 a 40%) y ascaridol (24,37%). En *L. sempervirens* destacaron metil-eugenol (4,6 a 39,7%) y safrol (38,5 a 64,7%), y en *L. philippiana* safrol (17 a 39,6%) y linalool (0,9 a 34,5%). Salvo los extractos de *L. philippiana* y *P. boldus* al 0,125 y 0,25%, todos los tratamientos causaron repelencia, con mayor nivel en concentraciones $\geq 4\%$. Sólo el aceite esencial de *L. sempervirens* presentó variación estacional, con mayor repelencia en el follaje colectado en verano. La falta de efecto estacional de los aceites esenciales de *P. boldus* y *L. philippiana* se estiman promisorias para el control de plagas de granos almacenados durante todo el año.

Palabras clave: insecticidas vegetales, gorgojo del maíz, terpenos, boldo, laurel, tepa.

ABSTRACT

Sitophilus zeamais (maize weevil) in stored cereals is mainly controlled with the use of synthetic insecticides. Botanical insecticides, particularly essential oils, are an alternative to use of synthetic insecticides. In Chile, the best results have been obtained with the use of essential oils of *Peumus boldus* (boldo), *Laurelia sempervirens* (laurel) and *Laureliopsis philippiana* (tepa). A study was conducted in the laboratory to evaluate the repellency of these three extracts against *S. zeamais* throughout the year. The main components of each essential oil were: 1-8-cineol (from 14.9 to 40%) and ascaridol (24.37%) in *P. boldus*; methyl eugenol (from 4.6 to 39.7%) and safrole (from 38.5 to 64.7%) in *L. sempervirens*; safrol (from 17 to 39.6%) and linalool (from 0.9 to 34.5%) in *L. philippiana*. Except for the extracts of *L. philippiana* and *P. boldus* at 0.125 and 0.25%, all treatments caused repellency, reaching higher levels at concentrations $\geq 4\%$. Only the essential oil of *L. sempervirens*

presented seasonal variation, with greater repellency in the foliage collected in summer. Due to the absence of seasonal effects, essential oils of *P. boldus* and *L. philippiana* are considered promising for the control of pests in stored grains throughout the year.

Key words: botanical insecticides, maize weevil, terpenoids, boldo, laurel, tepa.

INTRODUCCIÓN

El gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera; Curculionidae) es una plaga primaria mundial de cereales almacenados, que si no se controla en el almacenamiento puede destruirlos completamente en seis meses (Tefera et al., 2011). Los adultos y larvas se alimentan del endosperma; su respiración aumenta la temperatura y permite el ingreso de plagas secundarias y hongos (Trematerra et al., 2015).

Los insecticidas sintéticos son el método de control más usado contra los insectos plaga en granos almacenados. Sin embargo, *S. zeamais* ha desarrollado resistencia a insecticidas organofosforados (Evans, 1985; Pérez-Mendoza, 1999), piretroides (Ribeiro et al., 2003) y al fosforo de aluminio (Pimentel et al., 2009), lo que ha incentivado la búsqueda de métodos alternativos de control, entre los que se encuentran productos naturales como los insecticidas de origen vegetal (Roel y Vendramim, 2006), siendo necesario estudiar especies chilenas que tengan esta actividad biológica (Pizarro et al., 2013).

Los mejores resultados de control se han obtenido con plantas aromáticas, en especial de la familia Monimiaceae (Bittner et al., 2008). En Chile, esta familia tiene solo tres especies nativas: *Peumus boldus* Molina (boldo), *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul (laurel) y *Laureliopsis philippiana* Looser (tepa) (Rodríguez et al., 2005). Bittner et al. (2008) y Betancur et al. (2010) describieron el efecto insecticida de contacto y fumigante además de actividad repelente del aceite esencial de *P. boldus* contra *S. zeamais* y *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Bruchidae). Bittner et al. (2008) y Zapata y Smaghe (2010), encontraron que el aceite esencial de *L. sempervirens* presenta efecto insecticida fumigante sobre *A. obtectus*, y *Tribolium castaneum* (Herbst) (Tenebrionidae). En relación a la acción tóxica de *L. philippiana*, Ortiz et al. (2012) indicaron que el polvo de hojas secas de esta planta tiene toxicidad por contacto y causa repelencia hacia *S. zeamais*. A su vez, Norambuena et al. (2016) encontraron que el aceite esencial de *L. philippiana*, presenta un 100% de mortalidad por fumigación, un 87,9% de efecto antialimentario y todas las concentraciones evaluadas fueron repelentes.

