

Actividad antialimentaria y repelente por contacto de extractos crudos de tomillo, estragón, copete y lavanda frente al insecto plaga *Epicauta atomaria* (Coleoptera: Meloidae)

WAGNER, Leandro S., FERNÁNDEZ, Estrella N., & CAMPOS-SOLDINI, María P.*

Laboratorio de Entomología, Centro de Investigación Científica y de Transferencia Tecnológica a La Producción (CICYTTP), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Autónoma de Entre Ríos (UADER), Dr. Materi N° 49, E3105BWA, Entre Ríos, Argentina

*E-mail: mariapaulacampos@gmail.com

Received 4 - V - 2023 | Accepted 26 - XI - 2023 | Published 31 - XII - 2023

<https://doi.org/10.25085/rsea.820405>

Antifeedant and contact repellent activity of thyme, tarragon, marigold and lavender crude extracts against *Epicauta atomaria* (Coleoptera: Meloidae)

ABSTRACT. Antifeedant and contact repellent activity of thyme, tarragon, marigold and lavender crude extracts against the insect pest *Epicauta atomaria* Germar, 1821 (Coleoptera: Meloidae) was evaluated. The extracts were obtained by sequential maceration with dichloromethane, ethyl acetate and methanol. The antifeedant and contact repellent activity was evaluated by means of the feeding index and repellency percentage respectively. The results obtained indicate that the tarragon dichloromethane, ethyl acetate, and methanol extracts, lavender methanol extract and marigold and thyme ethyl acetate extracts, had a strong antifeedant activity against *E. atomaria*, both with median AI values of 100 %. On the other hand, only the lavender dichloromethane extract had a moderate repellent activity against *E. atomaria*, at all the exposure times evaluated, with median repellency percentage values of 60 %, 80 % and 50 % at 15, 30 and 60 minutes of exposure, respectively.

KEYWORDS. *Artemisia dracunculus*. *Lavandula dentata*. *Tagetes patula*. *Thymus vulgaris*.

RESUMEN. Se evaluó la actividad antialimentaria y repelente por contacto de extractos crudos de tomillo, estragón, copete y lavanda contra el insecto plaga *Epicauta atomaria* Germar, 1821 (Coleoptera: Meloidae). Los extractos se obtuvieron mediante maceración secuencial con diclorometano, acetato de etilo y metanol. La actividad antialimentaria y repelente por contacto se evaluó mediante el índice de alimentación y porcentaje de repelencia respectivamente. Los resultados obtenidos indicaron que los extractos de diclorometano, acetato de etilo y metanol de estragón, el extracto de metanol de lavanda, y los extractos de acetato de etilo de copete y tomillo tuvieron una fuerte actividad antialimentaria frente a *E. atomaria*, ambos con valores de índice de alimentación medianos del 100 %. Por otra parte, solo el extracto de diclorometano de lavanda tuvo una moderada actividad repelente frente a *E. atomaria*, en todos los tiempos de exposición evaluados, con valores de porcentaje de repelencia medianos del 60 %, 80 % y 50 % a los 15, 30 y 60 minutos de exposición, respectivamente.

PALABRAS CLAVES. *Artemisia dracunculus*. *Lavandula dentata*. *Tagetes patula*. *Thymus vulgaris*.

INTRODUCCIÓN

Epicauta atomaria Germar, 1821 (Coleoptera: Meloidae) conocido comúnmente como falso bicho moro, es un insecto fitófago polífago defoliador y plaga de cultivos agrícolas como acelga, papa, batata, tomate, berenjena, pimiento, maní, remolacha, espinaca, soja y quinua (D'a Silva et al., 1968, Rosillo, 1969; Folcia et al., 1998; Di Iorio, 2004; Boito et al., 2009; Caceres et al., 2011;

Campos-Soldini et al., 2021). Incluso por su importancia económica, el SINAVIMO (Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas) destaca a esta especie como una importante plaga en la Argentina (Campos-Soldini et al., 2021). A pesar de ello, aún no se han establecido niveles de daño económico ni umbrales de acción que permitan un manejo adecuado de esta plaga.

Epicauta atomaria, así como el resto de los meloideos son en su mayor medida, controlados mediante la

aplicación de insecticidas sintéticos comerciales como los organoclorados, piretroides, organofosforados, y carbamatos (Ghoneim, 2013). Sin embargo, como es conocido, la aplicación de estos insecticidas sintéticos puede presentar graves problemas a la salud humana y del ambiente (Jabran et al., 2015; Bolzonella et al., 2019), como también propiciar la generación de plagas resistentes debido a la continua exposición a dichos insecticidas (Dermauw et al., 2018). Por esta razón, es que resulta fundamental investigar, y avanzar hacia el desarrollo de nuevas herramientas amigables con el ambiente, y que puedan ser utilizadas en el manejo de *E. atomaria*.

Las plantas son organismos capaces de sintetizar una enorme variedad de compuestos aleloquímicos, que están directa o indirectamente implicados en la defensa frente a insectos herbívoros (Hartmann, 2007; Böttger et al., 2018). Estos compuestos son una buena alternativa a uso de insecticidas sintéticos, principalmente debido a su baja toxicidad en humanos, naturaleza biodegradable y producción a partir de recursos renovables (Koul et al 2008). Dependiendo del efecto que estos compuestos aleloquímicos provocan en el insecto, se los puede clasificar como repelentes, antialimentarios (disuasivos de la alimentación), tóxicos, reguladores del crecimiento, entre otros (Cornell & Hawkins, 2003; Maia & Moore, 2011) brindando varias opciones de manejo. De hecho, varios compuestos químicos extraídos de plantas son actualmente utilizados como repelentes, antialimentarios e incluso como bioinsecticidas para el control de numerosos insectos plaga en varias partes del mundo, por ejemplo: la azadiractina obtenida de semillas del árbol de neem, el piretro extraído de flores de crisantemo y el limoneno presente de frutos de varios cítricos, son solo algunos de los compuestos químicos de origen vegetal usados como alternativa a los insecticidas sintéticos (Annandarajah et al., 2019; Barik, 2021; Yan et al., 2021; Johnston et al., 2022).

