

Tesis Doctoral

Efectos biológicos de withanólidos de solanaceae sobre plagas agrícolas

Bado, Silvina G.

2004

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Master's and Doctoral Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Bado, Silvina G.. (2004). Efectos biológicos de withanólidos de solanaceae sobre plagas agrícolas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n3763_Bado

Cita tipo Chicago:

Bado, Silvina G.. "Efectos biológicos de withanólidos de solanaceae sobre plagas agrícolas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2004.
http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n3763_Bado

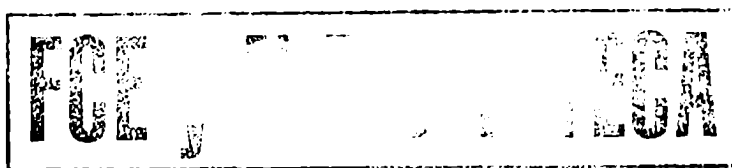
EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



**EFFECTOS BIOLÓGICOS DE
WITHANÓLIDOS DE SOLANACEAE
SOBRE PLAGAS AGRICOLAS**

ING. AGR. SILVINA G. BADO

DIRECTORES

DR. AXEL O. BACHMANN

DRA GRACIELA S. MAREGGIANI

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTORA DE LA UNIVERSIDAD
DE BUENOS AIRES**

3763

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

2004

**BIOLOGICAL EFFECTS OF
WITHANOLIDES FROM
SOLANACEAE ON
AGRICULTURAL PESTS**

ING. AGR. SILVINA G. BADO

DIRECTORS

DR AXEL O. BACHMANN

DR GRACIELA S. MAREGGIANI

**DISSERTATION FOR THE DOCTOR'S
DEGREE OF UNIVERSITY
OF BUENOS AIRES**

**FACULTY OF NATURAL AND EXACT SCIENCES
UNIVERSITY OF BUENOS AIRES**

2004

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo Cristian, quien me alentó en todo momento durante la realización de este Trabajo de Tesis y con quien compartí alegrías y tristezas a lo largo de todos estos años.

A mis hijos, María Sol y Luca, quienes me acompañaron en la realización de este trabajo de Tesis desde sus primeros momentos de vida y debieron acostumbrarse a compartir a su madre con esta apasionante vocación por la Entomología.

A mis padres Héctor y María Cristina, quienes me brindaron el ejemplo del progreso y de la perseverancia.

A mis suegros, Cristina y Miguel Angel, quienes colaboraron cuidando a mis hijos para poder alcanzar esta meta.

A mi Director, Dr Axel O. Bachmann por sus invalorable aportes, continuo aliento, buen humor y optimismo.

A mi Directora, Dra Graciela S. Mareggiani quien tuvo la mejor disposición para responder a mis dudas y me acompañó animándome a lo largo de todos estos años.

Al equipo de Dr Gerardo Burton por la preparación de los compuestos empleados en este trabajo de Tesis, muy especialmente a las Dras Adriana

Veleiro y Adriana Cirigliano por sus valiosas sugerencias y explicaciones, amabilidad y colaboración.

Al Dr Juan C. Oberti por la donación del compuesto nicandrenona.

A los Ings. Agrs. Fernando Vilella, Juan José Valla y Ana María Cerri por cederme las plantas de *Physalis peruviana* empleadas en la realización de los bioensayos y en la cría del coleóptero *Lema bilineata* G.

Al Dr Jorge Cladera y su equipo, por su colaboración en la donación del material para el inicio de la cría de *Ceratitidis capitata*, muy especialmente a la Dra Mariana Viscarret, quien me guió en la puesta a punto de la cría de *Ceratitidis capitata*.

Al Dr Roberto Lecuona por brindarme material necesario y sus indicaciones para llevar a cabo la cría de *Anticarsia gemmatilis*.

Al Lic. Guillermo Cabrera Walsh quien me cedió material de *Diabrotica speciosa*.

A mi hermano Augusto César, quien confeccionó la cámara de cría para poder llevar a cabo los bioensayos.

A la Sra Mary, Srta Lorena Balda, Ing. Agr. Marcelo Michetti, Ing. Agr. Sandra Clemente y Téc. Jardinería Delfina Tripiccio por su colaboración en el mantenimiento de la cría de *Ceratitidis capitata*.

A la Téc. Floricultura María Julia Pannunzio por la toma de numerosas fotos que se presentan en este Trabajo de Tesis y su continuo aliento para la realización de este Trabajo.

Al Dr Esteban Saini por su autorización para presentar las fotografías correspondientes a los catálogos de la Serie INTA de su autoría en este Trabajo de Tesis y al Sr. Anibal Molina por las tomas fotográficas de *Lema bilineata*.

A mi amiga Nora Cavuto, por sus sugerencias en la realización del resumen y de la carátula en inglés.

1- RESUMEN

En la búsqueda de hallar nuevas sustancias con actividad insecticida de bajo impacto ambiental se estudiaron los efectos biológicos de un grupo de metabolitos secundarios, denominados withanólidos, extraídos de *Salpichroa origanifolia*, *Jaborosa odonelliana* y *Nicandra physaloides* (Solanaceae), así como de compuestos análogos obtenidos por síntesis química a partir del withanólido mayoritario de *S. origanifolia* (salpicrólido A), y de los extractos crudos de *Physalis peruviana* (Solanaceae) sobre las siguientes plagas agrícolas: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae); *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae); *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) y *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). Los estudios se llevaron a cabo a través de bioensayos que comprendieron la incorporación de los productos en alimento (dieta artificial, discos foliares y bebederos de adultos, según especie insectil) y por aplicación tópica de larvas. Se realizaron observaciones periódicas registrándose el estado morfológico de los individuos, lo que permitió detectar la aparición de demoras en el desarrollo de los individuos tratados mediante la obtención de los parámetros Tiempo de pupación 50% y Tiempo de desarrollo 50% por el método Probit. Otros datos registrados fueron la presencia de alteraciones morfológicas, mortalidad y talla de los individuos, siendo estos sometidos a análisis de varianza y test de Tukey ($p \leq 0,05$). Se realizaron bioensayos de preferencia alimentaria de *Lema bilineata* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) con las solanáceas *Salpichroa origanifolia*, *Physalis peruviana* y *Solanum gilo*, analizándose los resultados teniendo en cuenta la constitución química de metabolitos de las

tres especies vegetales. Los resultados obtenidos son producto de una interacción química planta-insecto de alta especificidad, considerándose de gran interés la continuación de estudios acerca de su bioactividad.

Palabras clave: withanólidos- salpicrólidos- Solanaceae- análogos modificados por síntesis química- plagas agrícolas

2- ABSTRACT

In the search of new substances with insecticidal activity of low environmental impact, my dissertation focuses on a new group of secondary metabolites group, named withanolides. The withanolides were extracted from *Salpichroa odonelliana*, *Jaborosa odonelliana* and *Nicandra physaloides* (Solanaceae), and analogue compounds were synthesized from the major natural *Salpichroa organifolia* withanolide (salpichrolide A). Their biological effects of these withanolides and from *Physalis peruviana* (Solanaceae) crude extracts, were studied on the following agricultural pests: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae); *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). The studies involved biotests which consisted in the incorporation of the products into food (artificial diet, foliar discs, adult drinking vessels, depending on insect species) and topic application on larvae. Periodical observations of individual morphological stage registered development delays of treated individuals by fifty percent pupation time and fifty percent development time parameters through Probit method. Other data obtained were morphological alterations, mortality and individual length, which were submitted to variance analysis and Tukey test ($p \leq 0,05$). Preference alimentary biotests of *Lema bilineata* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae), with *Salpichroa organifolia*, *Physalis peruviana* and *Solanum gilo* solanaceae were carried out, whose results were analyzed taking into account the chemical constitution of these three plant species. The information here obtained indicates a high specificity in chemical plant-insect

interaction, which could be considered of great interest for further bioactivity studies.

Key words: withanolides- salpichrolides- Solanaceae- analogues modified by chemical synthesis- agricultural pests

INDICE

	PAGINAS
1- RESUMEN	6
2- ABSTRACT	8
3- INTRODUCCIÓN	14
3.1- EL PROBLEMA DE LAS PLAGAS Y SU MANEJO	14
3.2- CONCEPTO DE SEMIOQUIMICO	18
3.3- PRINCIPALES SEMIOQUÍMICOS UTILIZADOS EN EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS	23
3.3.1- CLASIFICACION	23
3.3.1.1- Feromonas	23
3.3.1.2- Atractantes alimentarios y de oviposición	24
3.3.1.3- Repelentes	24
3.3.1.4- Reguladores de crecimiento	25
3.3.1.5- Antialimentarios	25
3.3.2- PRINCIPALES PLANTAS CON SEMIOQUIMICOS	27
3.3.2.1- Familia Meliaceae	27
3.3.2.1.1- <i>Azadirachta indica</i> “neem”	27
3.3.2.1.2- <i>Melia azedarach</i> “paraíso”	28
3.3.2.2- Familia Asteraceae	29
3.3.2.3- Familia Fabaceae	29
3.3.2.4- Familia Solanaceae	30
3.4- WITHANÓLIDOS	31
3.4.1- DEFINICIÓN	31
3.4.2- CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO DE TESIS	34
3.4.2.1- <i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Thell	34
3.4.2.1.1- Características morfológicas y distribución geográfica	34
3.4.2.1.2- Withanólidos	35
3.4.2.1.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de <i>S. organifolia</i>	35
3.4.2.2- <i>Nicandra physaloides</i> (L.) Gaertn:	36
3.4.2.2.1- Características morfológicas y distribución geográfica	36
3.4.2.2.2- Withanólidos	36

3.4.2.2.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de <i>N. physaloides</i>	37
3.4.2.3- <i>Jaborosa odonelliana</i> Hunz:	38
3.4.2.2.1- Características morfológicas y distribución geográfica	38
3.4.2.2.2- Withanólidos	38
3.4.2.2.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de <i>J. odonelliana</i>	38
3.4.2.4- <i>Physalis peruviana</i> L.	39
3.4.2.4.1- Características morfológicas y distribución geográfica	39
3.4.2.4.2- Withanólidos	40
3.4.2.4.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de <i>P. peruviana</i>	40
3.5- EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS SEMIOQUÍMICOS	46
3.5.1- FACTORES QUE INFLUYEN EN UN ENSAYO BIOLÓGICO	47
3.5.2- MATERIAL BIOLÓGICO	48
3.5.3- METODOLOGÍA	49
3.5.4- CUANTIFICACIÓN DE LA RESPUESTA	50
3.5.5- ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	51
3.6- CARACTERISTICAS DE LOS INSECTOS PLAGA EVALUADOS EN ESTA TESIS	54
3.6.1- <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst) (Coleop.: Tenebrionidae)	55
3.6.2- <i>Ceratitidis capitata</i> (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)	57
3.6.3- <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)	59
3.6.4- <i>Diabrotica speciosa</i> (Germar) (Coleop: Chrysomelidae)	61
3.6.5- <i>Lema bilineata</i> (Germar)(Coleoptera: Chrysomelidae)	62
4- OBJETIVOS DE ESTA TESIS	70
4.1- OBJETIVO GENERAL	70
4.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	70
5- MATERIALES Y METODOS	71
5.1- ESPECIES INSECTILES PLAGA UTILIZADAS	71
5.1.1- <i>Tribolium castaneum</i>	71
5.1.2- <i>Ceratitidis capitata</i>	71
5.1.3- <i>Anticarsia gemmatalis</i>	72