La repelencia es una respuesta defensiva, física o química, de las plantas contra los herbívoros,

directamente o a distancia, que reduce la posibilidad de una plaga para utilizarlas como alimento, refugio o sitio de oviposura (Fancelli et al., 2005; Castro et al., 2011). En los sistemas de defensa están involucrados metabolitos secundarios (Nerio et al., 2010), los que evitan que el insecto responda al estímulo olfativo, y afectan el encuentro y reconocimiento del hospedero y por tanto causan repelencia (Rodríguez et al., 2003). Sin embargo, los insecticidas de origen vegetal presentan variabilidad en el tipo, número y concentración de compuestos químicos (Rodríguez et al., 2003), debido fundamentalmente a factores estacionales, ubicación geográfica y estado fenológico del material colectado. En esta investigación se evaluó en laboratorio la posible variación estacional de las propiedades repelente de los aceites esenciales de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* sobre adultos de *S. zeamais*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región del Bío-bío, Chile.

Insectos

Se colectaron ejemplares de *S. zeamais* de cereales infestados, en el mercado de frutas y hortalizas de Chillán, que se mantuvieron en frascos de vidrio de 1 L con maíz (*Zea mays* L.) Dekalb cv. DK 440 como sustrato alimenticio, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ HR y 12:12 h de luz:oscuridad en una cámara IPS 749 (Memmert GmbH, Schwabach, Germany). La identificación taxonómica de los insectos se confirmó por comparación morfológica con la colección de referencia del Departamento de Zoología de la Facultad de Recursos Naturales y Oceanográficos de la Universidad de Concepción.

Material vegetal

Se colectaron hojas de *P. boldus* y *L. sempervirens* en Los Lleuques ($36^\circ 51' 18''$ S, $71^\circ 38' 34''$ W, 286 msnm), Provincia de Ñuble, Región del Bío-bío, Chile, y *L. philippiana* en la Provincia de Maullín ($41^\circ 41' S$, $73^\circ 25' W$, 28 msnm), Región de Los Lagos, zonas libres de polución, que en estudios previos (Pérez et al., 2007; Ortiz et al., 2012)

presentaron resultados promisorios. Las hojas se colectaron a una altura constante y de los cuatro puntos cardinales del árbol (Vogel et al., 1997), en todas las estaciones del año, y siempre en los mismos árboles, que se identificaron con estacas. La identificación botánica se verificó por comparación anatómica con material en el herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Chile. Estas hojas se secaron en laboratorio en un horno de convección forzada (Memmert GmbH, UNB 500, Schwabach, Germany) a $40 \pm 5^\circ\text{C}$ por 72 h. El aceite esencial desde estas hojas secas se obtuvo por hidrodestilación por arrastre de vapor en un destilador Clevenger por 3 h (Chu et al., 2011). Los residuos de agua en el aceite esencial se eliminaron con NaSO_3 y los extractos se almacenaron en frascos de vidrio ámbar a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ en refrigerador.

Los aceites esenciales de las cuatro estaciones se analizaron por cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas GC-MS utilizando un cromatógrafo (HPGC-MS, Hewlett Packard series II 5890) de alta resolución, en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.

Repelencia

La repelencia se evaluó siguiendo la metodología de Mazzonetto y Vendramim (2003), con modificaciones. La unidad experimental (UE) consistió en una arena de libre elección formada por cinco placas Petri plásticas de 5 cm de diámetro, con una placa central conectada a las otras cuatro con tubos plásticos de 10 cm de largo y 0,5 cm de diámetro, formando una X. En las placas periféricas se pusieron 20 g de maíz, impregnados sólo en placas opuestas con las concentraciones del aceite esencial a evaluar. Luego se liberaron 50 insectos adultos de 48 h de edad sin diferenciación de sexo en la placa