La utilización de compuestos químicos extraídos de las plantas es una de las estrategias de control de plagas más estudiadas en las últimas décadas. De hecho, muchos extractos de plantas como también de sus constituyentes químicos aislados, han mostrado una buena actividad antialimentaria y repelente en varios órdenes de insectos plaga como lepidópteros y coleópteros (Viglianco et al., 2008; Gvozdenac et al., 2012; Arivoli & Tennyson, 2013; Klyś et al., 2017; Anandhabhairavi et al., 2021; Murugesan et al., 2021; Pengsook et al., 2022). Desafortunadamente estos efectos, antialimentario y repelente, de extractos de plantas frente al insecto plaga *E. atomaria* es hasta el momento desconocido. Por esta razón se propone como objetivo evaluar la actividad antialimentaria y repelente por contacto de extractos crudos de copete (*Tagetes patula* L) (Asterales: Asteraceae), estragón (*Artemisia dracunculul* L) (Asterales: Asteraceae), lavanda

(*Lavandula dentata* L) (Lamiales: Lamiaceae), y tomillo (*Thymus vulgaris* L) (Lamiales: Lamiaceae) frente al insecto plaga *E. atomaria*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta, identificación y mantenimiento de insectos

Los ejemplares adultos de *E. atomaria* se recolectaron manualmente de diferentes plantas hospederas: yuyo colorado (*Amaranthus hybridus* L) (Caryophyllales: Amaranthaceae), barba de viejo (*Clematis montevidensis* Spreng) (Ranunculales: Ranunculaceae) y huevito de gallo (*Salpichroa organifolia* (Lam) Baill) (Solanales: Solanaceae) localizadas en zonas aledañas a la ciudad de Diamante, Argentina (32° 04' 00" S, 60° 39' 00" O), durante las estaciones cálidas del 2021. Los insectos recolectados se trasladaron, mediante recipientes de plástico (1 L), hasta el insectario del Laboratorio de Entomología del CICYTTP-CONICET-Gob. E.R-UADER, Diamante, Argentina. La identidad de los insectos se verificó mediante clave dicotómica (Campos-Soldini & Roig-Juñent, 2015). Las colonias de insectos se mantuvieron en cajas de vidrio (largo x ancho x alto= 50 x 30 x 50 cm) provistas con tapas hechas de malla de tela tipo voile, para permitir la correcta ventilación. Los insectos se alimentaron diariamente con hojas frescas de plantas hospederas y se mantuvieron a una temperatura de 27±3 °C, una humedad relativa de 65±10 % y un fotoperiodo programado en 16:8 h de luz-oscuridad.

Plantas cultivadas para la obtención de extractos crudos

Las semillas de copete, estragón, lavanda, y tomillo se cultivaron en macetas de plástico (5 L) provistas de un sustrato de tierra fértil (GrowMix®) durante un periodo de entre 4 y 6 meses (12 meses en el caso de lavanda y tomillo) coincidente con el inicio de la estación primaveral. Todas las plantas se cultivaron en un vivero de la ciudad de Diamante, Argentina hasta alcanzar el estado fenológico vegetativo previo al reproductivo.

Preparación de los extractos crudos

Las partes aéreas (hojas y tallos verdes) de copete, estragón, lavanda, y tomillo se colectaron y secaron en una habitación en ausencia de luz y a temperatura ambiente. Posteriormente el material vegetal seco se molió con un procesador electrónico hasta obtener un polvo grueso y se los almacenó en frascos de vidrio provistos de tapa con cierre hermético hasta su posterior uso. El material vegetal seco (200 g) se introdujo en un matraz de Erlenmeyer, y se lo sometió, en orden de polaridad creciente, a maceración secuencial usando como disolventes 4000 mL (3 x 1333 mL) de diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt) y metanol (MeOH) cada 72 horas. Los extractos obtenidos de la maceración se filtraron a través de un embudo tipo Buchner con papel de filtro (Boeco, Alemania). Los

filtrados obtenidos se evaporaron hasta total sequedad a presión reducida (60-70 cmHg a 40 °C) mediante un rotaevaporador, los extractos crudos obtenidos se pesaron con balanza de precisión y se recogieron en viales de vidrio esmerilado para finalmente almacenarlos en refrigerador a 4 °C para su posterior uso.

Ensayos de actividad antialimentaria.

La actividad antialimentaria de los extractos crudos de copete, estragón, lavanda, y tomillo se evaluaron mediante el método de doble elección de discos de hoja, similar al empleado por Viglianco et al. (2006) pero con modificaciones. Para tal fin se confeccionaron cajas de vidrio (10 x 10 x 3,2 cm) provista de una tapa de acrílico perforada que permitía el intercambio gaseoso (Fig. 1a). Para la realización del ensayo, se utilizaron como "alimento" discos de hoja de acelga de 1,77 cm². Con una micropipeta automática se aplicó a cada disco de hoja, 12 µL de una solución correspondiente a una dosis de 129 µg/cm² (extracto + acetona, para discos tratados) y 12 µL de acetona para los discos de hoja control. Los discos tratados y control fueron secados por un lapso de 10 minutos hasta total evaporación del solvente y colocados equidistantemente dentro de las cajas de vidrio (Fig. 1a). Para evitar el marchitamiento y la deshidratación, los discos de acelga se colocaron sobre un papel de filtro (20 cm²) humedecido con agua. Un insecto adulto de *E. atomaria* (sin sexar) y hambreado durante 24 h se colocó en la parte media de la arena experimental durante un periodo de 6 h. Se realizaron un total de cinco réplicas para cada tratamiento. Los ensayos se realizaron en el insectario a 28,5±2,8 °C, humedad relativa: 50±10 e iluminación proporcionada con luz LED blanca de 8 W.