5.1.4- <i>Diabrotica speciosa</i>	73
5.1.5- <i>Lema bilineata</i>	73
5.2- COMPUESTOS Y EXTRACTOS EVALUADOS	77
5.3- BIOENSAYOS	82
5.3.1- <i>T. castaneum</i>	82
5.3.1.1- Metodologías de exposición al producto	82
5.3.1.1.1- Exposición a alimento tratado	82
5.3.1.1.2- Aplicación tópica	83
5.3.1.2- Dosis y concentraciones empleadas	83
5.3.1.2.1- Exposición a alimento tratado	83
5.3.1.2.2- Aplicación tópica	83
5.3.1.3- Efectos observados	83
5.3.1.4- Metodología estadística	84
5.3.2- <i>C. capitata</i>	84
5.3.2.1- Metodologías de exposición al producto	84
5.3.2.1.1- Exposición a alimento tratado	84
5.3.2.1.1.1- en dieta de larvas	84
5.3.2.1.1.2- en bebederos de adultos	85
5.3.2.1.2- Aplicación tópica	86
5.3.2.2- Dosis y concentraciones empleadas	86
5.3.2.2.1- Exposición a alimento tratado	86
5.3.2.2.1.1- en dieta de larvas	86
5.3.2.2.1.2- en bebederos de adultos	86
5.3.2.2.2- Aplicación tópica	87
5.3.2.3- Efectos observados	87
5.3.2.4- Metodología estadística	87
5.3.3- <i>A. gemmatalis</i>	88
5.3.3.1- Metodologías de exposición al producto	88
5.3.3.1.1- Exposición a alimento tratado	88
5.3.3.1.1.1- en dieta de larvas	88
5.3.3.1.1.2- sobre discos foliares de soja	88
5.3.3.2- Concentración empleada	88
5.3.3.3- Efectos observados	89
5.3.3.3.1- en dieta de larvas	89
5.3.3.3.2- sobre discos foliares	89
5.3.3.4- Metodología estadística	89
5.3.3.4.1- en dieta de larvas	89
5.3.3.4.2- sobre discos foliares de soja	89
5.3.4- <i>D. speciosa</i>	90
5.3.4.1 - Metodologías de exposición al producto	90
5.3.4.1.1- en discos foliares de soja	90
5.3.4.2- Concentración empleada	90

5.3.4.3- Efectos observados	90
5.3.4.4- Metodología estadística	91
5.3.5- <i>L. bilineata</i>	91
5.3.5.1- Ingesta	91
5.3.5.2- Permanencia sobre el alimento	92
5.3.5.3- Efectos observados	93
5.3.5.4- Metodología estadística	93
6- RESULTADOS	107
6.1- <i>Tribolium castaneum</i>	107
6.2- <i>Ceratitls capitata</i>	135
6.3- <i>Anticarsia gemmatalis</i>	171
6.4 - <i>Diabrotica speciosa</i>	185
6.5- <i>Lema bilineata</i>	188
7- DISCUSIÓN	195
7.1- Bioensayos con <i>Nicandra physaloides</i>	195
7.2- Bioensayos con <i>Jaborosa odonelliana</i>	196
7.3- Bioensayos con <i>Salpichroa organifolia</i>	197
7.4- Bioensayos con <i>Physalis peruviana</i>	205
7.5- Estudios de especificidad alimentaria realizados con <i>Lema bilineata</i> (Coleoptera: Chrysomelidae)	207
8- CONCLUSIONES	210
9- BIBLIOGRAFÍA CITADA	215
10- PUBLICACIONES, PRESENTACIONES A CONGRESOS Y OTRAS ACTIVIDADES EFECTUADAS EN EL MARCO DE ESTA TESIS	229

3- INTRODUCCION

3.1- EL PROBLEMA DE LAS PLAGAS Y SU MANEJO

La población humana mundial ha alcanzado la cifra de 6.100 millones de personas. Su incesante incremento y la progresiva pérdida del área cultivable convierten a la defensa de la producción agrícola en un gran desafío para el hombre. La organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) estima que las necesidades de alimentos sobrepasarán 9,3 billones de toneladas en el año 2030, lo que demandará un aumento de 97% en la capacidad de producción alimentaria actual (Doussoulin & Chávez, 2002).

Las pérdidas producidas debido a las malezas, plagas y enfermedades, antes y después de la recolección son de 45% del rendimiento potencial (Pascual Villalobos, 1996). Vigiani, (1990) señala que ningún esfuerzo para incrementar el rendimiento de los cultivos, tales como mejora de las prácticas agrícolas, uso racional de fertilizantes o disponibilidad de maquinarias u otra tecnología, serviría de mucho sin el apoyo de las estrategias que acuden en defensa de los alimentos y cosechas contra el ataque de plagas y enfermedades.

La domesticación de las plantas produjo una intensificación y simplificación agrícola, convirtiéndose en un sistema de producción en monocultivo, dentro del cual las prácticas agrícolas que se llevan a cabo (uniformidad génica, siembras sincronizadas, aplicación irracional de agroquímicos) fueron alterando el equilibrio del ecosistema. Bajo estas condiciones, las poblaciones de insectos encuentran una fuente óptima y

abundante de alimento (Schoonhoven, 1972). A ello se sumó el hecho de que el hombre, al ir mejorando las propiedades organolépticas de los agroalimentos, produjo un detrimento en la resistencia a los agentes perjudiciales. Dicho deterioro de las defensas naturales, junto con una mayor facilidad para ubicar la fuente de alimento, las convirtieron en especies más sensibles a plagas y enfermedades que las silvestres (Pascual Villalobos, 1996). La artificialidad de los agroecosistemas hace que éstos deban ser subvencionados con altos niveles de insumos químicos, lo cual acarrea no sólo costos económicos significativos sino también medio ambientales (Altieri y Letourneau, 1982).

Los primeros productos empleados para combatir a las plagas animales fueron de origen inorgánico. El azufre ya se usaba en el año 1000 a. de C. como insecticida, y el arsénico era aplicado por los chinos en el siglo XVI. Posteriormente, en el siglo XVII, comenzaron a emplearse productos obtenidos de las plantas, tales como la nicotina, obtenida de extractos de las hojas de tabaco, mientras que en el siglo XVIII, además del empleo de productos de origen inorgánico tales como derivados del cianuro y del plomo, se introdujeron dos insecticidas naturales importantes: la rotenona, extraída de raíces de una planta del género *Derris*, y el piretro, de las cabezuelas de la flor de una especie de crisantemo. El gran desarrollo de los insecticidas se produce a partir de 1930, encontrándose en el mercado tres tipos de compuestos: los venenos estomacales con radicales tóxicos (arseniacales y fluorsilicatos) formulados como sales de metales, especialmente plomo y sodio, mercurio, cobre, cromo, zinc, selenio y arsénico, los aceites alquitranados y los extractos tóxicos de plantas (piretro, rotenona y nicotina), cuyo uso fue reemplazado por el de otros productos, mencionados a continuación, los que protegían a las plantas por lapsos prolongados (Lagunes Tejeda y Villanueva Jiménez, 1994).

La introducción del DDT a partir de 1939 significó un aumento de la producción agrícola y desencadenó la creación en forma ininterrumpida de una gran cantidad de agroquímicos de carácter sintético, tales como los organoclorados, organofosforados y carbamatos. De ese modo, la existencia de una gran oferta de estos productos en el mercado y su indiscutible efectividad, los convirtió en alternativa casi exclusiva para el manejo de plagas tanto a nivel agrícola como sanitario.

Sin embargo, la aplicación indiscriminada de dichos productos fue determinando a lo largo de los años tres problemas principales (Vigiani, 1990):

- 1) aparición de resistencia como mecanismo defensivo de las plagas.
- 2) surgimiento de nuevas plagas como consecuencia de la eliminación de sus enemigos naturales.
- 3) Aparición de problemas toxicológicos debidos tanto al fuerte impacto ambiental que producen alterando el equilibrio de los ecosistemas, como a daños accidentales derivados del mal uso y aplicación.

La toma de conciencia de estos problemas comenzó a establecer un nuevo concepto en el manejo de plagas, en contraposición al sistema que se venía llevando a cabo, llamado “Manejo tradicional” basado en el uso extensivo de agroquímicos, cuya aplicación se regía según fechas calendario y no teniendo en cuenta el desarrollo de la plaga.

En 1959, Stern et al. sugirieron un sistema que disminuyera el uso de plaguicidas y mantuviera e incrementara el rendimiento de los cultivos, concepto que tomó importancia veinte años más tarde, recibiendo el nombre de “Manejo Integrado de Plagas” (MIP), siendo definido por la FAO como “un sistema de manejo de plagas que, en el contexto del medio ambiente

asociado (agroecosistema) y de la dinámica de población de las especie plaga, utiliza todas las técnicas disponibles para mantenerlas en niveles inferiores a aquellos que causen daño económico al cultivo” (INTA FAO, 1979).

De ese modo comenzaron a desarrollarse investigaciones acerca de alternativas de manejo de plagas integradas por otras prácticas de cultivo, tales como la rotación, prácticas de policultivo, control biológico, manejo adecuado de enmiendas, y el intercultivo con plantas repelentes (Vigiani, 1990).

En la actualidad la concientización de problemas toxicológicos hace surgir un nuevo concepto en el manejo de adversidades fitosanitarias, la “Agricultura Orgánica”, alternativa no contaminante en la que se evita o restringe el uso de agroquímicos, y que se basa sobre el empleo exclusivo de productos naturales. Estos consisten en compuestos químicos de origen vegetal, animal o microbiano, y pueden actuar como hormonales, biocidas, inhibidores o estimuladores de diferentes procesos biológicos según el caso, siendo las plantas su principal fuente (Hernández Escalona et al., 1999). De este modo, vuelve a considerarse el empleo de algunas de las sustancias extraídas de plantas que ya habían sido empleadas en la antigüedad, tal como fue expuesto anteriormente, y surge la búsqueda de nuevos compuestos selectivos, con modo de acción novedoso, efectivos a muy bajas concentraciones (de magnitud submilimolar), con baja residualidad, y sin efectos toxicológicos y ecotoxicológicos.

3.2- CONCEPTO DE SEMIOQUIMICO

El estudio de la interacción entre plantas e insectos herbívoros constituye un aspecto básico para establecer líneas de investigación de prácticas de manejo no contaminantes (Andrews y Quesada, 1989).

A partir de mediados del siglo XX comenzaron a desarrollarse teorías acerca de la coevolución de estas interacciones como forma de análisis de la localización hospedero-plaga, y de los componentes fisiológicos y comportamentales que involucra dicho proceso.

De estos estudios se desprende que tanto la composición física como la química de la planta intervienen en las diversas fases del proceso de selección del hospedero (Metcalf y Luckmann, 1994).

Los aspectos relacionados con los órganos de digestión, sensoriales y los aspectos bioquímicos, tales como la capacidad de excreción, biodegradación o secuestro de metabolitos tóxicos de la plaga en sí, también resultan claves en el dicho proceso (Metcalf y Metcalf, 1992).

Metcalf y Luckmann (1994) esquematizan este proceso de selección en cinco etapas:

- 1- Búsqueda del hábitat del hospedero:** en esta etapa intervienen mecanismos de fototaxia, anemotaxia y preferencias de temperatura y humedad.
- 2- Localización del hospedero:** son importantes los mecanismos sensoriales de largo alcance, principalmente el visual y el olfativo. Una vez establecido el contacto con el hospedero toman importancia

los impulsos olfatorios y táctiles de corto alcance, que inducen a que el insecto permanezca en la planta.

3- Reconocimiento del hospedero: el equipo sensorial captaría sustancias químicas clave.

4- Aceptación del hospedero: gobernada por compuestos químicos que favorecerían que el insecto continúe la alimentación.

5- Hospedero adecuado: dado por el valor nutritivo de la planta y ausencia de compuestos tóxicos, lo que permitiría que el insecto cumpla su desarrollo, así como aumentaría la longevidad y fecundidad de los adultos.

Entre los componentes químicos de las plantas algunos presentan carácter esencial y universal, siendo por esta razón llamados “metabolitos primarios”. Se trata de hidratos de carbono, aminoácidos, ácidos grasos, ácidos orgánicos y bases nitrogenadas que dan origen a prótidos, glúcidos, lípidos y ácidos nucleicos. Estos compuestos químicos son sintetizados en grandes cantidades, y tanto ellos como sus polímeros pasan a constituir el protoplasma de los insectos o son empleados para producir energía. Al ser utilizados poseen bajo valor agregado (Pascual Villalobos, 1996). Otros compuestos químicos que no son ni esenciales ni universales en las plantas, son denominados metabolitos “secundarios”. Derivan de productos del metabolismo primario y se acumulan en pequeñas cantidades en las plantas. Sus funciones son diversas, tales como estrategias de defensa, agentes colorantes, adaptación a *stress* ambiental, etc. En caso de ser aprovechados,

presentan un elevado valor añadido. Son de naturaleza química más compleja, pudiendo ser compuestos nitrogenados (alcaloides, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos, etc.), compuestos fenólicos (flavonoides, cumarinas, taninos), terpenoides, etc.

El papel de los metabolitos secundarios en el proceso de selección del hospedero sería de fundamental importancia, ya que constituyen los principales desencadenantes de efectos comportamentales y fisiológicos en los insectos.