central. La UE se mantuvo en cámara por 24 h a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y se contaron los insectos en cada placa. Con estos resultados se calculó el índice de repelencia (IR) de Mazzonetto y Vendramim (2003), que clasifica el tratamiento como neutro si el $\text{IR} = 1$, atrayente si el $\text{IR} > 1$ y repelente si el $\text{IR} < 1$. Para una calificación más precisa de los tratamientos repelentes se elaboró una escala desde sin repelencia hasta una repelencia muy alta (Tabla 1). Se evaluaron concentraciones de 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; y 8% de cada aceite esencial en 1 mL de acetona, con cuatro repeticiones y en cinco días diferentes. Además en cada repetición los tratamientos se distribuyeron al azar para evitar interferencias de factores externos como luz o temperatura.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental factorial 4×7 (cuatro estaciones del año y siete concentraciones de cada aceite esencial) completamente al azar. Los resultados se analizaron con el software InfoStat® (Di Rienzo et al., 2008), previa transformación por $X + 0,5^{0,5}$ (Gómez y Gómez, 1984) para asegurar una distribución normal, para análisis de varianza del efecto de los tratamientos y pruebas de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0,05\%$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El componente principal del aceite esencial de *P. boldus* fue 1-8-cineol (con 35,39% en otoño; 39,96% en invierno; 14,85% en primavera y 32,3% en verano), seguido de ascaridol (24,37%), compuesto que se encontró sólo en primavera (Tabla 2). En el aceite esencial de *L. sempervirens* no se detectó ascaridol, y 1-8-cineol solo se encontró en otoño y primavera en concentraciones $< 2\%$. Los compuestos en mayor concentración en el aceite esencial de *L. sempervirens* fueron metil-

Tabla 1. Escala complementaria al índice de repelencia de Mazzonetto y Vendramin (2003).
Table 1. Complementary scale to Mazzonetto and Vendramin (2003) repellency index.

Valor índice de repelencia (IR)*	Categoría
$\geq 1,0$	Sin repelencia
0,76-0,99	Repelencia débil
0,51-0,75	Repelencia moderada
0,26-0,50	Repelencia alta
0,0 - 0,25	Repelencia muy alta

* Índice de repelencia (IR) = $2G / (G + P)$, donde G = porcentaje de insectos de cada tratamiento, y P = porcentaje de insectos en el testigo.

* Repellency index (IR) = $2G / (G + P)$, where G = percentage of insects in each treatment, and P = percentage of insect in the control treatment.

Tabla 2. Principales constituyentes de los aceites esenciales de *L. semperivirens*, *L. philippiana* y *P. boldus*, desde follaje colectado en otoño, invierno, primavera y verano, determinado por cromatografía de gases y espectrometría de masas.

Table 2. Main components of the essential oils of *L. semperivirens*, *L. philippiana*, and *P. boldus* in foliage collected in fall, winter, spring, and summer, determined by gas chromatography and mass spectrometry.

Componentes (%)	Concentración (%)											
	<i>Laurelia semperivirens</i>				<i>Laurelopsis philippiana</i>				<i>Peumus boldus</i>			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
1-8-cineol	0,19	-	1,47	-	9,69	9,21	8,28	-	35,39	39,96	14,85	32,3
Isoterpinoлено	0,13	-	0,10	1,46	-	-	-	0,12	0,29	18,26	-	14,5
Terpineol	0,48	-	0,10	-	3,59	3,56	3,32	0,44	2,55	3,84	2,14	6,56
Terpinen-4-ol	0,13	-	0,10	0,13	0,54	-	-	0,13	2,55	4,54	3,37	3,57
g-Terpineno	3,73	2,31	0,03	3,38	-	-	0,14	4,49	-	-	3,94	7,34
p-Cimene	0,54	-	0,25	0,33	1,15	1,40	0,07	0,77	8,68	8,46	0,21	7,60
Methyl-eugenol	39,74	28,49	14,64	20,54	8,30	8,12	4,47	61,38	1,08	0,33	0,46	0,19
Safrol	38,47	59,11	64,70	57,98	29,87	32,63	39,56	17,04	-	-	1,45	-
Linalool	0,97	0,61	9,91	0,68	29,79	27,39	34,45	0,85	-	-	-	0,86
(E)-germacreno D	1,01	0,72	0,95	2,31	0,92	0,89	0,84	2,54	-	-	0,45	0,18
B-Tujene	6,61	4,56	0,23	-	-	-	0,04	-	-	-	0,32	-
Ascaridol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24,37	-
Trans-b-ocymen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,87	-

eugenol (39,74% en otoño, 28,49% en invierno, 14,64% en primavera y 20,54% en verano) y safrol (38,47% en otoño, 59,11% en invierno, 64,7% en primavera, y 57,98% en verano). El safrol también se encontró en concentraciones significativas en *L. philippiana* (29,87% en otoño, 32,63% en invierno, 39,56% en primavera, y 17,04% en verano), y linalool en alta proporción (29,79% en otoño, 27,39% en invierno, 34,45% en primavera y 0,85% en verano) (Tabla 2).

