

ACEITE ESENCIAL DE FOLLAJE DE *Peumus boldus* Molina COLECTADO EN OTOÑO PARA EL CONTROL DE GORGOJO DEL MAÍZ *Sitophilus zeamais* Motschulsky

ESSENTIAL OIL FROM LEAVES OF *Peumus boldus* Molina COLLECTED IN AUTUMN TO CONTROL OF MAIZE WEEVIL *Sitophilus zeamais* Motschulsky

Diana Pizarro D.¹, Gonzalo Silva A.^{1*}, Maritza Tapia V.¹, J. Concepción Rodríguez M.², Angélica Urbina P.¹, Inés Figueroa C.¹, Angel Lagunes T.², Candelario Santillán-Ortega³, Agustín Robles-Bermúdez², Sotero Aguilar-Medel⁴, e Ismael Tucuch-Haas⁵

¹ Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Vegetal, Vicente Méndez 595, Casilla 537, Chillán, Chile.

² Programa de Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México.

³ Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Agricultura, Xalisco, Nayarit, México.

⁴ Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, Tenancingo, Estado de México, México.

⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro Experimental Mochochá, Km 25 Antigua carretera Mérida-Motul, Mérida, México.

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

RESUMEN

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) es una de las plagas de los granos almacenados más importantes a nivel mundial. Se evaluó en condiciones de laboratorio la toxicidad como insecticida de contacto, fumigante y repelente del aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina, colectadas en otoño, para el control de *S. zeamais*. La mayor toxicidad por contacto se obtuvo con las concentraciones de 2,0 y 4,0% (v/p) con 80 y 100% de mortalidad en el bioensayo con una superficie tratada, y 81,1 y 100%, respectivamente, en las pruebas con grano tratado. En el bioensayo de toxicidad por efecto fumigante los tratamientos de 30 y 35 µL aceite esencial 0,15 L⁻¹ aire mostraron 92,5 y 100% de insectos muertos. En el control de estados inmaduros, la emergencia (F₁) de insectos adultos en el testigo se observó a partir de la semana seis mientras que los tratamientos de 2,0 y 4,0% (v/p) de aceite esencial inhibieron la emergencia en un 100%. Todos los tratamientos evaluados fueron repelentes contra adultos de *S. zeamais* y la germinación del maíz no se vio afectada al mezclar el grano con el aceite esencial. El aceite esencial de *P. boldus* tiene potencial para ser desarrollado como insecticida natural para el control de *S. zeamais*.

Palabras clave: boldo, gorgojo del maíz, plagas de granos almacenados, insecticidas vegetales.

ABSTRACT

Maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) is one of the major pests of stored grains worldwide. Contact and fumigant toxicity, as well as repellent effects of essential oil from leaves of *Peumus boldus* Molina were tested in the laboratory against maize weevil. Leaves of *Peumus boldus* Molina were collected in autumn. The highest contact toxicity activity was obtained in concentrations of 2.0 and 4.0% (v/w) with 80 and 100% of mortality in the treated surface bioassay, and 81.1 and 100% in treated grain tests, respectively. In the bioassay of fumigant toxicity, the treatments of 30 and 35 µL

essential oil 0.15 L⁻¹ air showed 92.5 and 100% of dead insects. In the immature stage control bioassay, adult insect emergence (F₁) in control was observed from week six, while treatments of 2.0 and 4.0% (v/w) of essential oil inhibited insect emergence in 100%. All the treatments assessed were repellents against adults of *S. zeamais* and maize germination was not affected when grains were mixed with essential oil. The essential oil of *P. boldus* has potential to be developed as a natural insecticide to control *S. zeamais*.

Key words: boldus, maize weevil, stored grain pests, botanical insecticides.

INTRODUCCIÓN

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky, Coleoptera: Curculionidae) es una de las plagas de los granos almacenados más importantes a nivel mundial debido a que ataca tanto en campo como en bodega (Larraín, 1994). El daño de este insecto a la semilla consiste en que la hembra adulta perfora el grano para oviponer, y las larvas al eclosionar del huevo se alimentan del endosperma (Arias y Dell'Orto, 1983). A su vez, estos daños permiten el ingreso de plagas secundarias como otros insectos u hongos (White, 1995).

El control de insectos plaga de los productos almacenados normalmente se realiza con insecticidas sintéticos, los cuales han sido considerados como el método más accesible y eficiente para el control de estos insectos (Huang and Subramanyam, 2005). Sin embargo, su uso irracional ha provocado problemas como residuos, intoxicaciones y desarrollo de resistencia (Roel and Vendramim, 2006). Los insecticidas más utilizados para el control de plagas de almacén son insecticidas de contacto como chlorpyrifos o malathion y fumigantes como bromuro de metilo y fosfuro de aluminio (Pretheep-Kumar et al., 2010). Estos fumigantes han sido los más usados en los últimos años dada su eficacia y facilidad de uso (Fields and White, 2002), sin embargo en la actualidad ambos presentan problemas; el bromuro de metilo a causa de su toxicidad para mamíferos y a que afecta la capa de ozono se prohibió en 2005 (Shaaya and Kostjukovsky, 2009), mientras que el fosfuro de aluminio posee registro de 11 especies de insectos, en 45 países, que han desarrollado resistencia (Pretheep-Kumar et al., 2010).