El conocimiento del rol defensivo de los metabolitos secundarios parte del análisis de teorías explicativas de la coevolución planta-insecto fitófago basadas sobre el siguiente proceso: los insectos fitófagos habrían sido originalmente polífagos, es decir, consumidores de una gran variedad de plantas. Estas, a lo largo de la evolución habrían desarrollado compuestos que generaban efectos adversos en los insectos, que por lo tanto evitaban alimentarse de ellas. Como consecuencia de ello, se generó una radiación adaptativa de dichas plantas. Pero la fuerte presión ejercida por el mecanismo defensivo dió lugar a la aparición en los insectos de razas biológicas con mecanismos evasivos de tales defensas, presentando por lo tanto estas líneas de insectos ventajas frente a sus competidores y pasando a ser más abundantes. De ese modo, las especies insectiles fueron restringiendo su espectro de hospederos y se convirtieron en especialistas, ya que los compuestos que primero actuaron como barrera, en un paso posterior de la evolución comenzaron a actuar como sustancias atrayentes. Surgieron así las especies oligófagas, término que se utiliza para insectos que se alimentan de especies de una misma familia y las monófagas cuando se alimentan de especies de un mismo género (Thompson, 1988). Thorsteinson (1960) sugiere que tales términos deberían ser definidos teniendo en cuenta la presencia de

sustancias químicas atractantes y de sustancias inhibidoras en las plantas, ya que éstas pueden encontrarse en especies vegetales pertenecientes a distintas familias. Propone así una clasificación basada sobre la preferencia alimentaria y de oviposición como respuesta a la presencia de sustancias inhibidoras, los que pertenecerían al “Tipo I”, o bien a la de estímulos químicos, los que pertenecerían al “Tipo II”.

Los **semioquímicos** (del griego **semion** que significa marca o señal), son sustancias que derivan el metabolismo secundario de las plantas, incluyendo todo compuesto químico que media entre dos organismos, siendo producido por un emisor y captado por un receptor, el cual genera una respuesta, a modo de una verdadera comunicación. Pero en realidad tal “propósito” no existe por lo que se sugiere que el término sea reemplazado por el de **infoquímico** (Dicke y Sabelis, 1988).

Los **semioquímicos** pueden actuar **intraespecíficamente** (entre individuos de la misma especie) siendo entonces llamados **feromonas**, o **interespecíficamente** (entre miembros de especies distintas) recibiendo en tal caso el nombre de **aleloquímicos** (Law y Regnier, 1971). Dentro de este grupo, encontramos los compuestos que favorecen al emisor, llamados **alomonas**, mientras que las que benefician al receptor reciben el nombre de **kairomonas** (Blum, 1981).

Las alomonas comprenden a los siguientes compuestos:

- **Repelentes:** compuestos que alejan al insecto de la planta.
- **Excitantes de la locomoción:** inducen o aceleran el movimiento.
- **Supresores:** inhiben la mordida u horadación.
- **Disuasivos:** evitan alimentación u oviposición.

- **Antibióticos:** interrumpen el crecimiento y desarrollo del agente animal.
- **Antixenóticos** (pueden ser de naturaleza química o física): interfieren en el comportamiento de selección de la planta hospedera.

Las kairomonas comprenden compuestos con las siguientes propiedades:

- **Atrayentes:** intervienen en la orientación de los insectos hacia la planta hospedera.
- **Paralizadores:** disminuyen o detienen los movimientos.
- **Excitadores de la alimentación y oviposición:** inducen a la mordida, horadación y oviposición, y a la alimentación continuada.

Tanto las alomonas como las kairomonas intervienen en cada fase en el proceso de selección mencionado, excepto en la primera fase que comprende la búsqueda del hábitat. Estos compuestos deben estar presentes en cantidades adecuadas en el momento del crecimiento y desarrollo normal de los insectos.

La resistencia de las plantas resulta de una interrupción de la secuencia normal de acontecimientos, ya sea por una reducción en su tenor, bien por una supresión de la acción de kairomonas, o por presencia y acción de alomonas.

3.3- PRINCIPALES SEMIOQUÍMICOS UTILIZADOS EN EL MANEJO DE PLAGAS

3.3.1- CLASIFICACION:

Los semioquímicos han sido empleados tanto en la obtención de insecticidas de origen vegetal como en el desarrollo de nuevos insecticidas sintéticos. A continuación se brinda un listado de los más empleados en el control de plagas animales.

3.3.1.1- Feromonas: comprenden sustancias volátiles que actúan como mensajeros químicos entre individuos de una misma especie desencadenando conductas o procesos en los individuos receptores. Dentro de ellas podemos distinguir, entre otras, las de carácter sexual y las de agregación. Las primeras son las emitidas por los individuos de un sexo y tienen efecto sobre los de otro sexo, mientras que las de agregación tienen influencia sobre individuos de ambos sexos. Su empleo en el control de plagas se debe a las ventajas que presentan: posibilidad de obtener formulados de liberación lenta, baja toxicidad para mamíferos por su gran especificidad y bajas dosis, siendo por lo tanto de muy bajo riesgo ecotoxicológico.

Pueden ser localizadas en trampas usadas para la detección y el muestreo de una plaga, así como para la obtención de información acerca de la ecología y comportamiento de la plaga, para reducir una población (por trampeo en masa, inhibición o interrupción de la cópula o “confusión sexual”) o bien pueden ser incorporadas en mezclas con insecticidas. Su uso está muy

desarrollado para el control de especies de lepidópteros (Giménez et al., 2002).

3.3.1.2- Atractantes alimentarios y de oviposición: en el primer caso se trata de sustancias químicas presentes en numerosos hospederos vegetales o animales que orientan a los insectos hacia sitios adecuados para la alimentación, mientras que en el segundo caso, de sustancias que controlan la selección del sitio de oviposición de las hembras adultas. Pueden ser usadas tanto las sustancias naturales como las obtenidas por síntesis. Como ejemplos de atrayentes alimentarios específicos se pueden mencionar: el azúcar y el propionitrilo usado para la mosca doméstica, la cumarina empleada para el “gorgojo del trébol” *Sitona cylindricollis* F., las curcubitacinas B y E, en el caso de los coleópteros del género *Diabrotica* spp., y el t- butil-2-metil-4-clorociclohexanocarboxilato (Trimedlure) empleado en trampas para la “mosca del mediterráneo” *Ceratitlis capitata*. Como atrayente de oviposición se puede mencionar la p-metilacetofenona para el “barrenador del tallo del arroz” (Metcalf y Luckmann, 1994). Estas sustancias pueden ser empleadas del mismo modo que las feromonas.

3.3.1.3- Repelentes: son sustancias químicas que previenen el daño ocasionado a las plantas o animales al volverlos poco atractivos, de mal sabor o repulsivos para ellos. Algunos repelentes actúan contra insectos desfoliadores, como el caldo bordelés desarrollado en Francia en 1882, mientras que otros actúan sobre insectos rastreros, xilófagos y larvas de polillas de la ropa, siendo los de mayor difusión los empleados contra insectos hematófagos, como el deet o dietil-m-toluamida, y el bencilo, de gran

efectividad contra mosquitos, simúlidos, otras moscas picadoras, ácaros y garrapatas.

3.3.1.4- Reguladores de crecimiento: incluyen compuestos que alteran el desarrollo del insecto y compuestos inhibidores de la síntesis de quitina.

El primer grupo recibe el nombre de **antijuvenoides**, siendo sustancias tanto de origen natural como sintético que mimetizan la acción de las hormonas insectiles intervinientes en el crecimiento y muda (hormona juvenil y ecdisona) alterando de ese modo dichos procesos con la consecuente muerte del insecto (Lagunes Tejeda y Villanueva Jiménez, 1994). Dentro de ellos este grupo se hallan los fitojuvenoides que comprenden aquellos compuestos naturales con actividad biológica idéntica a la de las hormonas juveniles de insectos, causando metamorfosis precoz y adultoides infértiles, los fitoecdisteroides, que inducen la muda, conduciendo a malformaciones, esterilidad y muerte de insectos, y las antiecdisonas que interfieren en alguna fase del proceso de muda.

Dentro de los más difundidos se hallan los antijuvenoides empleados en el control de larvas acuáticas de mosquitos.

Los inhibidores de la síntesis de quitina afectan a este componente esencial de la cutícula al no permitir que se deposite en la procutícula durante el proceso de muda (Lagunes Tejeda y Villanueva Jiménez, 1994).

3.3.1.5- Antialimentarios: Se trata de compuestos que actúan sobre los receptores gustativos, inhibiendo la señal en el insecto al iniciar su alimentación, ocasionándole la muerte por inanición aunque permanezca sobre la planta (Frazier y Chyb, 1995). Su empleo en el control de plagas presentaría las siguientes ventajas:

- Son específicos.
- Presentan diferentes modos de acción que los insecticidas clásicos, siendo por lo tanto adecuados para su empleo en el control de plagas que hayan generado resistencia hacia estos compuestos.
- Debido a que la plaga permanecería más tiempo sobre la planta, los enemigos naturales podrían continuar alimentándose de ellas no siendo por ello afectados.
- Pueden presentar dos o más sitios de acción ya que muchos de estos compuestos se comportan como disuasivos y tóxicos para una determinada plaga, lo cual dificultaría el desarrollo de resistencia (Jermy, 1990).

Entre los más usados se hallan: la azadiractina, triterpeno aislado de *Azadirachta indica* y *Melia azedarach* (Meliaceae), el wargurganal, sesquiterpeno aislado de plantas medicinales africanas del género *Warburgia* (Canellaceae) con actividad sobre *Spodoptera exempta* y *S. littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), y la clerodina, un diterpeno extraído de algunas especies de *Clerodendrum* (Verbenaceae) (Pascual Villalobos, 1996). El ácido hidroxámico DIMBOA, presente en numerosas gramíneas, entre las que se encuentran el trigo, sorgo, arroz, etc., es un buen antialimentario para el lepidóptero “barrenador asiático del maíz”, *Ostrinia furnscalis* (Houseman et al., 1992).

3.3.2- PRINCIPALES PLANTAS CON SEMIOQUIMICOS

Según Grainge y Ahmed (1988), quienes recopilaron información de 19 países, existen más de 2000 especies de plantas con propiedades que permiten su empleo como plaguicidas naturales en la agricultura. A continuación se mencionan las principales especies vegetales utilizadas como fuente de productos naturales, cuya actividad insecticida se debe a la presencia de semioquímicos con diversos modos de acción.

Harborne (1993) señala que se han recopilado cerca 3000 metabolitos secundarios de origen vegetal con actividad biológica sobre distintos organismos, siendo señalado por Bowers (1993) que sólo 10% de las plantas terrestres han sido evaluadas como fuente de aleloquímicos en el control de insectos.

3.3.2.1- Familia Meliaceae:

3.3.2.1.1- *Azadirachta indica* “neem”:

Es un árbol subtropical nativo de la India, el cual produce tetranotriterpenoides como meliantriol, salanina y la azadirachtina.

La actividad biológica corresponde al aceite de semillas, hojas, extractos de hojas, extractos de semillas, torta de semillas, extractos del fruto y a varios componentes aislados.

Debido a la complejidad de la estructura química de los componentes, especialmente de la principal sustancia, la azadirachtina, no se logró su síntesis, y por ello se emplean tanto preparados caseros como productos comerciales en América, tales como la línea Bioplant, CubaNim, OleoNim,

comercializada en Cuba, Margosan-o, comercializada en USA (Larson, 1989), BioNeem, Némesis, comercializada en Canadá, y RD-Repelin, Wellgr, Nimbosol, Neemrich, Neemark comercializados en Asia (Hernández Escalona et al., 1999).

Además de su acción tóxica posee actividad antialimentaria, reguladora del crecimiento dando origen a malformaciones en etapas preimaginales y adulta, produce inhibición del desarrollo y reducción de la fecundidad de las hembras.

Entre las ventajas de su uso se mencionan: no causa fitotoxicidad, es inocua para el hombre, crustáceos, insectos benéficos y otros artrópodos (Saxena et al., 1987), afecta un amplio conjunto de insectos plagas con distinto modo de alimentación, es activa aun en bajas concentraciones, y posee cierta acción sistémica. Su baja estabilidad en el campo debió ser mejorada por la adición de aceites. No presenta problemas de formulación, aplicación ni conservación. Su uso resulta compatible con otros métodos empleados en MIP siendo por todo ello una de las especies de mayor importancia en el control de plagas (Ascher, 1992).