En los tres aceites esenciales evaluados, la repelencia aumentó con la concentración, con un efecto significativamente mayor con concentraciones ≥ 4%. Entre 0,125 y 2%, los aceites fueron neutros o con repelencia débil, y aunque las concentraciones de 2% de los aceites esenciales obtenidos en las cuatro estaciones causaron IR moderados (0,51-0,75) (Tabla 1), no presentaron diferencias estadísticas con concentraciones menores, con IR cercanos o superiores a 1 (Tabla 3). Estos resultados coinciden con Ortiz et al. (2012) y Norambuena et al. (2016), en que a pesar de que todas las concentraciones de polvo o aceite esencial de hojas de *L. philippiana* causaron repelencia, las concentraciones mayores tuvieron un índice comparativamente menor lo que implica un mayor efecto repelente; aunque el polvo mostró, en las concentraciones menores, mayor efecto repelente que el aceite esencial. Por su parte, Zapata y Smagghe (2010) evaluaron el aceite esencial de hojas y corteza de *L. sempervirens*

y obtuvieron una fuerte repelencia hacia *T. castaneum*. Los resultados también concuerdan con Cruzat et al. (2009), Nuñez et al. (2010), y Pizarro et al. (2013), quienes concluyeron que si bien todas las concentraciones de polvo de hojas de *P. boldus* tienen efecto repelente, las mayores causan un efecto mayor. Sin embargo, Pizarro et al. (2013) encontraron que incluso las concentraciones más bajas de polvo (0,125; 0,25 y 0,5% p/p) son capaces de mantener al insecto alejado del grano y evitan posibles reinfestaciones, lo que no ocurrió con el aceite esencial, que para causar un efecto repelente significativo fue necesario utilizarlo al menos al 4%. La diferencia entre esos resultados y los de la presente investigación, es que aquí el valor del IR se analizó estadísticamente, y tratamientos aun inferiores al 4% a pesar de que presentaron repelencia moderada, no mostraron diferencias significativas con concentraciones que no causaron repelencia, lo cual refrenda la gran variabilidad que tiene el uso de compuestos vegetales para el control de insectos plaga. Así, para una repelencia significativa es recomendable utilizar aceite esencial de *L. philippiana*, *L. sempervirens* o *P. boldus* en concentraciones no inferiores al 4%.

La repelencia obtenida con *L. sempervirens* y *L. philippiana* se puede atribuir al alto contenido de safrol y metil-eugenol, y en *L. philippiana* de safrol potenciado con linalool. Al respecto, Niemeyer y Teillier (2007), Bittner et al. (2008),

Tabla 3. Efecto de la concentración sobre la repelencia (IR) de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* contra adultos de *S. zeamais*.

Table 3. Effect of the concentration of essential oil of *L. sempervirens*, *L. philippiana*, and *P. boldus* on the repellency (RI) against adults of *S. zeamais*.

Especie	<i>L. philippiana</i>	<i>P. boldus</i>	<i>L. sempervirens</i>
Concentración (%)	-----	Índice de repelencia (IR)*	-----
0,125	1,1 a	1,01 a	0,96 a
0,25	1,05 ab	1,05 a	0,93 a
0,5	0,83 ab	0,82 a	0,91 ab
1,0	0,78 ab	1,10 a	0,88 ab
2,0	0,6 bc	0,72 a	0,65 bc
4,0	0,26 c	0,32 b	0,60 c
8,0	0,23 c	0,18 b	0,38 c
CV(%)	18,51	15,62	11,53

* Índice de repelencia (IR) = 2G / (G + P), donde G = porcentaje de insectos de cada tratamiento y P = porcentaje de insectos en el testigo.

* Repellency index (IR) = 2G / (G + P), where G = percentage of insects in each treatment, and P = percentage of insects in the control treatment.

En la columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes (Tukey, p ≤ 0,05). CV: Coeficiente de variación.

Values in a column with the same letter are not significantly different (Tukey, p ≤ 0.05). CV: Coefficient of variation.

Zapata y Smagghe (2010) y Torres et al. (2015), también señalan que la actividad biológica de *L. sempervirens* probablemente se debe a que su aceite esencial posee un alto contenido de safrol y metileugenol. Ngoh et al. (1998) indicaron que safrol y en menor medida metileugenol es un repelente poderoso contra ninfas de *Periplaneta americana* (L.) (Blattidae). Igualmente Wu et al. (2015) señalan que el aceite esencial de *Liriope muscari* Bailey, con 42,15% de metil-eugenol, posee una fuerte repelencia contra *Lasioderma serricorne* (F.) (Anobiidae), *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae) y *T. castaneum*.