En base a esto es que se hace necesario contar con una alternativa de control tan efectiva como las antes mencionadas, pero sin los problemas que estas presentan. Una de estas opciones son los insecticidas de origen vegetal, que como polvos, extractos o aceites esenciales han sido utilizados por décadas por los agricultores para el control de plagas (Isman, 2006).

Los aceites esenciales, obtenidos de plantas aromáticas usualmente mediante destilación por arrastre de vapor, son comúnmente utilizados como fragancias o saborizantes por la industria de los perfumes y alimentaria (Koul et al., 2008).

Sin embargo, desde un tiempo a la fecha se han desarrollado múltiples investigaciones que reportan que algunos de estos aceites presentan propiedades insecticidas (Isman, 2000; 2006). Si bien el modo de acción de los aceites esenciales aún no está completamente identificado, la sintomatología presentada por insectos intoxicados permiten inferir un efecto neurotóxico (Tripathi et al., 2009). De acuerdo a Isman (2000), estudios con *Periplaneta americana* (L.) (Orthoptera: Blattellidae) indican que los aceites esenciales bloquean los receptores de la octopamina causando el colapso del sistema nervioso.

En la búsqueda de plantas nativas de Chile con propiedades insecticidas para el control de *S. zeamais* existen antecedentes de que el polvo de follaje deshidratado (Silva et al., 2003a y 2003b; Silva et al., 2005; Perez et al., 2007) y el aceite esencial de follaje colectado en primavera (Betancur et al., 2010) de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) tienen propiedades insecticidas e insectistáticas contra este insecto.

Sin embargo, considerando la variación en la composición química de las plantas durante la temporada, se hace necesario comprobar si el aceite esencial de *P. boldus* extraído de follaje colectado en otoño tiene las mismas propiedades insecticidas que el colectado en primavera, ya que por la fecha de cosecha de los cereales en Chile y la corta vida en anaquel de los productos naturales, es probable que el aceite esencial para la protección de granos almacenados se deba extraer en otoño y no en primavera. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de hojas de *P. boldus* colectadas en otoño para el control de *S. zeamais*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Octava Región, Chile.

Obtención del aceite esencial

Se utilizaron hojas de *P. boldus* recolectadas en el parque central del Campus Chillán (36°35'

S; 72°4' W) de la Universidad de Concepción, Octava Región, Chile. Este material se recolectó entre los meses de mayo y junio de 2007 en base al criterio de Vogel et al. (1997). En el laboratorio el follaje se lavó con agua destilada, y posteriormente el aceite esencial se obtuvo por arrastre de vapor en un aparato tipo Clevenger (Dongmo et al., 2012). Cada proceso de extracción se realizó por tres horas y se utilizaron 500 g de material vegetal por 1 L de agua destilada. Luego, el agua residual del aceite esencial se eliminó mediante deshidratación con sulfato de sodio anhidro en un embudo de decantación y a continuación se almacenó en frascos de vidrio opacos a $4,0 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta su utilización en los bioensayos.

Insectos

Los insectos utilizados en los bioensayos se obtuvieron de las colonias permanentes que se mantienen en el laboratorio en frascos de vidrio de 1 L de capacidad, utilizando maíz (*Zea mays* L.) como fuente de alimentación. Estos insectos se mantienen a una temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 60% HR (Humedad Relativa) y oscuridad total en una cámara bioclimática (Memmert GmbH, IPS 749, Schwabach, Germany). La diferenciación de sexos se realizó de acuerdo a los criterios de Halstead (1963) quien señala que el macho tiene un rostrum de menor longitud pero de mayor grosor y ornamentación que el de la hembra.

Cereal

Como sustrato alimenticio se utilizó maíz, el que se adquirió en el mercado de frutas y hortalizas de la ciudad de Chillán. Con el objetivo de evitar cualquier infestación previa por insectos o residuo de insecticida que pudiera afectar los resultados del bioensayo, el grano se lavó con agua potable y posteriormente se congeló a $-4,0^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 h.