Ensayo de actividad repelente por contacto.

La actividad repelente por contacto de extractos crudos de estragón y lavanda tomillo, fue evaluada mediante el método del área preferencial, similar al empleado por Tapondjou et al. (2005), pero con modificaciones. Para tal fin, se fabricó un dispositivo adaptado para *E. atomaria* que consistió en una placa de Petri (Ø= 9 cm) como base, provisto de un embudo de vidrio de 150 cc que se utilizó como tapa y para colocar los insectos dentro del dispositivo. El interior del dispositivo contenía un disco de hoja de acelga, ambos con una superficie de 95 cm² (Fig. 1b). A cada mitad del disco de hoja de acelga tratado (47,52 cm²) se le aplicó uniformemente con una micropipeta automática 200 µL de una solución correspondiente a una dosis de 200 µg/cm² (extracto + acetona), mientras que la mitad del disco de hoja control (47,52 cm²) solo recibió 200 µL de acetona. En el caso de los ensayos control, en ambas mitades del disco de hoja de acelga se les aplicó 200 µL de acetona. Los discos de hoja de acelga se dejaron reposar hasta la total evaporación del solvente. Se realizó un total de cuatro réplicas por tratamiento y por cada réplica se colocaron 10 insectos adultos (sin sexar) por la parte superior del

dispositivo (Fig. 1b). El número de insectos presentes en el área del disco de hoja tratado y control fue registrado a los 15, 30 y 60 minutos respectivamente. Los ensayos se realizaron en el insectario a 28,5±2,8 °C, humedad relativa: 50±10 e iluminación proporcionada con luz LED blanca de 8 W.

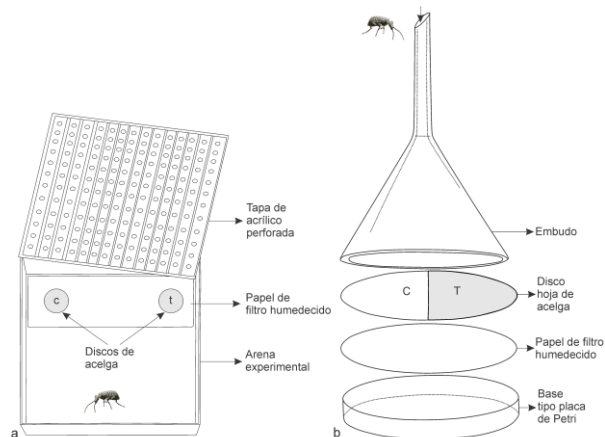


Fig. 1. a) Dispositivo para la evaluación de la actividad antialimentaria; b) Dispositivo para la evaluación de la actividad repelente por contacto.

Toma de datos y análisis estadísticos

Para los ensayos de actividad antialimentaria, la respuesta de *E. atomaria* en cada tratamiento se determinó mediante el índice de alimentación (IA) calculado como $(C - T) / (C + T) \times 100$, donde C representa el área consumida del disco control y T el área consumida del disco tratado (Diaz Napal et al., 2009). Los valores del (IA) varían entre -100 hasta 100, valores negativos indican un efecto fagoestimulante mientras que valores positivos un efecto antialimentario. Se utilizó el software Image J (Schneider et al., 2012) para calcular el área consumida de los discos de hoja por parte de los insectos. Se descartaron los ensayos en los que los insectos no comían al menos un 1 % del disco de hoja. Para los ensayos de actividad repelente por contacto, la respuesta de *E. atomaria* en cada tratamiento, se calculó mediante el porcentaje de repelencia (PR) calculado como $(Nc - Nt) / (Nc + Nt) \times 100$, donde Nc es el número de insectos en el área control y Nt el número de insectos en el área tratado (Tapondjou et al., 2005). Los valores del (PR) varían entre -100 hasta 100, valores negativos indican un efecto atrayente mientras que valores positivos un efecto repelente. Además, la potencia del efecto repelente se designó siguiendo la clasificación propuesta por McDonald et al. (1970), que agrupa el efecto repelente en cinco clases diferentes: Clase 0 (PR < 0,1 %), Clase I (0,1 % ≥ PR ≤ 20 %), Clase II (20,1 % ≥ PR ≤ 40 %), Clase III (40,1 % ≥ PR ≤ 60 %), Clase IV (60,1 % ≥ PR ≤ 80 %), Clase V (PR ≥ 80,1 %). Debido al incumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza, los datos de (IA) y (PR) obtenidos, se analizaron mediante análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y la diferencia entre grupos se determinó mediante el test de comparación múltiple de Conover-Inman. Todos

los análisis se realizaron a un valor $p < 0,05$ mediante software estadístico InfoStat Versión 2018 (Di Rienzo et al., 2020).

RESULTADOS

Actividad antialimentaria

La actividad antialimentaria de los extractos crudos de copete, estragón, lavanda, y tomillo frente a *E. atomaria* se resumen en la Tabla I. En todos los casos, al menos un extracto de cada planta presentó una fuerte actividad antialimentaria frente a *E. atomaria*, con valores medianos de (IA) del 100 %.

Tabla I. Actividad antialimentaria de extractos crudos de estragón, lavanda, copete y tomillo contra *E. atomaria*.