3.3.2.1.2- *Melia azedarach* “paraíso”:

Los componentes activos son los mismos que en el neem. Estudios realizados en nuestro país mostraron una fuerte acción antialimentaria y tóxica sobre unas veinte especies plaga siendo particularmente eficaz sobre insectos masticadores como orugas, tucuras y vaquitas entre las que se mencionan a la “vaquita de olmo” *Xanthogaleruca luteola* M. (Defagó et al., 1995; Valladares, Defagó et al., 1997; Valladares, Herrero et al., 1995) y a la “vaquita de los melones” *Epilachna paenulata* (Carpinella et al., 2003) y en

menor medida contra pulgones y minadores de hojas. Además controla nematodos (Mareggiani, Leikach et al., 1998).

3.3.2.2- Familia Asteraceae:

Resulta una de las familias más ricas en especies con metabolitos secundarios con propiedades insecticidas, destacándose el género *Tanacetum* (= *Chrysanthemum*): *T. cinerariaefolium* “piretro”, *T. coronarium*, *T. balsamit* y *T. indicum*, habiendo mostrado propiedades insecticidas por su contenido de ésteres ciclopenténicos del ácido crisantémico y del ácido pirétrico (piretinas, jasmolinas, cinerinas).

Estos componentes interfieren con los canales de sodio de las membranas nerviosas. Sobre la base de estos compuestos se sintetizaron nuevas moléculas insecticidas que comenzaron a emplearse desde la década de 1940 y cobraron gran importancia a partir de la década de 1970 con la aparición de los piretroides, compuestos fotoestables (Bowers, 1993) de extenso uso en la actualidad.

3.3.2.3- Familia Fabaceae:

Derris elliptica, *Lonchocarpus* sp., y *Threphrosia* sp. poseen rotenona como principio activo, compuesto fenólico que inhibe el transporte de electrones en la cadena respiratoria de las mitocondrias, bloqueando la fosforilación oxidativa del ADP que conduce al ATP. En los insectos produce disminución del consumo de oxígeno, depresión de la respiración y del ritmo cardíaco con la subsecuente parálisis y muerte.

El *Derris* fue empleado para el control de garrapatas y otros ectoparásitos en baños de ganado bovino y ovino, siendo luego desplazado por insecticidas sintéticos. En la agricultura es empleado para combatir pulgones, orugas, mosca sierra, gusanos del fruto de la frambuesa y arañas rojas, siendo muy seguro como insecticida de jardín por su elevada degradabilidad por la luz y baja toxicidad para mamíferos (Lagunes Tejeda y Villanueva Jiménez, 1994).

3.3.2.4- Familia Solanaceae:

Numerosas especies han sido empleadas como insecticidas por el contenido en alcaloides. Tal es el caso de *Nicotiana tabacum*, cuyas hojas son ricas en los alcaloides nicotina, nornicotina y anabasina. Además contienen fenoles, flavonoides y cumarinas (Hernandez Escalona, 1999). Sus extractos se han empleado desde la antigüedad en pulverizaciones para el control de diversos insectos, tales como pulgones, psílidos, trips y minadores. Su acción es altamente tóxica para el hombre, ya que bloquea los receptores nicotínicos de las sinapsis del sistema nervioso central y periférico.

Dentro de esta familia se hallan los withanólidos, metabolitos secundarios descubiertos en 1965, cuya actividad biológica se estudia en este Trabajo de Tesis.

3.4- WITHANÓLIDOS

3.4.1- DEFINICION

Los withaesteroides constituyen un grupo de lactonas esteroideas C-28 construidas sobre un núcleo ergostano (Figura N° 3.1). Si bien se creían exclusivos de Solanaceae, donde preponderan, también pueden ser hallados en Fabaceae (Dicotiledóneas) y Taccaceae (Monocotiledónea) (Tomassini et al., 2000).

Comprenden una variedad de compuestos que pueden ser clasificados en ocho grupos: withanólidos con anillo A aromático, withanólidos con anillo D aromático, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas y fisalinas (Ray & Gupta, 1994).

Su presencia apoya la división de las Solanaceae quimiotaxonómicamente en dos subfamilias: Cestroideae (sin withanólidos) y Solanoideae (con withanólidos).

Los géneros de la subfamilia Solanoideae que contienen estos compuestos son: *Acnistus*, *Datura*, *Deprea*, *Dunalia*, *Iochroma*, *Jaborosa*, *Lycium*, *Nicandra*, *Physalis*, *Salpichroa*, *Trechonates*, *Tubocapsicum*, *Withania* y *Witheringia*, hallándose la mayor producción de withanólidos y de fisalinas en los géneros *Withania* y *Physalis* (Ray & Gupta, 1994).

Los withanólidos poseen propiedades medicinales, entre las que se pueden mencionar: antibacterianas, antitumorales, antiinflamatorias, espasmolíticas, protegen el hígado contra el daño provocado por toxinas y se comportan como antioxidantes, aumentando los niveles de la super-oxidismustasa, así como potenciadores del sistema inmunológico (Tomassini et al., 2000).

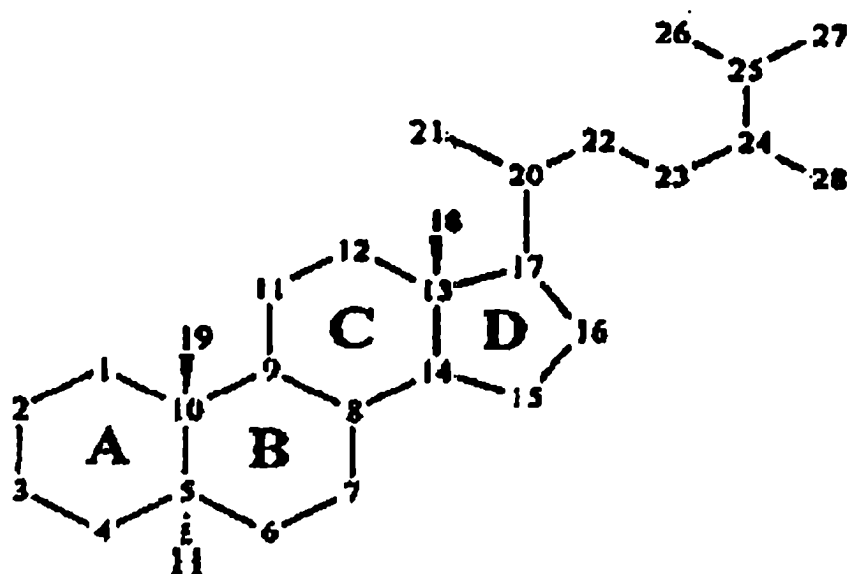


Figura N° 3.1: Estructura general y nomenclatura de un withaesteroide

En 1964, Nalbandov et al. mostraron que algunos de estos compuestos presentaban actividad antialimentaria en ensayos con nicandrenona sobre el lepidóptero *Manduca sexta*. Luego, Ascher et al. (1980) encontraron dichas propiedades en ensayos con *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae), empleando el withanólido E aislado de *Physalis peruviana* y otros esteroides relacionados. Realizaron estudios de los efectos antialimentarios de varios withanólidos naturales extraídos de *Nicandra physaloides*, *Datura quercifolia*, y de algunos derivados sintéticos, sobre *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae), *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Ascher et al., 1987).

En la Argentina el equipo del Dr Gerardo Burton, de la Universidad de Buenos Aires, y el del Dr. Juan C. Oberti, de la Universidad de Córdoba, realizan estudios sobre las estructuras químicas de withanólidos naturales, y de los modificados por síntesis, de los géneros *Acnystus*, *Datura*, *Jaborosa*, *Physalis* y *Salpichroa*. De este último género fue estudiada la especie de mayor difusión, *Salpichroa organifolia* (Lam.) Thell incluida en la tribu Jaborosea, de donde se obtuvieron numerosos withanólidos.

Los efectos biológicos de withanólidos naturales de *Salpichroa organifolia* y *Datura ferox*, así como de los modificados por síntesis, fueron estudiados sobre *Tribolium castaneum* y *Musca domestica*, obteniéndose con algunos de ellos tanto efectos subletales como letales (Mareggiani, Picollo, Veleiro et al., 2002; Mareggiani, Picollo, Zerba et al., 2000).

3.4.2- CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO DE TESIS:

Ante la utilidad potencial de estos fitoquímicos en el manejo de plagas, surgió el presente trabajo de Tesis, donde se llevó a cabo la evaluación a través de bioensayos de la efectividad de semioquímicos extraídos de las solanáceas *Salpichroa organifolia*, *Nicandra physaloides*, *Jaborosa odonelliana* y *Physalis peruviana*, sobre plagas agrícolas. A continuación se presentan sus principales características morfológicas, distribución geográfica, se mencionan los withanólidos que fueron obtenidos de sus tejidos, así como los antecedentes acerca de su actividad biológica.

3.4.2.1: *Salpichroa organifolia* (Lam.) Thell:

3.4.2.1.1: Características morfológicas y distribución geográfica:

Es una hierba perenne, rizomatosa, laxamente pubescente, con tallos ascendentes, que puede alcanzar los 50 cm de altura. Las hojas inferiores son opuestas mientras que las superiores son alternas, pecioladas, ovado-redondeadas enteras o sinuadas. Las flores son axilares, solitarias y blancas, de 7 a 8 mm de longitud. Las bayas son blancas, de 15 a 20 mm de longitud (Figura N° 3.2).

Su distribución abarca el sur de Brasil, Uruguay y Norte y Centro de la Argentina siendo adventicia en América del Norte y Europa, África y Australia (Parodi y Dimitri, 1987).

3.4.2.1.2: Withanólidos:

Veleiro, Oberti, Burton (1992) aislaron por primera vez en época de floración el salpicrólido A (SA), que posee dos características inusuales: el anillo D aromático y el epóxido 5 α ,6 α (Figura N° 5.5). Hasta el momento, sólo unos pocos withanólidos obtenidos de *Nicandra physaloides*, presentaban la primera característica. Posteriormente, de plantas de *S. organifolia* antes del estado de floración, se obtuvieron además del salpicrólido A, otros 3 withanólidos: el salpicrólido C (SC) y el salpicrólido G (SG), estructuralmente asociados con el salpicrólido A, y el salpicrólido B (SB), siendo los salpicrólicos C y B compuestos minoritarios (Figura N° 5.6). De plantas recolectadas en Buenos Aires en invierno se obtuvieron los salpicrólicos E y F (Tettamanzi et al., 1996) y otros salpicrólicos minoritarios denominados H, I, J, K y M (Tettamanzi et al., 1998).

El contenido de withanólidos total de *S. organifolia*, sobre una base de peso fresco, varía de 500 ppm en invierno, a 3000 ppm en verano, tanto en hojas como en tallos, comprendiendo el salpicrólido A, 85 % del total, y 450 ppm en los frutos (Veleiro, Burton et al., 1994).

3.4.2.1.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos obtenidos de *S. organifolia*:

Estudios llevados a cabo en la Universidad de San Luis mostraron que el salpicrólido A (SA) presentó una fuerte actividad antialimentaria en larvas de *Tenebrio molitor*, donde el porcentaje de inhibición alimentaria fue similar al obtenido para la azadiractina, la cual se tomó como referencia por ser antialimentario en una amplia variedad de insectos (Baldoni, 1997). Tal como fue mencionado anteriormente, los efectos biológicos de withanólidos naturales de *Salpichroa organifolia*, A, C y G y de *Datura ferox*, así como

algunos compuestos obtenidos por síntesis a partir de los salpicrólidos A y G, fueron estudiados sobre *Tribolium castaneum* y *Musca domestica*, obteniéndose con algunos de ellos tanto efectos subletales como letales (Mareggiani, 1999; Mareggiani, Picollo, Veleiro et al., 2002; Mareggiani, Picollo, Zerba et al., 2000).

3.4.2.2- *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn:

3.4.2.2.1- Características morfológicas y distribución geográfica:

Llamada vulgarmente “espantamoscas”, es una planta herbácea, anual, que alcanza un metro de altura. Posee hojas alternas, aovadas y agudas. Las flores son violetas, claras, de 2 a 3 cm de diámetro, solitarias. El fruto es carnosos y se halla envuelto completamente por el cáliz acrescente, vesiculoso y pentagonal (Figura N° 3.3).