Bioensayos

Mortalidad por contacto con una superficie tratada

Se utilizó la metodología de Kouninki et al. (2007) con ligeras modificaciones. Se emplearon tubos de ensayo de 6 mL de capacidad en los que se aplicó 1 mL de una solución de aceite esencial en acetona. Posteriormente, los tubos se agitaron manualmente por un minuto con movimientos enérgicos tanto horizontales como verticales para permitir que la solución cubriera toda la superficie interior. Luego, se eliminó el excedente y durante 1 h se dejó evaporar la acetona a temperatura ambiente. Finalmente, en cada tubo se introdujeron 10 insectos adultos de 48 h de edad, sin diferenciación de sexos, debido a que por los plazos del bioensayo y ausencia de sustrato ali-

menticio no se puede evaluar el efecto sobre la descendencia ya que no se alcanza a producir la F_1 . Las concentraciones de aceite esencial evaluadas fueron; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 % (v/v) y al testigo se le aplicó 1 mL de acetona. Para cada tratamiento se realizaron 10 repeticiones las que se mantuvieron en una cámara bioclimática a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% HR y oscuridad total. La mortalidad de los insectos se evaluó a las 24; 48 y 72 h de exposición al aceite esencial. La mortalidad se corrigió con la fórmula de Abbott (1925) y como criterio de mortalidad se utilizó el propuesto por FAO (1980) que considera como muerto aquel insecto que carecía de movimiento después de punzarlo con una aguja de disección durante un minuto.

Mortalidad por contacto con grano tratado

Este bioensayo se realizó con la metodología de Obeng-Ofori y Reichmuth (1997). En envases de vidrio de 500 mL que contenían 200 g de maíz, se aplicó 1 mL de la solución de aceite esencial diluido en acetona en concentraciones de 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 % (v/p) más un testigo consistente en 1 mL de acetona. En seguida, los frascos se taparon y se agitaron manualmente por 15 s para cubrir de manera uniforme los granos con la solución para luego ser dejados a temperatura ambiente por 1 h para permitir la evaporación de la acetona. Posteriormente, cada frasco se infestó con 20 insectos adultos, sin diferenciación de sexos, de 48 h de edad. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones y las unidades experimentales se almacenaron en una cámara bioclimática a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% de HR y oscuridad total. La mortalidad se evaluó a las 24; 48 y 72 h de exposición al aceite esencial. La mortalidad se corrigió con la fórmula de Abbott (1925) y se utilizó el criterio de mortalidad de FAO (1980).

Efecto fumigante

Este bioensayo se llevó a cabo con la metodología de Pires et al. (2006) que consiste en la aplicación de 0 (testigo), 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 μL de aceite esencial sobre un papel filtro (Whatman N° 10) circular de 5,5 cm de diámetro adherido interiormente a la tapa de envases de 150 mL de capacidad, que contenían 50 g de maíz infestado con 10 insectos adultos sin diferenciación de sexos. El testigo se manejó de la misma manera pero sin tratar el papel filtro. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones y las unidades experimentales se mantuvieron en una cámara bioclimática a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% HR y oscuridad total. La evaluación de mortalidad se realizó a las 6, 12 y 24 h de exposición. Se utilizó el criterio de mortalidad de FAO (1980) y la mortalidad se corrigió con la fórmula de Abbott (1925).

Efecto del aceite esencial sobre la germinación del grano

El efecto del aceite esencial de boldo sobre el poder germinativo de los granos de maíz se evaluó mezclando, en frascos de 150 mL, 50 semillas con el aceite esencial diluido en 1 mL de acetona. Una vez que las semillas quedaron completamente cubiertas por la solución se dividieron en grupos de 10 para conformar cinco repeticiones por tratamiento. Cada grupo de 10 semillas impregnadas se colocó en una placa Petri de vidrio que contenía en el fondo un papel filtro humedecido. Estas placas Petri se mantuvieron durante 7 días a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% HR y fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad en una cámara bioclimática. Transcurrido este periodo se contabilizó el número de semillas germinadas por tratamiento considerando al testigo como 100%. Los tratamientos evaluados fueron: 0 (testigo); 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 % (v/p) de aceite esencial en 1 mL de acetona.

Control de estados inmaduros

Esta variable se evaluó con la metodología de Obeng-Ofori et al. (1998) que consistió en utilizar frascos de 500 mL de capacidad con 200 g de maíz infestado con 10 parejas de insectos adultos de 24 h de edad, a las cuales se les dejó reproducirse libremente durante 20 días en una cámara bioclimática a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 60% de HR y oscuridad total. Transcurrido este periodo se retiraron los insectos y el grano se mezcló con el aceite esencial de *P. boldus* diluido en 1 mL de acetona en concentraciones de 0 (testigo); 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 % (v/p). Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones y como variable respuesta se evaluó, semanalmente durante dos meses, el porcentaje de emergencia de insectos adultos de la generación F_1 en comparación al testigo sin tratar.