Planta	Extracto	Índice de alimentación (IA)
Estragón	DCM	100,0±17,2 b
	AcOEt	100,0±21,8 b
	MeOH	100,0±0,0 b
	Control	4,5±25,6 a
	H	11,28
	gl	3
	p	0,0024
Lavanda	DCM	13,8±20,1 ab
	AcOEt	0,0±29,8 a
	MeOH	100,0±3,0 b
	Control	4,5±25,6 a
	H	12,95
	gl	3
	p	0,0045
Copete	DCM	70,0±27,9 bc
	AcOEt	100,0±0,0 c
	MeOH	11,6±32,4 ab
	Control	4,5±25,6 a
	H	15,91
	gl	3
	p	0,0010
Tomillo	DCM	35,1±20,8 bc
	AcOEt	100,0±22,5 c
	MeOH	1,7±19,3 ab
	Control	4,5±25,6 a
	H	16,14
	gl	3
	p	0,0010

Dosis aplicada al disco de hoja: 129 µg/cm². IA: mediana ± rango intercuartílico Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (test de Kruskal-Wallis, test de comparación múltiple de Conover–Inman $p < 0,05$, $n = 5$)

En primer lugar, los extractos de DCM, AcOEt y MeOH extraídos de estragón, mostraron una fuerte actividad antialimentaria, todos con valores de (IA) medianos del 100 %, y significativamente diferentes respecto al control (test de Conover–Inman, $p < 0,05$). En segundo lugar, el extracto de MeOH de lavanda, tuvo una fuerte actividad antialimentaria (valor IA mediano= 100 %) y significativamente diferente del control (test de Conover–Inman, $p < 0,05$). Por último, el extracto de AcOEt de copete y tomillo, tuvieron una fuerte actividad antialimentaria, ambos con valores de (IA) medianos del 100 % y significativamente diferentes del control (test de Conover–Inman, $p < 0,05$).

Actividad repelente

La actividad repelente por contacto de los diferentes extractos crudos de estragón, lavanda, y tomillo contra *E. atomaria* se resumen en la Tabla II. Solo el extracto de DCM de lavanda presentó actividad repelente significativa en comparación al control en los tres tiempos de exposición en los que fue evaluado (test de Conover–Inman, $p < 0,05$). Los valores de (PR) medianos fueron relativamente moderados 60 % (Clase III), 80 % (Clase IV) y 50 % (Clase III) a los 15, 30 y 60 minutos de exposición, respectivamente. Por otra parte, el extracto de MeOH de estragón tuvo actividad repelente significativa en comparación al control, solo a los 15 y 30 minutos de exposición, con valores de (PR) de 60 % (Clase III) y 70 % (Clase IV), respectivamente (test de Conover–Inman, $p < 0,05$). Mientras que los extractos de DCM y AcOEt de tomillo, solo tuvieron actividad repelente significativa respecto al control, a los 30 minutos de exposición (test de Conover–Inman, $p < 0,05$) pero con valores de (PR) bajos del 50 % (Clase III) para ambos casos.

Tabla II. Porcentaje de repelencia (PR) de extractos crudos de lavanda, estragón y tomillo contra *E. atomaria* a los 15, 30 y 60 minutos de exposición.

Extracto	Porcentaje de repelencia (PR)		
	15 m	30 m	60
Lavanda			
DCM	60,0±15,0 c	80,0±15,0 b	50,0±50,0 b
AcOEt	10,0±35,0 ab	30,0±90,0 ab	-10,0±35,0 a
MeOH	40,0±30,0 bc	20,0±60,0 a	10,0±20,0 ab
Control	0,0±30,0 a	-10,0±20,0 a	0,0±15,0 a
H	10,94	8,97	8,13
gl	3	3	3
p	0,01	0,025	0,031
Estragón			
DCM	20,0±60,0 ab	30,0±35,0 ab	60,0±30,0 a
AcOEt	50,0±50,0 b	30,0±65,0 ab	30,0±65,0 a
MeOH	60,0±55,0 b	70,0±35,0 b	30,0±90,0 a
Control	0,0±30,0 a	-10,0±20,0 a	0,0±15,0 a
H	8,43	9,42	3,77
gl	3	3	3
p	0,033	0,022	0,265
Tomillo			
DCM	60,0±70,0 a	50,0±35,0 b	50,0±65,0 a
AcOEt	40,0±30,0 a	50,0±50,0 b	20,0±60,0 a
MeOH	40,0±30,0 a	0,0±30,0 a	40,0±40,0 a
H	6,63	11,21	4,69
gl	3	3	3
p	0,074	0,009	0,17

Dosis aplicada a la mitad del disco de hoja: 200 µg/cm². (mediana ± rango intercuartílico)

DISCUSIÓN

Actividad antialimentaria

En primer lugar, todos los extractos crudos extraídos de estragón, tuvieron una fuerte actividad antialimentaria frente a *E. atomaria*. Se observó en un estudio, que el extracto acuoso de estragón, inhibe la alimentación del escarabajo de la papa *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) y también de larvas