Es de origen peruano, y adventicia en el NO de la Argentina (Parodi y Dimitri, 1987).

3.4.2.2.2- Withanólidos:

De esta especie se aislaron withanólidos que presentan un anillo D aromático de 6 miembros, característica por la que fueron vistos como curiosidad por varios años, hasta el hallazgo de los withanólidos extraídos de *S. organifolia* (Veleiro, Oberti, Burton, 2004).

3.4.2.2.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos obtenidos de *N. physaloides*:

Tal como fue mencionado en párrafos anteriores, la nicandrenona extraída de esta especie fue el primer withanólido que presentó actividad antialimentaria al ser evaluado sobre *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) por Nalbandov et al. (1964). Otros compuestos extraídos de esta planta fueron la nicalbina A, una mezcla de withanicandrina y daturalactona A y la nicalbina B, los que resultaron los compuestos con mayor actividad antialimentaria al ser evaluados comparativamente con otros withanólidos, sobre el desarrollo de larvas neonatas de *Tribolium castaneum*, mediante su incorporación en dieta en concentraciones comprendidas en el intervalo de 10 a 500 ppm. La nicalbina A fue el compuesto más efectivo, causando en la mayor concentración (500 ppm) mortalidad y una significativa disminución en el peso larval (Ascher et al., 1987).

La nicalbina A también resultó efectiva contra *Epilachna varivestis* (Coleoptera) en concentraciones comprendidas entre 50 a 1000 ppm, y sobre el lepidóptero *Spodoptera frugiperda* al ser incorporada en dieta artificial en 100 ppm, sobre adultos del coleóptero *Acalymma vittatum* “cascarudo rayado del pepino” al impregnarse discos de hojas y, por medio de aplicación tópica, causó mortalidad sobre dos especies plaga de productos almacenados: *Sitophilus oryzae*, el “gorgojo del arroz”, y *Callosobruchus maculatus*, el “gorgojo del garbanzo” (Ascher et al., 1987).

3.4.2.3- *Jaborosa odonelliana* Hunz:

3.4.2.3.1- Características morfológicas y distribución geográfica:

Planta anual, de raíz gruesa y a veces con rizomas. Presenta tallos aéreos de hasta 60 cm de longitud. Las hojas son elípticas, con ápice redondeado, subsésiles, lobado-subdentadas. Por cada nudo se encuentran 1 a 2 flores, de corola blanca, de 9,5 a 12,5 cm de longitud. Los frutos y semillas no han sido descriptos (Hunziker, 1967) (Figura N° 3.4).

Esta especie crece principalmente en suelos arenosos y áridos del Noroeste de la Argentina.

3.4.2.3.2- Withanólidos:

El primer withanólido obtenido fue la jaborosalactona P (Monteagudo et al., 1990), aislándose posteriormente seis nuevos withanólidos cuyas estructuras difieren por el tipo de sustitución presente en los anillos A y B: las jaborosalactonas 10, 14 y 15, obtenidas de plantas recolectadas en verano, y las jaboralactonas 11, 12 y 13, de plantas obtenidas en otoño (Cirigliano, 1999) (Figura N° 5.5).

3.4.2.3.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de *J. odonelliana*:

En este trabajo de Tesis se estudia por primera vez la actividad biológica de dos withanólidos mayoritarios de esta planta: jaborosalactona P y jaborosalactona 10, sobre plagas agrícolas. Sólo fueron evaluados otros withanólidos extraídos de otras especies de *Jaborosa*.

Baldoni (1997) halló que la jaborosolactona 2, aislada de *J. sativa*, presentó una importante actividad antialimentaria sobre el coleóptero *Tenebrio molitor*, al ser incorporada en forma de emulsiones sobre rodajas de zanahoria (*Daucus carota*), mientras que Vaccarini y Bonetto (1999) estudiaron la efectividad de tres withanólidos extraídos de *J. integrifolia* (jaborosolactona A, jaborosolactona B y la jaborosolactona D) sobre larvas de *Spodoptera littoralis* en un ensayo de elección múltiple, hallando efecto antialimentario sólo en el caso de la jaborosolactona A.

3.4.2.4- *Physalis peruviana* L.:

3.4.2.4.1- Características morfológicas y distribución geográfica:

Es una hierba anual con tallos erectos, ramosos, hirsutos y algo glandulosos que alcanza los 60 cm de altura. Las hojas son pecioladas, con láminas acorazonadas y laxamente pubescentes en ambas caras. Las flores son axilares, solitarias, largamente pedunculadas, de color rosáceo amarillento (Cabrera, 1983) (Figuras N° 3.5, 3.6 y 3.7).

Es nativa de América del Sud tropical, pero naturalizada en las regiones cálidas del mundo. En la Argentina se la halla frecuentemente en el Norte, habiendo sido evaluada como alternativa productiva en la Cátedra de Producción Vegetal de la Facultad de Agronomía (UBA) (Cerri et al., 1998) donde se realizaron monitoreos de su fauna insectil asociada (Bado, Cerri et al., 2004).

3.4.2.4.2- Withanólidos:

El género *Physalis* es de especial interés por las complejas estructuras de sus withanólidos (Tomassini et al., 2000).

P. peruviana, o “cape goosberry”, es una especie rica en withanólidos, siendo el withanólido E y el 4 β hidroxewithanólido E los compuestos mayoritarios.

3.4.2.4.3- Antecedentes sobre el conocimiento de la actividad biológica de withanólidos extraídos de *P. peruviana*:

Los primeros ensayos de efectividad fueron realizados por Ascher et al. (1980), al observar durante una infestación de *Spodoptera littoralis*, que las plantas de *P. peruviana* no fueron atacadas, mientras que otras especies de solanáceas sufrieron importantes daños. Larvas del noctuido criadas sobre hojas de *P. peruviana* alcanzaron 100% de mortalidad en 7 días. De ese modo, se prepararon extractos metanólicos de hojas, y soluciones metanólicas luego de remover los pigmentos, las que fueron ofrecidas a larvas *S. littoralis* durante 48 horas sobre una laminilla de poliestireno, tratadas con sacarosa como fagoestimulante. Al pesarse las laminillas y los pellets fecales, se observó que un incremento en la concentración del extracto disminuyó el consumo larval. Los resultados obtenidos promovieron una profundización de estudios con los compuestos mayoritarios, así como análogos modificados por síntesis. Larvas de sexto estadio de *S. littoralis* disminuyeron la ingestión de las laminillas de poliestireno previamente embebidas en estos compuestos en concentraciones de 10 y 100 ppm para el withanólido E y el 4 β hidroxewithanólido, respectivamente. El compuesto derivado del withanólido E, obtenido por hidrogenación catalítica, resultó el

antialimentario más activo, hallándose posteriormente también efectividad sobre *Epilachna varivestis*, pero no sobre *T. castaneum*.

Las larvas de *E. varivestis* expuestas a hojas de poroto, superficialmente tratadas con soluciones metanólicas de withanólidos extraídos de *P. peruviana*, mostraron que las menores concentraciones que resultaron en la no ganancia de peso fueron de 500 ppm para el withanólido E y de 250 ppm para el 4 β hidroxewithanólido. Luego del aislamiento de los compuestos y empleando la misma metodología que en el caso *S littoralis*, se obtuvo como potente antialimentario al withanólido E, seguido por el withanólido D, obtenido por reducción del anillo A del withanólido E. Ascher et al. (1980) concluyen que el patrón de sustitución de los C4, C5 y C6 resulta crítico para la presencia de actividad antialimentaria.

Elliger y Waiss (1989) señalan una CE 50% del 4-β hidroxewithanólido extraído de *P. peruviana* de 250 ppm para *Helicoverpa zea*. Elliger et al., (1994) señalan que *P. peruviana* ha sido empleada en la medicina tradicional, y sus extractos crudos, en una concentración de 5 a 110 ppm, en ensayos conducidos con larvas de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en dieta artificial, redujeron el crecimiento en 50% respecto del control, pero no se observaron efectos tóxicos.

Baumann y Meier (1993) afirman que los niveles en hojas de esta solanácea resultan de 640 ppm para el withanólido E y 1140 ppm para el 4 β-hidroxewithanólido, afirmando que estos valores resultan suficientemente altos para evitar la herbivoría. Además estudiaron la concentración de los withanólidos mayoritarios durante el desarrollo del fruto, el cual, por sí mismo, puede estar químicamente protegido por withanólidos intrínsecos sólo cuando es joven, ya que a lo largo de la maduración ocurre una disminución de los compuestos mayoritarios en la baya, quedando al término de su

desarrollo protegida por el cáliz que presenta los dos compuestos en abundancia, siendo mayoritario el 4 β hidroxewithanólido.

En monitoreos llevados a cabo en la Facultad de Agronomía (UBA), los niveles poblacionales de las especies insectiles que frecuentan el cultivo fueron bajos, ocasionando sólo importantes daños el carpófago especialista *Heliothis subflexa* G. (Lepidoptera: Noctuidae) lo cual sugiere la posibilidad de que el nivel de withanólidos actúe como disuasivo de las plagas generalistas (Bado, Cerri, Folcia et al, 2004).



Figura N° 3.2: Planta de *Salpichroa origanifolia* (Solanaceae)



Figura N° 3.3: Planta de *Nicandra physaloides* (Solanaceae)

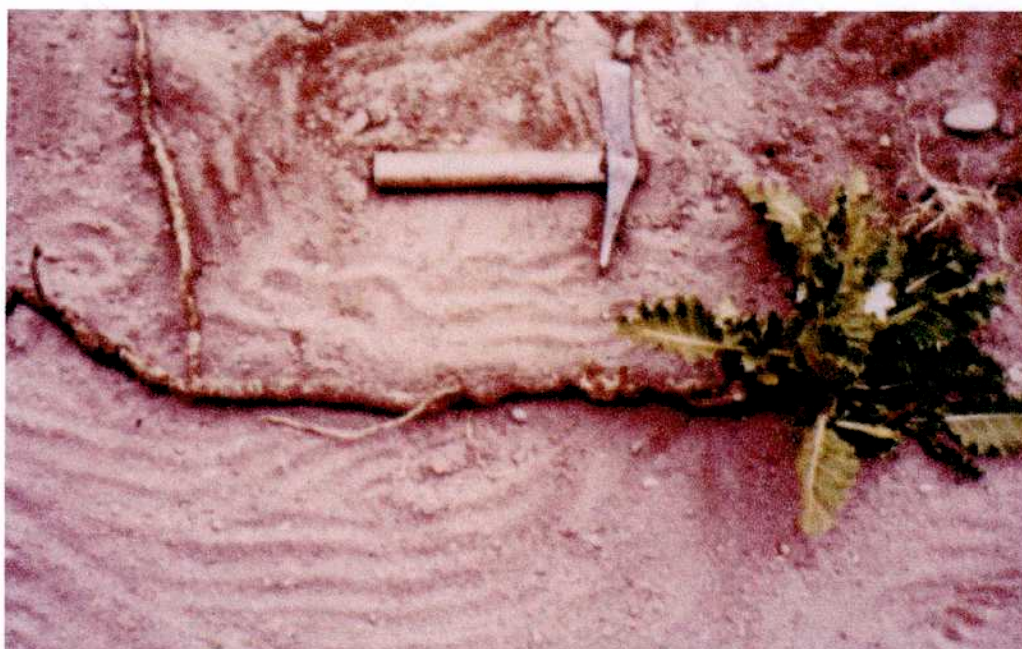


Figura N° 3.4: Planta de *Jaborosa odonelliana* (Solanaceae)



Figura N° 3.5: Planta de *Physalis peruviana* (Solanaceae)



Figura N° 3.6: Frutos de *Physalis peruviana* (Solanaceae)



Figura N° 3.7: Cultivo de *P. peruviana* (Solanaceae) (FAUBA)

3.5 - EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS SEMIOQUÍMICOS

Estos compuestos se evalúan en una primera etapa en laboratorio mediante bioensayos. Un **bioensayo** o ensayo biológico es un método que permite medir alguna propiedad de una sustancia o material, en términos de la respuesta que produce un determinado estímulo sobre un organismo vivo (Lewis y van Emdem, 1986).

El objetivo del bioensayo es encontrar una correlación dosis/respuesta, sobre la base de un estímulo recibido por parte de un organismo (insecto). De ese modo, se podrá determinar la eficiencia de un compuesto dado (semioquímico) en la reducción poblacional de una plaga.