En *L. philippiana*, safrol se podría potenciar con linalool, el que por si solo ha tenido efecto repelente contra *Aedes aegypti* (L.) (Culicidae) (Müller et al. 2009), *S. zeamais* (Cansian et al. 2015), *Plutella xylostella* (L.) (Plutellidae) (Mao-xin et al. 2004) y *Lycorma delicatula* (White) (Fulgoroidea) (Yoon et al. 2011).

En *P. boldus*, solo predominó el compuesto 1-8 cineol en todas las estaciones, ya que ascaridol se encuentra sólo en el aceite proveniente de hojas colectadas en primavera, por lo que es probable que no sea determinante en su actividad repelente. Sobre 1-8 cineol como compuesto individual, Obeng-Ofori et al. (1997) reportaron repelencia contra *S. zeamais* y *S. granarius* (L.), mientras Klocke et al. (1987) encontraron repelencia sobre *A. aegypti*. Con aceites esenciales de otras plantas que también tienen 1-8 cineol como componente principal se reportó efecto contra *S. zeamais* (Ukeh et al., 2009), *Culex pipiens molestus* L. (Culicidae) (Traboulsi et al., 2005), *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Aphididae) (Hori y Komatsu, 1997) y *T. castaneum* (Wang et al., 2006).

Solo *L. sempervirens* presentó interacción significativa entre la estacionalidad y la concentración, con diferencias estadísticas entre el aceite esencial extraído en verano en las concentraciones de 2 y 4% con los demás tratamientos y estaciones del año (Tabla 4). Estas dos concentraciones causaron un IR cercano a 0, lo que indica una repelencia muy alta. La repelencia obtenida al 8% fue significativamente menor que al 2 y 4, probablemente debido a un efecto de saturación en las semillas de *S. zeamais*, lo que coincide con Franzios et al. (1997), quienes indican que la toxicidad de los aceites esenciales no siempre presenta una relación lineal con la concentración de los componentes principales. Los aceites esenciales de *L. sempervirens* extraídos en otoño, primavera e invierno, en estas mismas concentraciones causaron IR cercanos a 1, correspondientes a una repelencia débil. En los tratamientos de 0,125 a 1%, no hubo diferencia estadística en los IR para las

diferentes estaciones del año en que se colectaron hojas, fluctuando entre 0,64 y 1,22, que implica repelencia moderada a nula. Al 8%, a pesar que en todas las estaciones de colecta se obtuvo un $IR \leq 0,5$, que corresponde a repelencia alta, no hubo diferencia estadística entre estaciones (Tabla 3). Los resultados concuerdan con Torres et al. (2015), quienes concluyeron que aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, las mayores concentraciones de polvo de *L. sempervirens* presentaron mayor efecto repelente. Torres et al. (2014) tampoco encontraron diferencias al evaluar la repelencia de varias concentraciones de aceite esencial de *L. sempervirens* sobre *S. zeamais*, aunque no se indica la época de muestreo.

Así, los resultados obtenidos con los aceites de las diferentes estaciones corroboran la importancia que tiene registrar la época de muestreo del follaje para obtener un efecto repelente significativo del aceite esencial de *L. sempervirens*. Sin embargo, aunque la tendencia obtenida en los resultados indica claramente que con las concentraciones más altas no importa la temporada de muestreo del follaje, lo ideal es utilizar la menor concentración posible, por lo que la mejor alternativa corresponde a aceite esencial al 2% y extraído de follaje colectado en verano. Este resultado es relevante para los productores de cereales de la zona sur de Chile, donde *L. sempervirens* es más abundante que *P. boldus*, junto con que el período de cosecha de cereales a fines de verano coincide en que el follaje de *L. sempervirens* produce el aceite esencial con mayor efecto repelente. Además, los costos serían menores, ya que esta recolección no hace necesario almacenar hojas o aceite esencial y por lo mismo no se perderá actividad biológica, ya que según Betancurt et al. (2010) el efecto antixenótico de los aceites esenciales disminuye gradualmente en el tiempo por volatilidad y fotodegradación.