del crisomélido del cereal *Oulema melanopa* (Linnaeus, 1760) (Coleoptera: Chrysomelidae), en un 66,4 % y 100 %, respectivamente, a una concentración de aplicación sobre disco de alimento del 10 % (P/V), durante 12 h de exposición (Rusin et al., 2016). Otro estudio, determinó que extractos de acetona de ajeno *Artemisia absinthium* L. (Asterales: Asteraceae), planta del mismo género que el estragón, inhiben la alimentación de larvas de la polilla *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) entre un 66 y 80 %, del pulgón *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Homoptera: Aphididae) entre un 54 y 86 %, y del pulgón *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae) entre un 56 y 82 %, a una dosis de aplicación sobre disco de alimento de 100 µg/cm² (González-Coloma et al., 2012). En segundo lugar, solo el extracto de MeOH de lavanda inhibió la alimentación de *E. atomaria* en un 100 %. Hasta la fecha, la actividad antialimentaria de extractos crudos de lavanda no se ha estudiado en ningún insecto en particular. Sin embargo, el aceite esencial extraídos de hojas de *Lavandula luisieri* L. (Lamiales: Lamiaceae) inhibe la alimentación del crisomélido *L. decemlineata* entre un 20 y 76 %, y de larvas de *S. littoralis* entre un 23 y 77 %, ambos evaluados a una dosis de aplicación de 100 µg/cm² de disco de hoja durante un periodo de 24 h (González-Coloma et al., 2006). En tercer lugar, tanto el extracto de DCM como el de AcOEt de copete, tuvieron una buena actividad antialimentaria contra *E. atomaria*. Si bien la actividad antialimentaria de extractos crudos de copete nunca se ha evaluado frente a insectos fitófagos, es conocido, que el aceite esencial de hojas de copete, posee un elevado porcentaje de inhibición de la alimentación (IA de entre 74 y 89 %) contra larvas de la polilla *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae), a una dosis de aplicación en disco de hoja de 5 mg/cm², en 4 h de exposición (Krishnappa et al., 2010). Por el contrario, el aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asterales: Asteraceae) solo inhibió levemente la alimentación de los insectos de granos almacenados *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) (IA= 53,22 %) y *Tribolium castaneum* (Herbst 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (IA= 9,33 %), a una concentración de 4 mg/disco de harina (Stefanazzi et al., 2011). Por último, en el caso del tomillo, solo el extracto de AcOEt, tuvo actividad antialimentaria contra *E. atomaria*. Hasta la fecha, no hay estudios que demuestren la actividad antialimentaria de extractos crudos de tomillo contra insectos fitófagos en general, sin embargo, un estudio realizado por Yazdani et al. (2014) determinó que el aceite esencial de tomillo, tiene un elevado efecto antialimentario contra larvas de la polilla *Glyphodes pyralis* (Walker, 1859) (Lepidoptera: Crambidae). En mayor detalle, los autores observaron una reducción del 53 % de la tasa relativa de consumición de larvas alimentadas con discos de hojas tratados con el aceite esencial, a una concentración del 0,188 %. Por otra parte, Khosravi & Sendi (2013) demostraron que el aceite esencial de tomillo reduce la actividad de numerosas

enzimas digestivas de larvas del escarabajo del olmo *Xanthogaleruca luteola* (Müller, 1766) (Coleoptera: Chrysomelidae) alimentadas con discos de hojas tratados con una concentración del 1% del aceite esencial.

Actividad repelente por contacto

Todas las plantas evaluadas demostraron tener, en al menos uno de sus extractos, actividad repelente por contacto contra *E. atomaria* a una dosis de 200 µg/cm². Sin embargo, solo el extracto de DCM de lavanda tuvo actividad repelente por contacto en los tres tiempos de exposición en los que fue evaluado. Hasta la fecha, el efecto repelente de extractos de DCM de lavanda no se ha evaluado para ninguna especie de insecto. Sin embargo, el aceite esencial de inflorescencias de *L. angustifolia* demuestra tener una fuerte actividad repelente (PR ≥ 85 %, clase V) contra el insecto de granos almacenados *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae), expuestos durante 30, 60, 90 y 120 minutos, a una dosis de aplicación sobre papel de filtro de 441 µg/cm². Sin embargo, la actividad repelente disminuye considerablemente (PR= 45-60 %, clase III) cuando la dosis es de 221 µg/cm² (dosis similar a la aplicada contra *E. atomaria* en este estudio) (Germinara et al., 2017). En la misma línea, el aceite esencial de inflorescencias de *L. angustifolia*, también induce un fuerte efecto repelente (PR= 85 %, clase V) contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) a una dosis de aplicación sobre papel de filtro de 0,842 µL/cm², en 30 minutos de exposición (Khelfane-Goucem et al., 2016). En adición, el extracto de etanol al 50 % de *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loiseleur (Lamiales: Lamiaceae) (concentración: desconocida), repele en aproximadamente un 62 % (clase IV) al pulgón *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Homoptera: Aphididae) en 16 h de exposición (Ikeura et al., 2012). Mientras que Rojht et al. (2012) observaron que el extracto de etanol de *L. angustifolia* (concentración 20 % P/P) repele fuertemente el crisomélido de la papa *Leptinotarsa decemlineata* Say (1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) y en menor medida al gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Curculionidae). Por otra parte, el extracto de MeOH de estragón solo presentó una buena actividad repelente a los 15 y 30 minutos de exposición, no observándose actividad repelente a los 60 minutos de exposición. Sorprendentemente hasta la fecha, la actividad repelente de estragón nunca fue evaluada en ningún insecto en general. Sin embargo, varios trabajos revelan la actividad repelente de otras especies del género *Artemisia* (Asterales: Asteraceae), por ejemplo, el aceite esencial de *A. vulgaris* repele al 100 % de los insectos adultos de *T. castaneum*, evaluados con una dosis de aplicación sobre disco de papel de filtro de 0,31 µL/cm² en 3 h de exposición (Wang et al., 2006). Es más, *T. castaneum* también es repelido (PR= 80 %, clase IV) por el aceite esencial de la especie *A. annua* a una dosis de aplicación sobre disco de papel de filtro de 0,35 µL/cm²