Se trabaja con cohortes, es decir, grupos de individuos de igual edad tomados al azar de una población estabilizada, exponiéndoselos a distintas dosis del producto a evaluar, o bien a diversos semioquímicos a una determinada concentración.

La respuesta puede ser expresada en términos probabilísticos, es decir, se estima la probabilidad de que una población responda de determinada manera, basándose sobre una distribución de respuestas normal, es decir siguiendo una curva gaussiana.

3.5.1- Factores que influyen en un ensayo biológico

- Se deben realizar réplicas independientes para descartar errores de laboratorio y efectos incontrolables. Es habitual tomar de 4 o 5 réplicas por tratamiento.
- Es indispensable implementar controles o testigos, es decir, grupos de individuos que sean sometidos a las mismas condiciones que el resto pero sin tener ningún contacto con el compuesto a evaluar.
- Es de fundamental importancia estandarizar las condiciones ambientales tales como temperatura, humedad relativa, fotoperíodo, etc, en las que se lleva a cabo el bioensayo (Alzogaray y Zerba, 1993).
- Las características del material biológico tales como cepa, estadio, edad del insecto, estado nutricional, dieta, sexo, deberán ser especificadas (Stadler et al., 1990; Casadío y Zerba, 1996).
- Las dosis y concentraciones dependerán de la naturaleza del producto, método de exposición, especie de agente animal, y su estado de desarrollo.
- Es adecuado utilizar dosis o concentraciones mayores (5000- 50.000 ppm) cuando se evalúan extractos crudos, y menores (50- 500 ppm) cuando se trata de pruebas sobre la base del fraccionamiento de compuestos puros.
- Las dosis deben ser aplicadas en forma creciente para hacer despreciables el efecto de restos de solvente y/o principio activo en el instrumento aplicador.

3.5.2- Material biológico

Para poder realizar un correcto diseño del bioensayo es de fundamental importancia conocer aspectos de la ecología (tipo de metamorfosis, potencial biótico, etc) de la especie plaga con la que se va a trabajar.

Las características deseables para la elección de la especie animal son: ciclo de vida corto, fácil manipuleo y alta fecundidad. Es recomendable que pueda criarse con dieta artificial, ya que de ese modo se estandariza el bioensayo y se simplifican las tareas a realizar.

El material biológico que ha sido criado en condiciones estandarizadas por varias generaciones recibe el nombre de **Cepa**. Es conveniente realizar introducciones periódicas de material de la misma cepa para incrementar la diversidad génica.

Existen protocolos de cría en laboratorio de algunas especies donde se especifican la metodología y condiciones ambientales para el desarrollo de la especie. Entre las especies animales más empleadas se encuentran:

Plagas domésticas: *Blatella germanica* (Dictyoptera), *Aedes aegypti* (Diptera), *Musca domestica* (Diptera), *Drosophila melanogaster* (Diptera) y *Triatoma infestans* (Heteroptera).

Plagas agrícolas: *Tenebrio molitor* (Coleoptera), *Tribolium castaneum* (Coleoptera), *Myzus persicae* (Hemiptera), *Pieris brassicae* (Lepidoptera), *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera), *Rachiplusia nu* (Lepidoptera), *Ceratitis capitata* (Diptera) y *Tetranychus urticae* (Acarina).

3.5.3- Metodología

La metodología para la aplicación del tóxico es variada tanto a nivel individual como poblacional. Incluye aplicaciones tópicas, inyección intracelomática, impregnación de alimento, exposición a un sustrato tratado (vidrio, papel, dieta artificial, atmósfera, etc.), etc. (Picollo, 1997).

Aplicación tópica: Esta metodología consiste en el empleo de microjeringas con las que se coloca un volumen predeterminado de una solución de principio activo en solvente orgánico, sobre una determinada zona de la cutícula del insecto, dependiendo de la especie en estudio. Los solventes más empleados son acetona y cloroformo.

Inyección intracelomática: El objetivo es evaluar el producto evitando la barrera cuticular. Para disolver el principio activo se emplea solución fisiológica, aceite o solventes orgánicos 5 %. Se inyecta un volumen prefijado en un sector predeterminado de una membrana intersegmental.

Inmersión: Se emplea en el caso de animales pequeños y frágiles, como por ejemplo ácaros o ciertas larvas acuáticas. Presenta inconvenientes cuando los productos activos no son solubles en agua o la cutícula del insecto es hidrofóbica. El agregado de solvente o emulsionante para solubilizar o dispersar el insecticida puede afectar la cutícula del insecto.

Impregnación de alimento: En este caso el principio activo se mezcla con el alimento natural o artificial del insecto.

Exposición a un medio tratado: Se tratan superficies con un volumen fijo del principio activo disuelto en distintas concentraciones en solvente volátil. Pueden emplearse superficies no porosas (vidrio, azulejo) o porosas

(papel de filtro, ladrillo) sobre los cuales los insectos se desplazan durante un tiempo prefijado.

3.5.4- Cuantificación de la respuesta

La respuesta a medir depende del efecto que se desee evaluar, el cual depende a su vez del modo de acción del insecticida en estudio. En la tabla N° 3.1 se presenta la caracterización de un ensayo biológico según: rapidez, tipo de efecto y respuesta esperada.

Tabla N° 3.1: Relación entre la velocidad de acción del plaguicida, los efectos logrados y la posible respuesta obtenida.

Velocidad de acción del plaguicida	Efecto	Respuesta
rápida	letal	mortalidad
rápida	subletal	repelencia expurgue volteo
demorada	sobre la muda	interrupción, fallas o demoras en el desarrollo
demorada	sobre la alimentación	inhibición alimentaria

La cuantificación de la respuesta dependerá de ésta. Si lo que se desea es evaluar mortalidad, el valor observado se corrige sobre la base de la mortalidad de los controles testigos a través de la fórmula de Abbott, obteniendo la mortalidad corregida (Mc):

$$Mc (\%) = \frac{\text{Mort. Tratado} (\%) - \text{Mort. control} (\%)}{100 - \text{Mort. control} (\%)} \times 100$$

Si la mortalidad en los controles supera 20%, los resultados del bioensayo quedarán invalidados (Picollo, 1997).

Cuando la respuesta involucra una acción demorada del producto, se cuantifica a través de variaciones de peso de los individuos sobrevivientes, variaciones de peso del alimento, mediciones de la talla de las larvas, pupas y adultos, y alteraciones morfológicas.

3.5.5- Análisis de los resultados

Los datos morfológicos tales como talla y variaciones de peso se tratan con análisis de variancia y prueba de comparaciones múltiples (Norman y Streiner, 1996) o con análisis de probabilidad estadística (Probit) para medir, en poblaciones, efectos letales y subletales como mortalidad, inhibición alimentaria, demora en el desarrollo, etc. (Litchfield y Wilcoxon, 1949; Finney, 1971). Las demoras en el desarrollo pueden ser estimadas mediante los siguientes parámetros (Mareggiani, 1999):

Tiempo de pupación 50% (TP 50%): Tiempo (en días) necesario para que 50% de la población en estudio alcance el estado pupal.

Tiempo de puparación 50% (TP 50%): Tiempo (en días) necesario para que 50% de la población en estudio alcance el estado de pupariación.

Tiempo de desarrollo 50% (TD 50%): Tiempo (en días) necesario para que 50% de la población en estudio alcance el estado adulto.

Si se evalúan varias concentraciones de un tóxico pueden obtenerse los parámetros:

Concentración efectiva 50% (CE 50%): Concentración de producto necesario para producir 50% de mortalidad de la población. Este parámetro se utiliza cuando se aplica el tóxico mediante impregnación del alimento.

Dosis letal 50% (DL 50%): Dosis del producto necesaria para producir 50% de mortalidad de la población. Este parámetro se utiliza cuando se aplica el tóxico mediante aplicación tópica.

Por lo tanto, cuando el objetivo es evaluar toxicidad de distintos productos, o diferentes concentraciones de un mismo producto, se tomarán individuos seleccionados al azar de cohortes, sometiéndolos al correspondiente estímulo. A lo largo del tiempo se registra el número de sobrevivientes, información que se expresa como proporción (r/n), siendo r el número total de individuos que componen la cohorte y n el número de

sobrevivientes por cohorte, o bien como porcentaje ($r/n \times 100$) para ser analizada por el método Probit.

La escala del método Probit es una escala de probabilidades estadísticas que transforma el porcentaje de respuestas medido en la probabilidad estadística de que aparezca ese porcentaje de respuesta. Antes se realizaba por métodos gráficos manuales, pero actualmente se realiza por medio de programas de computación.

El intervalo de respuestas obtenidas representa la tolerancia (λ), la que no siempre presenta una distribución normal. Por ello se toma el logaritmo de ese intervalo, que en general presenta dicha distribución.

Finney (1971) denomina “dosis” a la concentración real (mg por litro), y “dosaje” al logaritmo de la concentración (Frutos, 1996).

Si la tolerancia presenta una distribución normal, y se grafica p (porcentajes o proporciones de muertos) en función del dosaje ($\log \lambda$) resulta una curva sigmoidea. Dado que el análisis de datos de una curva sigmoidea es complejo, se realiza una transformación de los porcentajes ($p=r/n \times 100$). De este modo, los porcentajes transformados convierten la curva sigmoidea en una línea recta. La transformación propuesta por los porcentajes es la transformación Probit.

Cargando los resultados obtenidos, el programa brinda una ecuación de una recta, realizando un análisis de chi-cuadrado. La recta que mejor se ajusta a los puntos es la que minimiza las distancias entre los puntos.

$$\Sigma (V \text{ obs} - V \text{ esp}) = 0$$

$V \text{ obs}$ = valores observados

$V \text{ esp}$ = valores esperados

Para cada concentración el programa brinda un valor medio y el intervalo de confianza. Se estima que se haya diferencia significativa entre

tratamientos cuando no hay superposición en los intervalos de confianza obtenidos.

3.6- CARACTERISTICAS DE LOS INSECTOS EVALUADOS EN ESTA TESIS

Para la evaluación de los semioquímicos extraídos de Solanaceae se seleccionaron las siguientes especies insectiles: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Ceratitls capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Lema bilineata* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). Dicha selección se basó principalmente sobre la importancia agrícola que poseen estas especies, la que se detalla a continuación para cada una de ellas, junto con las características morfológicas, bionómicas y otros datos.

En todos los casos se eligieron especies de holometábolos, pues los insectos con este tipo de metamorfosis son más interesantes que los hemimetábolos debido a los bruscos cambios que experimentan durante el estado pupal (Chapman, 1969).

Otras razones que llevaron a seleccionarlos fueron: facilidad de cría en laboratorio, disponibilidad de material procedente de crías estandarizadas, y de protocolos reconocidos, breve período de desarrollo, alta fecundidad y fácil manipuleo.

3.6.1- *Tribolium castaneum* (Herbst)

Ubicación sistemática: Orden Coleoptera- Suborden Polyphaga- Familia Tenebrionidae

Nombres vulgares: “Tribolio castaño”, “gusano de la harina”, “escarabajo rojo de la harina”, “gusano rojo de la harina”, “falso gorgojo de la harina”, “carcoma”, “gorgojo”, “red flour beetle”.

Origen y difusión: De origen indo- australiano, posee una amplia distribución mundial en las regiones de climas más cálidos.

Características morfológicas: La imago es de color castaño rojizo y mide de 3 a 4 mm de largo. Se distingue de otras especies similares por presentar los últimos segmentos antenales ensanchados abruptamente. Ventralmente la distancia que separa los ojos es aproximadamente igual al ancho de cada ojo. La expansión de la cabeza no pierde continuidad a la altura de los ojos (Serantes y de Haro, 1980) (Figura N° 3.9). Las larvas, en su máximo desarrollo, alcanzan 4 a 5 mm. El cuerpo es cilíndrico y consistente. Son de color blanco con tintes amarillentos y presentan en el último segmento abdominal dos prominentes y oscuras púas inmóviles no segmentadas (*urogomphi*) (Smith y Whitman, 2003) (Figura N° 3.8). Las pupas miden aproximadamente 5 mm y son de color blanco amarillento.

Características bionómicas: La hembra deposita entre 300 y 500 huevos pegajosos, blancos-translúcidos, sobre o entre materiales alimenticios, en grietas, bolsas o a través de la malla de los sacos que contienen alimento.