Una explicación a la variación estacional obtenida en *L. sempervirens* se puede inferir al observar el análisis fitoquímico, en el que se encontraron diferencias en las concentraciones y número de los compuestos de acuerdo a la época de muestreo de hojas (Tabla 2). Además de safrol y metil-eugenol, que ocurren en altas concentraciones, otros dos compuestos que presentaron diferencias al comparar el aceite proveniente de material obtenido en verano con el resto de las estaciones, fueron isoterpinoleno (1,46% en verano, 0,13% en otoño, 0% en invierno y 0,1% en primavera), y (E)-germacreno D (2,31% en verano, 1,01% en otoño, 0,72% en invierno y 0,95% en primavera). Al respecto, Ramírez et al. (2012) encontraron que el aceite esencial

**Tabla 4. Índice de repelencia del aceite esencial de *L. sempervirens* sobre adultos de *S. zeamais*.
Table 4. Repellency index of the essential oil of *L. sempervirens* against adults of *S. zeamais*.**

Estación	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Concentración	Índice de repelencia (IR)*			
0,125	0,7 Aab	1,22 Aa	0,91 Aa	1,03 Aa
0,25	0,9 Aa	1,2 Aa	0,98 Aa	0,64 Aab
0,5	0,9 Aa	1,03 Aa	0,95 Aa	0,74 Aab
1,0	0,78 Aab	0,97 Aab	0,85 Aa	0,93 Aab
2,0	0,8 Aab	0,83 Aab	0,98 Aa	0,0 Bc
4,0	0,76 Aab	0,71 Aab	0,85 Aa	0,07 Bc
8,0	0,27 Ab	0,4 Ab	0,5 Aa	0,36 Abc

* Índice de repelencia (IR) = 2G / (G + P), donde G = porcentaje de insectos de cada tratamiento y P = porcentaje de insectos en el testigo.

*Repellency index (IR) = 2G / (G + P), where G = percentage of insects in each treatment, and P = percentage of insects in the control treatment.

En la fila, los valores con la misma letra mayúscula, y en la columna, los valores con la misma letra minúscula, no son significativamente diferentes (Tukey, p ≤ 0,05). Coeficiente de variación = 11,53%.

Values in a row with the same capital letter, and in a column with the same lowercase letter, are not significantly different (Tukey, p ≤ 0.05). CV: Coefficient of variation = 11.53%.

obtenido desde hojas de *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae), un efectivo insecticida y repelente de larvas y adultos de *A. aegypti*, es rico en sesquiterpenos, en particular germacreno D, su principal constituyente. Nerio et al. (2010) señalan que los compuestos volátiles de los aceites esenciales forman una barrera que disuade a los insectos a entrar en contacto con una superficie tratada, y según Bekele y Hassanali (2001) existe sinergismo entre los componentes de los aceites esenciales, por lo que su uso para control de insectos en forma de aceite esencial sería más eficiente que su principal compuesto aislado. Por lo tanto, safrol sumado a isoterpinoleno y (E)-germacreno D podrían ser los causantes del efecto repelente significativamente mayor observado en el aceite esencial de *L. sempervirens* cuando su follaje se colecta en verano. Los resultados anteriores permiten concluir que al 2%, el aceite esencial de *L. sempervirens* obtenido en verano presenta efecto repelente muy alto, según la escala de referencia (Tabla 1).

Los bioensayos con aceite esencial de *L. philippiana* y *P. boldus* no presentaron diferencia significativa del efecto repelente entre las diversas estaciones, y todos produjeron IR entre 0,66 y 0,84, clasificando como con repelencia moderada a débil (Tabla 5). Por consiguiente, al no haber diferencia en la época de extracción del follaje, este se puede obtener en cualquier momento del año. Sin embargo, al analizar las concentraciones de manera independiente, tanto

para el aceite esencial de *L. philippiana* como de *P. boldus*, si hubo una diferencia significativa en la concentración en que se utiliza el aceite esencial, siendo significativamente mayor la repelencia registrada en concentraciones ≥ al 2% que los tratamientos con menor dosis de aceite esencial. Estos resultados proyectan a los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* como repelentes potenciales de insectos en cereales almacenados, aunque es recomendable su posterior validación en esas condiciones.

CONCLUSIONES

El efecto repelente del aceite esencial de *L. sempervirens*, desde follaje colectado en verano contra adultos de *S. zeamais* fue mayor que en las otras estaciones. Los aceites esenciales de *L. philippiana* y *P. boldus* no presentaron estacionalidad en su efecto repelente.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto FONDECYT 11110105 de iniciación "Essential oil of *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul and *Laureliopsis philippiana* Looser as an alternative to synthetic insecticides to the *Sitophilus* spp. complex and *Acanthocelides obtectus* Say control in stored seeds".

Tabla 5. Efecto del muestreo estacional sobre el IR de los aceites esenciales de *L. philippiana* y *P. boldus* contra adultos de *S. zeamais*.

Table 5. Effect of the sampling season on the RI of the essential oils of *L. philippiana* and *P. boldus* against adults of *S. zeamais*.