en 3 h de exposición (Tripathi et al., 2000). Además, el aceite esencial de *A. rupestris*, a muy baja dosis de aplicación sobre disco de papel de filtro (0,013 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$), posee una buena actividad repelente (PR= 76 %, clase IV) contra el psocóptero de granos almacenados *Liposcelis bostrychophila* (Badonnel, 1931) (Psocodea: Liposcelididae) en 2 h de exposición (Liu et al., 2013). No obstante, sí se ha determinado, que el aceite esencial de estragón, posee un fuerte efecto tóxico fumigante contra el pulgón *Aphis gossypii* (Glover 1877) (Hemiptera: Aphididae) (LC_{50} = 18,63 $\mu\text{L}/\text{L}$ de aire; 24 h de exposición) y contra larvas de la polilla *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae) (LC_{50} = 7,29 $\mu\text{L}/\text{L}$ de aire; 24 h de exposición) (Rafiei-Karahroodi et al., 2011; Mousavi et al., 2014). Por último, los extractos de DCM y AcOEt de tomillo solo mostraron una leve actividad repelente a los 30 minutos de exposición para ambos casos. La baja repelencia de los extractos de tomillo observado, es similar a lo reportado por Magierowicz et al. (2020) quienes demostraron que inflorescencias de la planta *Aronia melanocarpa* (Michx) Elliott (Rosales: Rosaceae) tratadas con un mix de disoluciones de aceite esencial al 0,1 % (P/V) de extractos acuosos y de acetona al 10 % (P/V) de tomillo repelen levemente (PR= 19,35%, clase I) las larvas de la polilla *Acrobasis advenella* (Zincken, 1818) (Lepidoptera: Pyralidae) expuestas durante 2 h de tratamiento. Por el contrario, volátiles del aceite esencial de tomillo al 0,5 % (P/V), presentan un buen efecto repelente (PR= 68,9 %, clase IV) contra hembras adultas del mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) a los 30 minutos de exposición (De Oliveira et al., 2021). También se observó que en ensayos de evaluación de actividad repelente sobre planta hospedera, el aceite esencial de tomillo mostró ser un fuerte repelente (PR= 100 %, clase V) frente a *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) en una concentración de aplicación de 5 mL/L en 24 h de exposición. Sin embargo, la actividad repelente del aceite disminuye parcialmente (PR= 88,8 %, clase V) cuando el tiempo de exposición se prolonga hasta las 96 h (Erdemir & Erler, 2017).

En conclusión, varios extractos crudos de plantas aromáticas y ornamentales como la lavanda, tomillo, copete y estragón, poseen un gran potencial como antialimentarios contra *E. atomaria*. Además, el extracto de DCM de lavanda, demostró tener un gran potencial como repelente por contacto frente a *E. atomaria*, ya que presentó una alta actividad en todos los tiempos de exposición en los que fue evaluado. Sin embargo, recomendamos seguir investigando ya que aún quedan muchos desafíos que abordar si se desean implementar estos extractos como futuros repelentes y antialimentarios contra *E. atomaria*. Principalmente debido a que los componentes activos presentes en estos tipos de extractos, suelen tener una elevada volatilidad y condición hidrófoba, lo que dificulta la aplicabilidad a campo de forma eficiente, con entrega controlada y en cantidades

óptimas (Isman et al., 2011; Isman, 2020; Singh & Pulikkal, 2022). Afortunadamente, formulaciones como las nanoemulsiones, podrían ser una solución a este tipo de problemas, ya que resultan en sistemas eficaces que encapsulan y administran los componentes activos de un extracto, mejorando la estabilidad, solubilidad e incluso actividad biológica del mismo (Demisli et al., 2020; Li et al., 2020). Por otra parte, la posible fitotoxicidad que estos extractos podrían tener frente a plantas cultivadas no objetivo (Werrie et al., 2020), como también la producción en cantidades suficientes debieran ser consideradas al momento de realizar una formulación repelente o antialimentaria para el control de *E. atomaria*.

Por último, dado que las tendencias globales son alejarse del uso de los insecticidas sintéticos como único medio para el control de insectos plaga, los aportes realizados en este trabajo son muy valiosos, ya que han logrado evidenciar la existencia de compuestos alomonales de varias plantas no-hospederas de *E. atomaria*, que podrían ser empleados como antialimentarios y/o repelentes en futuras estrategias de control de este insecto plaga.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad Autónoma de Entre Ríos por el otorgamiento de subsidios que facilitaron la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Anandhabhairavi, N., Shanthi, M., Chinniah, C., Geetha, R., & Vellaikumar, S. (2021) Evaluation of Ethyl Acetate Extract of Some Botanicals against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) in Stored Maize. *Madras Agricultural Journal*, **108**, 4-6.
- Annandarajah, C., Norris, E.J., Funk, R., Xiang, C., Grewell, D., Coats, J.R., Maloy, B., & Maloy, B. (2019) Biobased plastics with insect-repellent functionality. *Polymer Engineering and Science*, **59**, 460-467.
- Arivoli, S., & Tennyson, S. (2013) Antifeedant activity, developmental indices and morphogenetic variations of plant extracts against *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **1**, 87-96.
- Barik, A. (2021) Phyto-Antifeedants. *Molecular Approaches for Sustainable Insect Pest Management* (ed. Omkar), pp. 283-332. Springer, Singapore.
- Boito, G.T., Giuggia, J.A., Ornaghi, J.Á., Gerardo, U.A., & Giovanini, D. (2009) Uso de trampas "Barber" para determinar la diversidad de coleópteros epigeos asociados al cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.). Córdoba, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, **41**, 23-31.