Coloca de 2 a 3 huevos diarios durante sus 2 a 3 años de vida reproductiva. A los 5 a 12 días eclosionan larvas castañas blancuzcas que pasan por 6 estadios y alcanzan la madurez aproximadamente en treinta días bajo condiciones óptimas. El desarrollo puede completarse en tan sólo siete semanas, o puede requerir tres meses o más, de acuerdo con las condiciones ambientales reinantes. En instalaciones con calefacción puede cumplir de 4 a 5 generaciones por año (Smith y Whitman, 2003). Su ciclo biológico no presenta diferencias notables con el de *T. confusum*. Se lo puede hallar en el campo, debido a su condición de excelente volador.

Alimentación: Las larvas y adultos se alimentan de granos almacenados y subproductos, habiéndoselo observado en toda clase de granos rotos de cereales, en harinas y en levaduras (Figura N° 3.10). También atacan porotos, arvejas, y otras legumbres, polvo de hornear, jengibre, raíces vegetales secas, frutas desecadas, nueces, chocolate, pimienta roja, maní, arroz, castañas de Pará, castañas de Cajú, tabaco, y órganos aéreos de *Andropogon rufus* (Poaceae). También dañan los especímenes de insectos de colección. En lo que se refiere a alimentos es de destacar que además de la disminución del volumen y valor nutritivo de los granos que ataca, se caracteriza por otorgar olor nauseabundo a todos los productos sobre los que se desarrolla.

3.6.2- *Ceratitis capitata* (Wiedemann)

Ubicación sistemática: Orden Diptera- Familia Tephritidae

Nombres vulgares: “mosca del mediterráneo” “mosca de los frutos”

Origen y difusión: Es originaria de África, del área de Marruecos, difundiéndose a través del comercio internacional de frutas por casi todo el mundo.

En la Argentina constituye un problema de importancia económica en todas las zonas frutícolas. Si no se llevan cabo las medidas de control correspondientes, puede producir la destrucción total de la cosecha de naranjas, mandarinas y pomelos, especialmente de variedades tempranas y de estación, durante los veranos y otoños lluviosos y cálidos o templados. En el norte argentino actúa juntamente con la mosca sudamericana o antillana *Anastrepha fraterculus*, y se atribuyen a ambas daños que oscilan entre 15 y 20 por ciento de la producción de naranjas y pomelos (Nasca et al., 1981).

Características morfológicas: Pasa por los estados de desarrollo: larva, pupa y adulto. Los huevos son muy pequeños, blancos, de forma de banana y pueden ser visualizados fácilmente con la ayuda de una lupa. Recién emergidas, las larvas son muy pequeñas y difíciles de observar, ya que se confunden con la pulpa de la fruta. En su máximo desarrollo las larvas alcanzan 1 cm de largo. Son ápodas, vermiformes, de color blanco con piezas bucales oscuras. El extremo anterior es aguzado y el posterior ensanchado y de mayor diámetro (Figura N° 3.11). Los puparios son de color castaño

oscuro, en forma de “barrillitos”, ligeramente más grandes que un grano de trigo (Figura N° 3.12).

El adulto mide 5 mm de longitud. La cabeza es amarillenta, con ojos tornasolados. El tórax es de color gris amarillento con máculas negras y blancas; las alas son translúcidas con manchas castañas claras y oscuras en forma de barras y puntos. El abdomen es castaño oscuro con bandas transversales más claras; el extremo del macho es redondeado, mientras que la hembra termina en un oviscapto con el que introduce los huevos en la fruta dejando un orificio que se conoce con el nombre de “picadura” (Figura N° 3.13) (Bonnemaison, 1965).

Características bionómicas: En el norte del país, en condiciones óptimas de temperatura y humedad (verano y otoño), el tiempo de desarrollo dura alrededor de treinta y cinco días, mientras que en los inviernos benignos el insecto sobrevive, alargándose ese lapso. A 26° C y 70-75% de humedad el período de desarrollo es de 20 días, siendo el umbral de desarrollo de 13,5°C (Bonnemaison, 1965). El ciclo de vida de *C. capitata* a 23°C tiene una duración de 25 días desde la ovipuesta hasta la emergencia de la imago abarcando el desarrollo embrionario, 2 días; la etapa larval 11 días; la etapa dentro del pupario 13 días (etapa de pupariación de 40 horas; 144 horas de pupa y de 314 horas de adulto farado) (Bocaccio et al., 1994).

Normalmente se encuentran de 3 a 5 huevos en cada “picadura” de la fruta, que representa una postura de la hembra. Cuando las larvas alcanzan el desarrollo completo salen de la fruta y se entierran a poca profundidad, inmovilizándose para formar el pupario. Antes de enterrarse se encorvan y pueden saltar hasta 40 cm de distancia.

Cuando los adultos alcanzan dos o tres días de edad, ocurre el apareamiento y la hembra ya fecundada reanuda el ciclo, depositando sus huevos en pequeños huecos que hace con el ovíscapo en la cáscara de frutos.

Hospederos y daños: A pesar de que los frutales cítricos son los más perjudicados, también daña duraznos, damascos, guayabas y otras frutas tanto silvestres como cultivadas.

Entre los cítricos, los que muestran mayor ataque son los frutos tempranos y de estación, tanto de naranjas como pomelos y mandarinas, pero también puede afectar a limas. Aunque no se ha registrado desarrollo de larvas en limones, se ha observado daño en la cáscara de frutos ocasionado por posturas de huevos.

El daño fundamental se traduce en las pérdidas del fruto por acción de las larvas que se alimentan de las levaduras desarrolladas en el fruto debido a la lesión causada, y por los agentes de putrefacción que intervienen.

3.6.3- *Anticarsia gemmatalis* (Hübner)

Ubicación sistemática: Orden Lepidoptera- Suborden Heteroneura- División Heterocera- Familia Noctuidae.

Nombre vulgar: “oruga de la soja” u “oruga aterciopelada de la soja” u “oruga de las leguminosas”

Difusión: Se distribuye en todas las zonas sojeras de América del Sud (Novo et al, 1998).

Características morfológicas: Los huevos son hemisféricos, de color verde claro, tornándose rosados y finalmente rojizos. La oruga completamente desarrollada mide unos 40 mm de largo, posee color general verde claro, aunque existen formas castañas y negras (Figura N° 3.14), con líneas dorsales y subdorsales blanquecinas y una franja blanca en cada lado del cuerpo. Las formas claras tienen pequeños tubérculos blanquecinos en la forma verde y oscuros en la forma castaña o negra, en cada uno de los cuales se inserta un pelo castaño oscuro o negro. El adulto mide aproximadamente 40 mm de expansión alar. Las alas son castañas grisáceas, más claras o con más manchas según los ejemplares, y en su faz superior posee una línea transversal rojiza o negruzca. A veces en el dorso de las alas posteriores se observan dos máculas negras (Figura N° 3.15) (Saini, 2001).

Características bionómicas: La hembra puede colocar 900 a 1.000 huevos en forma aislada, sobre tallos y en el envés de las hojas, preferentemente en la parte media e inferior de las plantas. La larva es muy activa, vivaz, y cuando es molestada salta, arrojándose al suelo. El estado larval se extiende por espacio de 15 a 20 días, pasando por seis estadios. Se entierra a poca profundidad para empupar (Saini, 2001).

Daños: Puede provocar intensas defoliaciones, tanto en soja como en otras especies de leguminosas, tales como la alfalfa. Si el ataque coincide con la frutificación, como sucede en algunas áreas con cultivos de soja de siembras tardías, puede consumir total o parcialmente las vainas tiernas o semillas pequeñas que se están llenando, e incluso mordisquear los tallos.

3.6.4- *Diabrotica speciosa* (Germar)

Ubicación sistemática: Orden Coleoptera- Suborden Polyphaga- Familia Chrysomelidae.

Origen y difusión: De origen neotropical, y amplia distribución en el continente sudamericano, ataca una gran variedad de plantas cultivadas y silvestres (Milanez & Parra, 2000).

Características morfológicas: La larva es de color blanco amarillento con sus extremidades cefálica y caudal oscuras, y presenta hábitos subterráneos (Figura N° 3.16). El adulto mide aproximadamente 6 mm de longitud. Su color es verde, con 6 manchas amarillas o anaranjadas dispuestas en dos hileras sobre los élitros (Figura N° 3.17).

Características bionómicas: El tiempo de desarrollo en condiciones de laboratorio es de 37 días (Defagó de Pecchioni et al., 2000). En el campo transcurre el invierno en estado adulto (Rizzo & Saini, 1996).

Daño: Los adultos se alimentan de órganos florales, brotes y hojas, causando un importante daño en maíz, debido a que los granos no maduran al alimentarse de los estigmas. También se alimenta de flores y frutos jóvenes de Cucurbitaceae, donde además puede transmitir enfermedades bacterianas. Puede producir una importante defoliación en soja y daño a las partes tiernas de casi cualquier cultivo (Cabrera Walsh, 2001). La larva se alimenta de raíces, y aunque el daño que causa no ha sido rigurosamente evaluado, hay

evidencias de que causan importantes daños en maíz, trigo, papa y maní (Gassen, 1984).

3.6.5-*Lema bilineata* (Germar)

Ubicación sistemática: Orden Coleoptera- Suborden Polyphaga- Familia Chrysomelidae

Características morfológicas: Los huevos son elipsoidales con el corion amarillo opaco, con extremo superior castaño oscuro, mientras que las larvas de color amarillo pardo, presentan una masa de excrementos adheridas al abdomen. En su máximo desarrollo alcanzan 5,5 mm (Figura N° 3.18). La pupa, libre, es de color amarillo intenso, y se halla ubicada en una camarita que construyen con saliva (Figura N° 3.19). El adulto mide 7 mm de largo por 3 mm de ancho. Las antenas son filiformes de 11 segmentos. El prótorax puede ser amarillo con dos máculas castañas oscuras, o completamente oscuro. Presenta élitros con dos bandas amarillentas que alternan con dos castañas oscuras, pudiendo hallarse gran diversidad en el patrón de coloración entre individuos (Bado, Cerri, Vilella, 2000) (Figura N° 3.20).

Características bionómicas: Las hembras colocan los huevos en grupos de 16 en promedio, tanto en el haz como en el envés de las hojas. La duración del período embrionario es de 4 días a 26° C. La larva pasa por cuatro estadios, siendo la duración del período larval de 16 días y el de estado pupal de 6 días (Bado, Cerri, Vilella et al., 2000).

Daños: Orrego Aravena (1974) afirma que el insecto fue introducido en la Argentina desde Africa del Sur, siendo sus hospederos principales *Salpichroa organifolia* y otras plantas espontáneas. Esta especie fue hallada causando importantes daños en cultivos de *Physalis peruviana* llevados a cabo por la Cátedra de Producción Vegetal de la Facultad de Agronomía (UBA) (Bado, Cerri, Vilella et al., 2000), produciendo pronunciadas desfoliaciones (Figura N° 3.21).



Figura N° 3.8: Larva de *Tribolium castaneum* (Coleoptera Tenebrionidae)



Figura N° 3.9: Adulto de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)



Figura N° 3.10: Adultos de *T. castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) en harina



Figura N° 3.11: Larvas de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Figura N° 3.12: Puparios de *C. capitata* (Diptera: Tephritidae)



Figura N° 3.13: Adultos macho (derecha) y hembra (izquierda) de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae)



Figura N° 3.14: Larvas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae): forma clara (izquierda) y forma oscura (derecha).