Especie	<i>L. philippiana</i>	<i>P. boldus</i>
Estación	Índice de repelencia (IR)*	Índice de repelencia (IR)*
Otoño	0,78 a	0,66 a
Invierno	0,63 a	0,84 a
Primavera	0,62 a	0,76 a
Verano	0,73 a	0,71 a
CV(%)	18,51	15,62

* Índice de repelencia (IR) = $2G / (G + P)$, donde G = porcentaje de insectos de cada tratamiento y P = porcentaje de insectos en el testigo.

* Repellency index (IR) = $2G / (G + P)$, where G = percentage of insects on each treatments, and P =percentage insects on the control.

En la columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p \leq 0,05$). CV: Coeficiente de variación.

Values in a column with the same letter are not significantly different (Tukey, $p \leq 0,05$). Coefficient of variation.

LITERATURA CITADA

- Bekele, J., and A. Hassanali. 2001. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiataea) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* 57:385-391.
- Betancur, J., G. Silva, J.C. Rodríguez, S. Fischer, and N. Zapata. 2010. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean J. Agric. Res.* 70:399-407.
- Bittner, M., M. Casanueva, C. Arbert, M. Aguilera, V. Hernández, and J. Becerra. 2008. Effects of essential oils from five plants species against the granary weevil *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. *J. Chilean Chem. Soc.* 53:1455-1459.
- Brown, M., and A. Hebert. 1997. Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 36:243-249.
- Cansian, R.L., V. Astolfi, R.I. Cardoso, N. Paroul, S.S. Roman, A.A. Mielnoczki-Pereira, G.F. Pauletti and A.J. Mossi. 2015. Insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *Linaoolifera* Y. Fujita (Ho-Sho) and *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl. Var. *Hosyo* (Hon-Sho) on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae). *Rev. Bras. Pl. Med.* 17:769-773.
- Castro, A, D. Henriques, M. Coutinho, N. Terra, and M. de Sena Fernandes. 2011. Tomato plant inheritance of antixenotic resistance to tomato leafminer. *Pesq. Agropec. Bras.* 46:74-80.
- Chu, S., Q. Liu, G. Jiang, and Z. Liu. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Amethystea caerulea* L. *Natural Product Res.* 26:1207-1212.
- Cruzat, M., G. Silva, H. Serri, y R. Hepp. 2009. Protección de ocho cultivares de trigo con polvo de *Peumus boldus* Molina contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *IDESIA (Chile)* 37:39-46.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L.Gonzalez, M. Tablada, y C.W. Robledo. 2008. *InfoStat*, versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Evans, NJ. 1985. The effectiveness of various insecticides on some resistant beetle pests of stored products from Uganda. *J. Stored Prod. Res.* 21:105-109.
- Fancelli, M., J. Vendramim, R. Frighetto, e A. Lourenção. 2005. Exsudato glandular de genótipos de tomateiro e desenvolvimento de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) biótipo B. *Neotropical Entomology* 34:659-665.
- Franzios, G., M. Mirotsou, E. Hatzia Apostolou, J. Kral, Z.G. Scouras, and P. Mavragani-Tsipidou. 1997. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric. & Food. Chem.* 45:2690-2694.
- Gómez, K., and A. Gómez. 1984. *Statistical procedures for agricultural research.* 680 p. 2a. ed. John Wiley & Sons, New York, USA.