- Bolzonella, C., Lucchetta, M., Teo, G., Boatto, V., & Zanella, A. (2019) Is there a way to rate insecticides that is less detrimental to human and environmental health? *Global Ecology and Conservation*, **20**, 1-9.
- Böttger, A., Vothknecht, U., Bolle, C., & Wolf, A. (2018) Plant secondary metabolites and their general function in plants. *Plant-derived Drugs and their interaction with Human Receptors* (ed. Böttger, A., Vothknecht, U., Bolle, C., & Wolf, A.), pp. 3-17. Springer, Switzerland.
- Caceres, S., Miño, V.S., & Aguirre, M.R.A. (2011) Guía práctica para la identificación y el manejo de las plagas de pimiento. *Publicaciones Regionales*, pp 79. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Campos-Soldini, M.P., Zapata, L.D., Wagner, L.S., Fernández, E.N., & Safenraiter, M.E. (2021) Contribución al estudio de la ecología y biología de *Epicauta atomaria* (Coleoptera: Meloidae), insecto asociado a cultivos agrícolas en América del Sur. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, **47**, 67-375.
- Campos-Soldini, M.P., & Roig-Juñent, S.A. (2015) Phylogenetic analysis and redefinition of the maculata species group of *Epicauta* (Meloidae: Meloinae: Epicautini). *Insect Systematics & Evolution*, **46**, 431-470.
- Cornell, H.V., & Hawkins, B.A. (2003) Herbivore responses to plant secondary compounds: A test of phytochemical coevolution theory. *The American Naturalist*, **161**, 507-522.
- D'a Silva, A.G., Gonçalves, C.R., Galvão, D.M., Gonçalves, A.J.L., Gomes, J., Silva M.N., & Simoni, L. (1968) *Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores. Insetos, hospedeiros e inimigos naturais*. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
- De Oliveira, A.A., França, L.P., Ramos, A.D.S., Ferreira, J.L.P., Maria, A.C.B., Oliveira, K.M., Araújo E.S., da Silva J.N., Branches, A.D.S., Barros, G.A., da Silva N.G., Tadei, W.P., Amaral, A.C.F., & Andrade Silva J.R. (2021) Larvicidal, adulticidal and repellent activities against *Aedes aegypti* L. of two commonly used spices, *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, **140**, 17-24.
- Demisli, S., Mitsou, E., Pletsa, V., Xenakis, A., & Papadimitriou, V. (2020) Development and Study of Nanoemulsions and Nanoemulsion-Based Hydrogels for the Encapsulation of Lipophilic Compounds. *Nanomaterials*, **10(12)**, 2464
- Dermauw, W., Pym, A., Bass, C., Van Leeuwen, T., & Feyerisen, R. (2018) Does host plant adaptation lead to pesticide resistance in generalist herbivores? *Current Opinion in Insect Science*, **26**, 25-33.
- Diaz Napal, G.N.D., Carpinella, M.C., & Palacios, S.M. (2009) Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia oolepis* and isolation of pinocembrin as its active principle compound. *Bioresource technology*, **100**, 3669-3673.
- Di Iorio, O.R. (2004) Meloidae. *Catálogo de insectos fitófagos de la Argentina y sus plantas asociadas* (ed. Cordo, H. A. Logarzo, G. Braun, K. and O. R. Di Iorio), pp. 165-175. Sociedad Entomológica Argentina, Tucumán, Argentina.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M.R.C.W., & Robledo, C.W. (2020). InfoStat versión 2018. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Erdemir, T., & Erler, F. (2017) Repellent, oviposition-deterrent and egg-hatching inhibitory effects of some plant essential oils against citrus mealybug, *Planococcus citri* Risso (Hemiptera: Pseudococcidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, **124**, 473-479.
- Folcia, A., Rodriguez, S., Rizzo, H., Russo, S., & La Rossa, F.R. (1998) Presencia y fluctuación poblacional de artrópodos perjudiciales al cultivo de tomate. *Revista Facultad de Agronomía*, **18**, 105-109.
- Germinara, G.S., Di Stefano, M.G., De Acutis, L., Pati, S., Delfine, S., De Cristofaro, A., & Rotundo, G. (2017) Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bulletin of Insectology*, **70**, 129-138.
- Ghoneim, K. (2013) Agronomic and biodiversity impacts of the blister beetles (Coleoptera: Meloidae) in the world: A review. *International Journal of Agricultural Research*, **2**, 021-036.
- González-Coloma, A., Martin-Benito, D., Mohamed, N., Garcia-Vallejo, M.C., & Soria, A.C. (2006) Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**, 609-616.
- González-Coloma, A., Bailen, M., Diaz, C.E., Fraga, B.M., Martínez-Díaz, R., Zuñiga, G.E., Contreras, R.A., Cabrera, R., & Brullio, J. (2012) Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops and Products*, **37**, 401-407.
- Gvozdencac, S.M., Indić, D.V., Vuković, S.M., Grahovac, M.S., & Tanasković, S.T. (2012) Antifeeding activity of several plant extracts against *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae. *Pesticides and Phytomedicine*, **27(4)**, 305-311.
- Hartmann, T. (2007) From waste products to ecochemicals: fifty-year research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, **68**, 2831-2846.
- Ikeura, H., Kobayashi, F., & Hayata, Y. (2012) Repellent effect of herb extracts on the population of wingless green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Agricultural Science*, **4(5)**, 139-144.