Efecto repelente

Para evaluar el efecto repelente del aceite esencial de *P. boldus* se implementó la metodología de Procopio et al (2003), que consiste en un dispositivo conocido como arena de libre elección, formado por cuatro placas Petri plásticas de 5 cm de diámetro conectadas en forma diagonal, formando una "X", a una placa central por tubos plásticos de 10 cm de longitud. En dos placas diagonalmente opuestas se depositaron 20 g de maíz sin aceite esencial mientras que en las placas restantes se colocaron 20 g de maíz mezclados con 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 % (v/p) de aceite esencial en 1 mL de acetona. Posteriormente, en la placa central se liberaron 20 insectos adultos sin diferenciación de sexos, y a las 24 h de establecido el bioensayo se contabilizó el número de insectos en cada placa. Con los valores obtenidos se cal-

culó el índice de repelencia (IR) de Mazzonetto y Vendramin (2003) que consiste en $IR = (2 \cdot G) / (G \cdot P)$ donde G = porcentaje (%) de insectos presentes en la placa con tratamiento, y P = porcentaje (%) de insectos presentes en placa testigo. Este índice clasifica al tratamiento como repelente si el IR es menor a 1, como neutro si es igual a 1 y como atrayente si es mayor a 1. Cabe destacar que luego de cada bioensayo las arenas de selección se lavaron con agua destilada y jabón neutro, y luego se les asperjó una solución de metanol en agua (3:1) para eliminar cualquier residuo químico. Además para disminuir el error experimental se rotaron las placas Petri, es decir las que se utilizaron para el control en el siguiente grupo de bioensayos se utilizaron para los tratamientos y viceversa.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar y los datos porcentuales se transformaron a la función arcoseno $\sqrt{x/100}$ para el análisis estadístico, el que se realizó con el programa Statistical Analysis System® (SAS Institute, 1998), mediante un análisis de varianza (ANDEVA, $\alpha = 0,05$) y una prueba de comparación de medias de Tukey con una significancia del 95% ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

Mortalidad por contacto con una superficie tratada

La mayor mortalidad se obtuvo a las 72 h con la concentración de 4,0% con un 100% de insectos muertos, valor que fue significativamente ($p = 0,001$) más alto que los tratamientos de 1,0 y 2,0%, con 63,3 y 80% de mortalidad, respectivamente (Tabla 1). En general, la mortalidad se incrementó en la medida que transcurrió el tiempo aunque, en todas las evaluaciones, las concentraciones más bajas de aceite esencial (0,125 y 0,25%) no superaron el 5% de toxicidad. Betancur et al. (2010) observaron esta misma tendencia para el aceite esencial de *P. boldus* de follaje colectado en primavera, aunque estos autores obtuvieron un mayor efecto insecticida ya que a las 24 h alcanzaron un 100% de insectos muertos con la concentración de 4,0%.

Mortalidad por contacto con grano tratado

A diferencia del bioensayo anterior, la mortalidad del tratamiento de mayor toxicidad no se incrementó en el tiempo ya que la concentración de 4,0% presentó un 100% de insectos muertos desde la primera evaluación a las 24 h (Tabla 2), situación que en el bioensayo anterior solo se observó a las 72 h (Tabla 1). En los tratamientos de 1 y 2% la toxicidad aumentó de 34,1 y 79,9% a las 24 h a

Tabla 1. Mortalidad de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky por contacto con una superficie tratada con una solución de aceite esencial de *Peumus boldus* Molina en acetona.**Table 1. Mortality of *Sitophilus zeamais* Motschulsky adults by contact with a treated surface with a solution of essential oil from *Peumus boldus* Molina leaves in acetone.**

Concentraciones	24 horas*	48 horas*	72 horas*
(%) (v/p)	-----	% -----	-----
0,125	0,0 c	0,0 c	0,0 e
0,25	0,0 c	0,0 c	1,6 e
0,5	5,0 c	6,6 c	31,6 d
1	30,0 b	43,3 b	63,3 c
2	40,0 b	61,6 b	80,0 b
4	68,3 a	89,9 a	100 a
CV (%)	23,35	24,38	10,65

*Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P > 0,05$).

(v/p) = (volumen/peso) (mL aceite esencial/100 g maíz).

CV = Coeficiente de variación

Tabla 2. Mortalidad por contacto de insectos adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky a las 24, 48 y 72 horas alimentados con maíz tratado con diferentes concentraciones de una solución de aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina en acetona.**Table 2. Mortality and contact activity of *Sitophilus zeamais* Motschulsky adults at 24, 48 and 72 hours feed with maize treated with different concentrations of a solution of essential oil from *Peumus boldus* Molina leaves in acetone.**

Concentraciones	24 horas*	48 horas*	72 horas*
(%) (v/p)	-----	% -----	-----
0,125	0,0 d	0,0 d	0,5 d
0,25	1,6 d	1,6 d	1,6 d
0,5	1,6 d	1,6 d	1,6 d
1	34,1 c	36,6 c	36,6 c
2	79,9 b	81,1 b	81,1 b
4	100 a	100 a	100 a
CV (%)	22,41	21,38	22,87

*Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P > 0,05$).