- Hori, M., and H. Komatsu. 1997. Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Appl. Entomol. & Zool.* 32:303-310.
- Klocke, J.A., M.V. Darlington, and M.F. Balandrin. 1987. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.* 13:2131-2141.
- Mao-xin, Z., B. Ling, C. Shao-ying, L. Guangwen, and P. Xiong-fei. 2004. Repellent and oviposition deterrent activities of the essential oil from *Mikania micrantha* and its compounds on *Plutella xylostella*. *Entomologia Sinica* 11:37-45.
- Mazzonetto, F., e J. Vendramim. 2003. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleóptera: Bruchidae) em feijão armazenado. *Neotropical Entomology* 32:145-149.
- Müller, G., A. Junnila, J. Butler, V.D. Kravchenko, E.E. Revay, R.W. Weiss, et al. 2009. Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. *J. Vector Ecol.* 34:2-8.
- Nerio, L, J. Oliver, and E. Stashenko. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101:372-378.
- Ngho, S., L.E.W. Choo, F.Y. Pang, Y. Huang, M.R. Kini, and S.H. Ho. 1998. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Pestic. Sci.* 54:261-268.
- Niemeyer, H., y S. Teillier. 2007. Aromas de la flora nativa de Chile. Universidad de Chile-Fundación para la Innovación Agraria (FIA), Santiago, Chile.
- Norambuena, C., G. Silva, A. Urbina, I. Figueroa, and J.C. Rodríguez. 2016. Insecticidal activity of *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schoode (Atheropermataceae) essential oil against *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae). *Chilean J. Agric. Res.* 76:330-336.
- Nuñez, P., G. Silva, M. Tapia, R. Hepp, J.C. Rodríguez, y A. Lagunes. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y boldo (*Peumus boldus* Mol.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Agro-Ciencia/Chil. J. Agric. Anim. Sci* 26:71-80.
- Obeng-Ofori, D., CH. Reichmuth, and A. Hassanali. 1997. Biological activity of 1,8 cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *J. Appl. Ent.* 121:237-243.
- Ortiz, A., G. Silva, A. Urbina, N. Zapata, J.C. Rodríguez, and A. Lagunes. 2012. Bioactivity of tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde) powder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky control in laboratory. *Chilean J. Agric. Res.* 72:68-73
- Pérez, F., G. Silva, M. Tapia, y R. Hepp. 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. *Pesq. Agropec. Bras.* 42:633-639
- Pérez-Mendoza, J. 1999. Survey of insecticide resistance in mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored. Prod. Res.* 35:107-115.
- Pimentel, M., L. Faroni, R. Guedes, A. Sousa, and M. Tótoia. 2009. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 45:71-74.
- Pizarro, D., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, A. Lagunes, et al. 2013. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) powder against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPM)* 12:420-430.
- Ramírez R., F. Mora, J. Avila, L. Rojas, A. Usubillaga, S. Segnini, et al. 2012. Composición química y actividad larvicida del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill. de Los Andes venezolanos contra el mosquito *Aedes aegypti* (L.). Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia* 53:2-6.
- Ribeiro, B., R. Guedes, E. Oliveira, and J. Santos. 2003. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 39:21-31.
- Rodríguez, C., G. Silva, y J. Vendramim. 2003. Insecticidas de origen vegetal. p. 87-112. In Silva, G., y R. Hepp. (eds.). Bases para el manejo racional de insecticidas. Universidad de Concepción/ Fundación para la Innovación Agraria, Facultad de Agronomía, Chillán, Chile.
- Rodríguez, R., E. Ruiz, y J.P. Elissetche. 2005. Árboles en Chile. Editorial Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Roel, A., e J. Vendramim. 2006. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciencia Rural* 36:1049-1054.

- Tefera, T., S. Mugo, and P. Likhayo. 2011. Effects of insect population density and storage time on grain damage and weight loss in maize due to the maize weevil *Sitophilus zeamais* and the larger grain borer *Prostephanus truncatus*. *Afric. J. Agric. Res.* 6:2249-2254.
- Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, et al. 2014. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean J. Agric. Res.* 74:421-426.
- Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, e I. Figueroa. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA) 14:48-59.
- Tretamaterra, P., R. Ianiro, C.G. Athanassiou, and N. Kavallieratos. 2015. Behavioral interactions between *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*: the first colonizer matters. *J. Pest. Sci.* 88:573-581.
- Traboulsi, A., S. El-Haj, M. Taobu, N.A. Nader, and A. Mrad. 2005. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera:Culicidae). *Pest Manag. Sci.* 61:597-604.
- Ukeh, D., M.A. Birkett, J.A. Pickett, A.S. Bowman, and A.J.M. Luntz. 2009. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Phytochemistry* 70:751-758.
- Vogel, H., I. Razmilic, y U. Doll. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo. *Ciencia e Investigación Agraria* 24:1-6.
- Wang, J., F. Zhu, X.M. Zhou, C.Y. Niu, and C.L. Lei. 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 42:339-347.
- Wu, Y., Z. Wen-Juan, W. Ping-Juan, K. Yang, H. Dong-Ye, W. Jian-Yu, et al. 2015. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (DECN.) Bailey against three insect tobacco storage pests. *Molecules* 20:1676-1685.
- Yoon, C., M. Sang-Rae, J. Jin-Won. S. Youn-Ho, C. Sun-Ran, A. Ki-Su, et al. 2011. Repellency of lavender oil and linalool against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and their electrophysiological responses. *J. of Asia-Pacific Entomol.* 14:411-416.
- Zapata, N., and G. Smagghe. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Ind. Crops & Prod.* 32:405-410.