- Isman, M.B. (2020) Commercial development of plant essential oils and their constituents as active ingredients in bioinsecticides. *Phytochemistry reviews*, **19**, 235-241.
- Isman, M.B., Miresmaili, S., & Machial, C. (2011) Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry reviews*, **10**, 197-204.
- Jabran, K., Mahajan, G., Sardana, V., & Chauhan, B.S. (2015) Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop protection*, **72**, 57-65.
- Johnston, N., Paris, T., Paret, M., Freeman, J., & Martini, X. (2022) Repelling whitefly (*Bemisia tabaci*) using limonene-scented kaolin: A novel pest management strategy. *Crop Protection*, **154**, 105-905.
- Khelfane-Goucem, K., Lardjane, N., & Medjdoub-Bensaad, F. (2016) Fumigant and repellent activity of Rutaceae and Lamiaceae essential oils against *Acanthoscelides obtectus* Say. *African Journal of Agricultural Research*, **11**, 1499-1503.
- Khosravi, R., & Sendi, J.J. (2013) Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of King Saud University-Science*, **25**, 349-355.
- Kłyś, M., Malejky, N., & Nowak-Chmura, M. (2017) The repellent effect of plants and their active substances against the beetle storage pests. *Journal of Stored Products Research*, **74**, 66-77.
- Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International* **4**(1), 63-84.
- Krishnappa, K., Anandan, A., Mathivanan, T., Elumalai, K., & Govindarajan, M. (2010) Antifeedant activity of volatile oil of *Tagetes patula* against armyworm, *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Current Research*, **4**, 109-112.
- Li, K., Zhang, M., Bhandari, B., Xu, J., & Yang, C. (2020) Improving storage quality of refrigerated steamed buns by mung bean starch composite coating enriched with nano-emulsified essential oils. *Journal of Food Process Engineering*, **43**(9), e13475.
- Liu, X.C., Li, Y.P., Li, H.Q., Deng, Z.W., Zhou, L., Liu, Z.L., & Du, S.S. (2013) Identification of repellent and insecticidal constituents of the essential oil of *Artemisia rupestris* L. aerial parts against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. *Molecules*, **18**, 10733-10746.
- Magierowicz, K., Gorska-Drabik, E., & Golan, K. (2020) Effects of plant extracts and essential oils on the behavior of *Acrobasis advenella* (Zinck.) caterpillars and females. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **127**, 63-71.
- Maia, M.F., & Moore, S.J. (2011) Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria journal*, **10**, 1-15.
- McDonald, L.L., Guy, R.H., & Speirs, R.D. (1970) *Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects* (No. 882). US Agricultural Research Service.
- Mousavi, M., & Valizadegan, O. (2014) Insecticidal effects of *Artemisia dracuncululus* L. (Asteraceae) essential oil on adult of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **47**, 1737-1745.
- Murugesan, R., Vasuki, K., Kaleeswaran, B., Santhanam, P., Ravikumar, S., Alwahibi, M. S., et al. (2021). Insecticidal and repellent activities of *Solanum torvum* (Sw.) leaf extract against stored grain pest, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of King Saud University-Science*, **33**, 101-390.
- Pengsook, A., Bullangpoti, V., Koul, O., Nobsathian, S., Saiyaitong, C., Yooboon, T., et al. (2022) Antifeedant Activity and biochemical responses in *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) infesting broccoli, *Brassica oleracea* var. *alboglabra* exposed to *Piper ribesoides* Wall extracts and allelochemicals. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, **9**, 1-10.
- Rafiei-Karahroodi, Z., Moharrampour, S., Farazmand, H., & Karimzadeh-Esfahani, J. (2011) Insecticidal effect of six native medicinal plants essential oil on Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hübner (Lep.: Pyralidae). *Munis Entomology and Zoology*, **6**, 339-345.
- Rojht, H., Košir, I.J., & Trdan, S. (2012) Chemical analysis of three herbal extracts and observation of their activity against adults of *Acanthoscelides obtectus* and *Leptinotarsa decemlineata* using a video tracking system. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **119**, 59-67.
- Rosillo, M.A. (1969) Actualidad fitosanitaria de la región mesopotámica. Problemas y prioridades, p. 139-146. *En: Primeras Jornadas Fitosanitarias. División de Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía*, pp. 15-17. Universidad Nacional de La Plata. La Plata.
- Rusin, M., Gospodarek, J., & Biniaś, B. (2016) Effect of aqueous extracts from tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.) on feeding of selected crop pests. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, **61**, 143-146.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9**(7), 671-675.
- Singh, I.R., & Pulikkal, A.K. (2022) Preparation, stability and biological activity of essential oil-based nano emulsions: A comprehensive review. *OpenNano*, **8**, 100066.
- Stefanazzi, N., Stadler, T., & Ferrero, A. (2011) Composition and toxic, repellent and feeding deterrent

- activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest management science*, **67**, 639-646.
- Tapondjou, A.L., Adler, C.F.D.A., Fontem, D.A., Bouda, H., & Reichmuth, C.H. (2005) Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, **41**, 91-102.
- Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S., & Kumar, S. (2000) Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, **93**, 43-47.
- Vigianco, A.J., Novo, R.J., Cragnolini, C.I., & Nassetta, M. (2006) Actividad biológica de extractos crudos de *Larrea divaricata* Cav. y *Capparis atamisquea* Kuntze sobre *Sitophilus oryzae* (L.). *Agricoltura*, **2**, 83-89.
- Vigianco, A., Novo, R., Cragnolini, C., Nassetta, M., & Cavallo, A. (2008) Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Córdoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *BioAssay*, **3(4)**, 1-6.
- Wang, J., Zhu, F., Zhou, X.M., Niu, C.Y., & Lei, C.L. (2006) Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, **42**, 339-347.
- Werrie, P.Y., Durenne, B., Delaplace, P., & Fauconnier, M. L. (2020) Phytotoxicity of essential oils: Opportunities and constraints for the development of biopesticides. A review. *Foods*, **9(9)**, 1291.
- Yan, R., Zhou, Q., Xu, Z., Wu, Y., Zhu, G., Wang, M., Guo, Y., Dong, K., & Chen, M. (2021) Pyrethrins elicit olfactory response and spatial repellency in *Aedes albopictus*. *Pest management science*, **77**, 3706-3712.
- Yazdani, E., Sendi, J.J., & Hajizadeh, J. (2014) Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, **54**, 53-61.