(v/p) = (volumen/peso) (mL aceite esencial/100 g maíz)

CV = Coeficiente de variación

36,6 y 81,1%, respectivamente, a las 72 h. En este mismo bioensayo Betancur et al. (2010) con 2,0 y 4,0% de aceite esencial de *P. boldus*, proveniente de follaje colectado entre los meses de noviembre y diciembre, obtuvieron valores similares con una mortalidad de *S. zeamais* a las 72 h de 87,5 y 98,75%, respectivamente. Esta similitud de resultados concuerda con Pérez et al. (2007) quienes con polvo de *P. boldus* de follaje colectado en los periodos marzo-junio y noviembre-diciembre, con una concentración de 2,0%, obtuvieron en ambos casos un 100% de mortalidad de *S. zeamais*.

El posible efecto insecticida de contacto del aceite esencial de *P. boldus* se podría atribuir a la presencia de 1,8-cineol el cual de acuerdo a la caracterización aromática realizada por Niemeyer

y Teillier (2007) es uno de los compuestos mayoritarios de este aceite esencial. Además, estudios en que el aceite esencial de *P. boldus* ha mostrado resultados prometedores como insecticida contra *S. zeamais* (Bittner et al. 2009) y *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (Urzúa et al., 2010) también reportan a 1,8-cineol como el compuesto mas abundante. Si bien 1,8-cineol es considerado fundamentalmente como fumigante (Lee et al., 2003; 2004) también presenta efecto insecticida de contacto, ya sea individualmente (Obeng-Ofori et al., 1997; Kumar et al., 2001) o como el componente mayoritario del aceite esencial (Chu et al., 2010; Liu et al., 2010; Mossi et al., 2011). Además según Obeng-Ofori et al. (1997), 1,8-cineol es más efectivo como insecticida de contacto cuando se mezcla

con el grano, que aplicado de alguna otra manera que no ponga en contacto el aceite esencial con las semillas.

Efecto fumigante

La mayor toxicidad por inhalación se obtuvo con los tratamientos de 30 y 35 μL aceite esencial $0,15 \text{ L}^{-1}$ aire con 92,5 y 100% de mortalidad a las 72 h (Tabla 3). Estos dos tratamientos fueron significativamente mayores ($p = 0,0023$) que las restantes concentraciones de aceite esencial, que no superaron el 70% de mortalidad. Sin embargo, estos resultados son inferiores a los reportados por Betancur et al. (2010) quienes a partir de una concentración de 20 μL aceite esencial $0,15 \text{ L}^{-1}$ aire obtuvieron un 100% de mortalidad de *S. zeamais*. Esta diferencia se podría deber a la concentración de 1,8-cineol, el cual según Lee et al. (2003; 2004) es uno de los compuestos vegetales con actividad tóxica como fumigante con más potencial en el control de plagas de los granos almacenados.

Urzúa et al. (2010) extrajeron aceite esencial de *P. boldus* de follaje colectado en noviembre, fecha similar a la de Betancur et al. (2010), encontrando una concentración de 1,8-cineol de 36,62%, mientras que Niemeyer y Teillier (2007) y Bittner et al. (2009) colectaron follaje en mayo y junio, respectivamente, fechas similares a la presente investigación, obteniendo un 15,7 y 11,95% de 1,8-cineol. Por tanto, la fecha de colecta de la presente investigación se realizó en una época donde este compuesto, de acuerdo a Niemeyer y Teillier (2007) y Bittner et al. (2009), se encuentra en menor concentración, y por ende se requiere una dosis mayor para alcanzar una toxicidad significativa. Además, la ubicación geográfica pareciera no incidir, ya que mientras que Niemeyer y Teillier (2007) colectaron en Ocoa, V Región

(32°103' S; 71°602' 0), Bittner et al. (2009) y Urzúa et al. (2010) lo hicieron en Santa Bárbara (37°31' S, 71°51' O) y Chillán (36°00' S, 72°7' O) respectivamente, ambas ubicadas en la VIII Región.

La mortalidad obtenida con el aceite esencial de *P. boldus* concuerda con otras especies que han mostrado efecto insecticida como fumigante, y que cuyo componente principal también es 1,8-cineol, como algunas especies del género *Artemisia* (Asteraceae) como *Artemisia vestita* Wall. ex Bess. (Chu et al., 2010), *Artemisia capillaris* Thunb (Liu et al., 2010), *Artemisia mongolica* (Besser) Fisch. ex Nakai (Liu et al., 2010) o del género *Eucalyptus* (Myrtaceae) como *Eucalyptus dunnii* Maiden, *Eucalyptus saligna* Smith y *Eucalyptus benthamii* Maiden (Mossi et al., 2011).

Efecto sobre la germinación del grano

La mezcla del aceite esencial de *P. boldus* no afectó la germinación de las semillas de maíz, ya que no se observaron diferencias significativas ($p = 0,099$) entre el testigo y las diferentes concentraciones de aceite esencial (Tabla 4). Esta misma tendencia es reportada por Betancur et al. (2010) para el aceite esencial y por Silva et al. (2003a; 2005) para el polvo de follaje deshidratado de boldo. Además, la totalidad de los tratamientos tuvieron una germinación superior al 90%, valor que según González (1995) es el requerido para la exportación de semillas de maíz. Es decir, el aceite esencial de *P. boldus* se podría utilizar para proteger maíz destinado tanto para semilla como para alimentación animal.

Control de estados inmaduros

La emergencia de insectos se comenzó a observar a partir de la semana 6 desde el retiro de las parejas de adultos. En esta variable destacan los

Tabla 3. Mortalidad de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky por efecto fumigante de una solución de aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina en acetona a las 6, 12 y 24 horas.

Table 3. Mortality of *Sitophilus zeamais* Motschulsky by fumigant effect of a solution of essential oil from *Peumus boldus* Molina leaves in acetone after 6, 12 and 24 hours.

Tratamiento	6 horas*	12 horas*	24 horas*
(μL aceite $0,15 \text{ L}^{-1}$ aire)	----- % -----		
5	0,0 d	0,8 e	2,5 f
10	2,5 d	6,6 d	9,1 e
20	51,6 c	54,1 d	55,1 d
25	60,8 c	67,5 b	70,0 c
30	85,8 b	90,0 b	92,5 b
35	99,1 a	100 a	100 a
CV (%)	10,8	11,9	9,94

*Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P > 0,05$).
CV = Coeficiente de variación.

tratamientos de 2,0 y 4,0%, que durante todo el bioensayo no mostraron emergencia de insectos adultos (0%) (Tabla 5). Los restantes tratamientos no mostraron diferencias significativas ($p = 0,099$) con el testigo. En los resultados de este bioensayo también existen diferencias con Betancur et al. (2010), quienes a partir de 1,0% de aceite esencial no obtuvieron emergencia de insectos adultos, lo cual como se mencionó anteriormente, podría deberse a las diferencias en la concentración de 1,8-cineol, ya que según Koul et al. (2008) una concentración de 1,0 % de este compuesto reduce la oviposición en 30-50%.

Repelencia

En todos los tratamientos evaluados se obtuvo un IR menor a 1, lo cual de acuerdo a Mazzoneto y Vendramim (2003) significa que el aceite esencial de *P. boldus* tiene propiedades repelentes contra *S. zeamais* (Tabla 6). Además, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($p = 0,098$) y se observa la tendencia de que a mayor concentración menor es el IR, lo que implica un mayor efecto de repelencia. Este resultado concuerda con Betancur et al. (2010) para el aceite esencial, y con Nuñez et al. (2010) y Pizarro et al. (2013) para el polvo de follaje deshidratado

Tabla 4. Germinación de maíz tratado con distintas concentraciones de una solución de aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina en acetona.

Table 4. Germination of maize treated with different concentrations of a solution of essential oil from *Peumus boldus* Molina leaves in acetone.

Concentraciones	Germinación*
(%) (v/p)	(%)
0,125	100 a
0,25	92,6 a
0,5	95,2 a
1,0	93,4 a
2,0	95,6 a
4,0	97,3 a
Testigo	100 a
CV (%)	5,2

*Letras iguales en la columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P > 0,05$).

(v/p) = (volumen/peso) (mL aceite esencial/100 g maíz)

CV = Coeficiente de variación

Tabla 5. Emergencia de adultos (F_1) en el control de estados inmaduros de *Sitophilus zeamais* Motschulsky con una solución de aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina en acetona.

Table 5. Emergence of adults (F_1) in immature stage of *Sitophilus zeamais* Motschulsky control with a solution of essential oil from *Peumus boldus* Molina leaves in acetone.

Concentraciones	Emergencia 1 a 5 semana*	Emergencia 6 semana*	Emergencia 7 semana*
(%) (v/p)	-----	% -----	
0,125	0,0 a	71,3 a	80,6 a
0,25	0,0 a	70,6 a	78,3 a
0,5	0,0 a	49,6 a	65,6 a
1	0,0 a	11,3 b	13,6 b
2	0,0 a	0,0 c	0,0 c
4	0,0 a	0,0 c	0,0 c
Testigo	0,0 a	100 a	100 a
CV (%)	0,0	59,89	48,98

*Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey ($P > 0,05$).

(v/p) = (volumen/peso) (mL aceite esencial/100 g maíz)

CV = Coeficiente de variación

Tabla 6. Efecto repelente del aceite esencial de hojas de *Peumus boldus* Molina sobre adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky.**Table 6. Repellent effect of essential oil of *Peumus boldus* Molina leaves against *Sitophilus zeamais* Motschulsky adults.**

Concentración	Índice de repelencia (IR)* ¹
(%) (v/p)	
0,125	0,23 a
0,25	0,17 a
0,5	0,28 a
1,0	0,13 a
2,0	0,26 a
4,0	0,11 a

IR: > 1 tratamiento atrayente; = 1 tratamiento neutro; < 1 tratamiento repelente

¹ Letras iguales en la columna indican que los valores no difieren estadísticamente, según test de Tukey (P > 0,05).

(v/p) = (volumen/peso) (mL aceite esencial/100 g maíz)

de esta misma especie.

Este comportamiento de repelencia en el insecto también se ha atribuido a la presencia de 1,8-cineol, ya que estudios con aceite esencial de otras plantas, cuyo componente principal es este monoterpeno, como las tres especies del género *Eucalyptus* evaluadas por Mossi et al. (2011) y *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) (Ukeh et al., 2009) y con 1,8-cineol puro (Obeng-Ofori et al., 1997; Kumar et al., 2001) han mostrado un efecto de repelencia calificado por los autores como de mediano a fuerte contra adultos de *S. zeamais* y *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Aunque, en base a esto último, se debe destacar que por un fenómeno de potenciación entre los compuestos, el aceite esencial presenta mayor actividad repelente cuando se aplica completo que cuando se utiliza alguno de sus componentes mayoritarios de manera individual (Nerio et al., 2010).

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Peumus boldus* Molina extraído en otoño presenta, en condiciones de laboratorio, actividad biológica como insecticida de contacto, fumigante y repelente contra adultos y estados inmaduros de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, sin afectar significativamente la germinación de las semillas de maíz.

LITERATURA CITADA

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.

Arias, C., and H. Dell'Orto. 1983. Distribución e importancia de los insectos que dañan gra-

nos y productos almacenados en Chile. FAO-INIA, Santiago, Chile.

- 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 Journal of Agricultural Research* 70(3):399-407.
- Bittner, M., M. Aguilera, V. Hernández, C. Arbert, J. Becerra, and M.E. Casanueva. 2009. Fungistatic activity of essential oil extracted from *Peumus boldus* Mol, *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav) Tul. (Chilean Monimiaceae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69(1):30-37.
- Chu, S.S., Q.R. Liu, and Z.L. Liu. 2010. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. *Biochemical Systematics and Ecology* 38:489-492.
- Dongmo, H., H. Womeni, G. Piombo, N. Barouh, and L.A. Tapondjou. 2012. Bioefficacy of essential and vegetable oils of *Zanthoxylum xanthoxyloides* seeds against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera:Bruchidae). *Journal of Food Protection* 73:547-555.
- FAO. 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. *Plant Production and Protection. Paper N° 21.* FAO, Rome, Italy.
- Fields, P., and N. White. 2002. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. *Annu. Rev. Entomol.* 47:331-3359.
- González, U. 1995. El maíz y su conservación. 399 p. Trillas Editores, México DF, México.
- Halstead, W.A. 1963. External sex differences in stored products-coleoptera. *Bulletin of Ento-*

- mological Reserch 54:119-134.
- Huang F., and B. Subramanyam. 2005. Management of five stored-product insects in wheat with pirimiphosmethyl and pirimiphos-methyl plus synergized pyrethrins. *Pest Management Science* 61:356-362.
- Isman, M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19:603-608.
- Isman, M. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51:45-66.
- Koul, O., S. Walia, and G.S. Dhaliwal. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int.* 4(1):63-84.
- Kouninki, H., T. Hance, F.A. Noudjou, G. Lognay, F. Malaisse, M.B. Ngassoum, P.M. Mapongmetsem, L.S.T. Ngamo, and E. Haubrugue. 2007. Toxicity of some terpenoids of essential oil of *Xylopiya aethiopia* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *J. Appl. Entomol* 131(4):269-274.
- Kumar, A.K., A. Kumar, V. Prajapati, and S. Kumar. 2001. Toxicity of 1,8-cineole towards three species of stored product coleopterans. *Insect Science and its Application* 21(2):155-160.
- Larraín, P. 1994. Manejo integrado de plagas en granos almacenados. *IPA La Platina* 81:10-16.
- Lee, B-H., P.C. Annis, and F. Tumaalii. 2003. The potential of 1,8-cineole as a fumigant for stored wheat. p. 230-234. In E.J. Wright, M.C. Webb and E. Highley (eds.) *Stored grain in Australia. Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, Canberra.* 25-27 June. CSIRO Stored Grain Research Laboratory, Canberra, Australia.
- Lee, B., P. Annis, F. Tumaalii, and S. Lee. 2004. Fumigant toxicity of *Eucalyptus blakelyi* and *Melaleuca fulgens* essential oils and 1,8-cineole against different development stages of the rice weevil *Sitophilus oryzae*. *Phytoparasitica* 32(5):498-506.
- Liu, Z.L., S.S. Chu, and Q.R. Liu. 2010. Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* to the essential oil of *Artemisia capillaris* and *Artemisia mongolica*. *Molecules* 15:2600-2608.
- Mazzoneto, F., e J. Vendramin. 2003. Efeito de pos origen vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijoo armazenado. *Neotropical Entomology* 32:145-149.
- Mossi, A., V. Astolfi, G. Kubiak, L. Lerin, C. Zanel-la, G. Toniazzo, D. de Oliveira, H. Treichel, I.A. Devilla, R. Cansian, and R. Restello. 2011. Insecticidal and repellency activity of essential oil of *Eucalyptus* sp. against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). *J. Sci. Food Agric.* 91:273-277.
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel, and E. Stashenko. 2010. Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource Technology* 101:372-378.
- Niemeyer, H., y S. Teillier. 2007. Aromas de la flora nativa de Chile. FIA/Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Núñez, P., G. Silva, M. Tapia, R. Hepp, J.C. Rodríguez-Maciél, y A. Lagunes-Tejeda. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y boldo (*Peumus boldus* M.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Agro-Ciencia (Chile)* 26:71-80.
- Obeng-Ofori, D., and Ch. Reichmuth. 1997. Bio-activity of eugenol, a major component of essential oil *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *International Journal of Pest Management* 43(1):89-94.
- Obeng-Ofori, D., Ch. Reichmuth, J. Bekele, 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.
- Obeng-Ofori, D., Ch. Reichmuth, J. Bekele, and A. Hassanali. 1998. Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*, against four stored product beetles. *International Journal of Pest Management* 44(4):203-209.
- 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(5):633-639.
- Pires, J., J. De Moraes, e S. De Bortoli. 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Revista de Biologia e Ciência da Terra* 6:96-103.
- Pizarro, D., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, y S. Aguilar-Medel. 2013. Actividad insecticida del polvo de *Peumus boldus* Molina (Monimiceae) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat. (BLACPPMA)* 12:420-430.
- Pretheep-Kumar, P., S. Mohan, and P. Balasubramanian. 2010. Insecticide resistance stored-products insects. Mechanism and management strategies. Lambert Academic Publishing, Lexington, Kentucky, USA.

- Procopio, S., J.D. Vendramin, J. Ribeiro, e J. Santos. 2003. Bioatividade de diversos pós de origen vegetal em relacao a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Revista Ciencia e Agrotecnologia 27:1231-1236.
- Roel, A., y J.D. 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.
- SAS Institute. 1998. Introductory guide for personal computer. Release 6.03 ed. 1028 p. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Shaaya E., and M. Kostjukovsky. 2009 The potential of biofumigants as alternatives to methyl bromide for the control of pest infestation in grain and dry food products. Recent Advances in Plant Biotechnology 4:389-403.
- Silva, G., D. Pizarro, P. Casals, y M. Berti. 2003a. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. Revista Brasileira de Agrociência 9:383-388.
- Silva, G., A. Lagunes, y J.C. Rodríguez. 2003b. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. Cien. Investig. Agrar. 30(3):153-160.
- Silva, G., O. Orrego, R. Hepp, y M. Tapia. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. Pesq. Agropec. Bras. 40(1):11-17.
- Tripathi, A. K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan, and P.R. Bhattacharya. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 1(5):052-063.
- Ukeh, D., M.A. Birkett, J.A. Pickett, A.S. Bowman, and 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.
- Urzúa, A., R. Santander, J. Echeverría, C. Villalobos, S.M. Palacios, and Y. Rossi. 2010. Insecticidal properties of *Peumus boldus* Mol. essential oil on the house fly, *Musca domestica* L. Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat. (BLACPMA) 9(6):465-469.
- Vidal, J., Fazolin, M., Catani, V., Rodrigues, e M. Santos de Lima, 2006. Toxicidade de óleo essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesq. Agropec. Bras. 41(2):217-222.
- Vogel, H., I. Razmilic, and U. Doll. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides em diferentes poblaciones de boldo (*Peumus boldus* Mol.). Cien. Invest. Agrar. 24:1-6.
- White, N. 1995. Insects, mites, and insecticides in stored-grain ecosystems. p. 123-167. In D. Jayas, N. White and W.E. Muir. (eds.). Stored-Grain Ecosystems. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.