Figura N° 3.15: Adulto de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)



Figura N° 3.16: Larva de *Diabrotica speciosa*
(Coleoptera: Chrysomelidae)



Figura N° 3.17: Adulto de *Diabrotica speciosa*
(Coleoptera: Chrysomelidae)



Figura N° 3.18: Larva de *Lema bilineata*
(Coleoptera: Chrysomelidae)

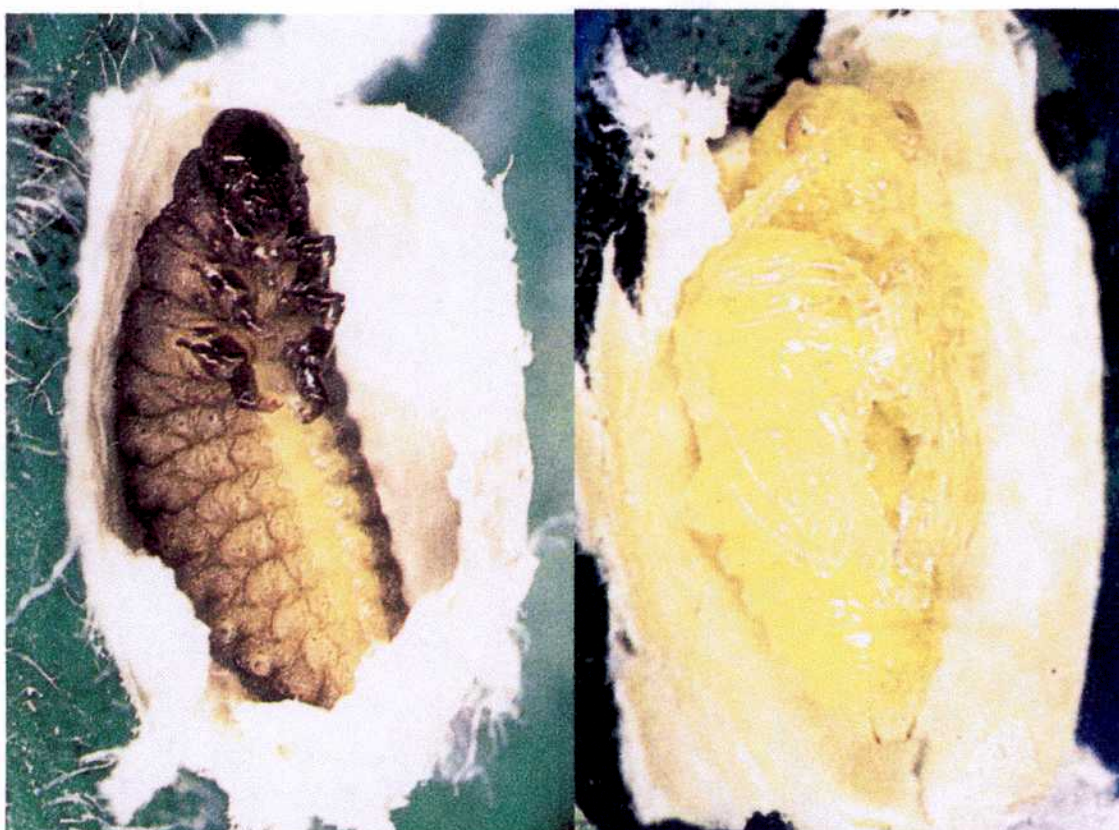


Figura N° 3.19: Estado prepupal (izquierda) y pupal (derecha) de *Lema bilineata*
(Coleoptera: Chrysomelidae)



Figura N° 3.20: Adulto de *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)



Figura N° 3.21: Planta de *Physalis peruviana* dañada por *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)

4- OBJETIVOS

4.1- OBJETIVO GENERAL:

Sentar las bases para desarrollar métodos alternativos de manejo de plagas mediante semioquímicos, tendientes a sustentar la biodiversidad regional y la preservación del medio ambiente.

4.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Estudiar los efectos biológicos de withanólidos extraídos de las solanáceas *Salpichroa origanifolia*, *Jaborosa odonelliana*, *Nicandra physaloides*, así como de compuestos análogos obtenidos por síntesis química a partir de los salpicrólidos A y C, y de extractos crudos de *Physalis peruviana* sobre las plagas agrícolas: *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae), *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae).

5- MATERIALES Y METODOS

5.1- ESPECIES PLAGA UTILIZADAS:

5.1.1- *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

El material se multiplicó a partir de la cepa CIPEIN, mantenida en el insectario de la cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (FAUBA) desde 1997, a 25 ± 1 °C, humedad relativa de $70 \pm 5\%$ (Sing y Moore, 1985) y fotofase de 12 hs. Los individuos, en todas las etapas de desarrollo, se mantuvieron en frascos de vidrio de 1 litro de capacidad conteniendo la dieta compuesta por harina de trigo 0000, levadura de cerveza y almidón de maíz (10:1,5:10) (Casadío, 1994). Con el objeto de obtener cohortes de edad conocida, se prepararon frascos con 100 adultos que se retiraban a los 15 días, de modo de asegurarse que toda la descendencia proviniera de oviposiciones efectuadas en ese lapso (Busuine, 1971) (Figura N° 5.1).

5.1.2- *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Se llevó a cabo una cría de *C. capitata* en el insectario de la cátedra de Zoología Agrícola (FAUBA). Esta fue iniciada con puparios cedidos por el equipo del Dr. Cladera, del Instituto de Genética (INTA Castelar). Las larvas se mantuvieron a 25 ± 2 ° C, 70 ± 5 % HR en condiciones de oscuridad en bandejas de plástico con dieta artificial (Terán, 1977) cuyos ingredientes son: zanahoria (rallada y hervida), polenta, azúcar, levadura (Virgen, CALSA, Argentina), benzoato de sodio, nipagín y ácido clorhídrico (Figura N° 5.2),

siendo estas bandejas colocadas a su vez dentro de cajas de plástico con arena como medio para la pupariación. Los puparios eran tamizados (Figura N° 5.3) y colocados en jaulas de acrílico de 40 x 30 x 30 cm, donde se criaban los adultos. Estos eran alimentados con una mezcla de azúcar y levadura de cerveza (Virgen, CALSA, Argentina) (3:1) (Vargas, 1989), proveyéndoseles además agua en recipientes de vidrio con esponjas embebidas. Para la oviposición se emplearon frutas artificiales con orificios realizados previamente con alfileres entomológicos N°3 (Di Ilio et al., 1999) (Figura N° 5.4).

5.1.3- *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)

Se llevó a cabo una cría en el insectario de la cátedra de Zoología Agrícola (FAUBA) durante tres generaciones a partir de pupas cedidas por el equipo del Dr. Lecuona (IMYZA, CICA, INTA Castelar). Luego de la eclosión, las larvas se colocaron en cajas de plástico de 10 x 14 x 3,5 cm conteniendo dieta artificial según Greene et al. (1976) cuyos ingredientes son: porotos, germen de trigo, proteína de soja, caseína, levadura (Virgen, CALSA, Argentina), ácido sórbico, ácido ascórbico, nipagín, tetraciclina, agar, agua destilada y formol 40%. Al alcanzar el cuarto estadio larval, se transfirieron a otras cajas de plástico de iguales dimensiones, dejando solamente 20 larvas en cada una. Las larvas se mantuvieron a 25 ± 5 °C, 60 ± 5 % HR y fotofase de 16 hs. Una vez que alcanzaban el estado de prepupa, éstas eran transferidas a cajas de plástico con vermiculita humedecida con agua destilada como sustrato para el empupe. Las pupas se colocaban en cajas de Petri destapadas, en jaulas de acrílico de 40 x 30 x 30 cm, donde emergían los adultos; éstos recibieron dieta artificial según Hoffmann-Campo et al. (1985), compuesta por

una solución de miel, ácido sórbico, nipagín, azúcar y agua destilada. Las imagines se mantuvieron a $26 \pm 3^{\circ} \text{C}$, $70 \pm 5\%$ H.R. y fotofase de 16 hs, con luz crepuscular para la cópula. Dentro de las jaulas se colocaban trozos de papel sulfito como superficie de oviposición (Crespo et al., 1996).

5.1.4- *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)

Los insectos empleados en los bioensayos provinieron de la cría llevada a cabo por el Lic. G. Cabrera Walsh, del Laboratorio de Control Biológico de América del Sur, Agricultural Research, U. S. A, Hurlingham, Argentina, según la metodología allí desarrollada (Cabrera Walsh, 2001).

5.1.5- *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)

El material, consistente en larvas recolectadas en el campo experimental de la Facultad de Agronomía (UBA), se multiplicó en el insectario de la cátedra de Zoología Agrícola en condiciones estandarizadas de $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$, $60 \pm 5\%$ HR y fotofase de 14 hs de luz. Las larvas se colocaron en cajas de plástico de 10 x 10 x 5 cm sobre papel de filtro humedecido, con hojas de *Physalis peruviana*. Una vez emergidos los adultos, éstos eran colocados en jaulas de madera de 30 x 20 x 20 cm donde se colocaban macetas con plantines de *P. peruviana* como alimento y lugar de oviposición. Las oviposiciones eran retiradas tres veces por semana y colocadas en cajas de plástico hasta la eclosión de las larvas (Bado, Cerri, Vilella et al., 2000).



Figura N° 5.1: Cría de *Tribolium castaneum*
(Coleoptera: Tenebrionidae)



Figura N° 5.2: Dieta artificial Terán (1977) empleada para el desarrollo de larvas de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)



Figura N° 5.3: Tamizado de puparios de *C. capitata* (Diptera: Tephritidae)



Figura N° 5.4: Jaulas con adultos de *C. capitata* (Diptera: Tephritidae)

5.2- COMPUESTOS Y EXTRACTOS EVALUADOS:

Se evaluó la actividad de compuestos naturales aislados de *Salpichroa origanifolia* y *Jaborosa odonelliana* y de extractos crudos de *Physalis peruviana*, obtenidos por el equipo del Dr. Gerardo Burton del dpto. de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

Las plantas de *S. origanifolia* provinieron de los alrededores de la Ciudad Universitaria de Buenos Aires, mientras que las de *J. odonelliana* fueron recolectadas en El Jardín, dpto La Candelaria, provincia de Salta.

El material de *Physalis peruviana* se obtuvo de cultivos experimentales llevados a cabo en la cátedra de Producción Vegetal en el predio de la Facultad de Agronomía (UBA).

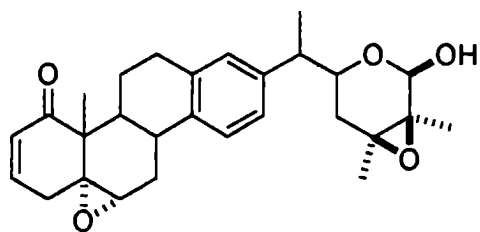
También se empleó nicandrenona (Figura N° 5.5) obtenida de *Nicandra physaloides* por el grupo de investigadores del Dr. J. Carlos Oberti de la Universidad Nacional de Córdoba.

La extracción del material, recién cortado y triturado, se efectuó primero con éter etílico y luego con etanol. Se procesaron por separado la parte aérea, raíces y frutos. Al evaporarse los extractos etéreo y etanólico combinados, los residuos obtenidos se fraccionaron por métodos cromatográficos. De dichas fracciones, por cromatografía flash y TLC preparativa se aislaron los withanólidos.

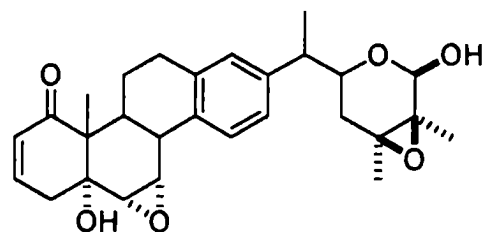
A partir de *S. origanifolia* se obtuvieron los salpicrólidos A (SA), C (SC) y G (SG) (Tettamanzi et al., 1998) (Figura N° 5.6) mientras que de *J. odonelliana* se obtuvieron dos compuestos: la jaborosalactona P (JP) y jaborosalactona 10 (J10) (Cirigliano, 1999) (Figura N° 5.5).

A partir del salpicrólido A (SA), el equipo del Dr. Burton realizó la síntesis de los siguientes derivados: hidrogenado (SAH), hidrogenado reducido (SAHR), reducido (SAR= SB), oxidado (SAO), reordenado (SAREO), reordenado acetilado (SAREOA) y acetilado (SCA) (Figura N° 5.6). En la Tabla N° 5.1 se resumen los compuestos obtenidos a partir de cada especie vegetal empleada.

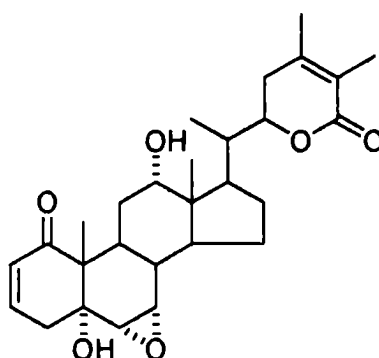
Las plantas de *Solanum gilo*, solanácea utilizada en ensayos de preferencia, se obtuvieron de cultivos experimentales llevados a cabo en la cátedra de Producción Vegetal en el predio de la Facultad de Agronomía (UBA).



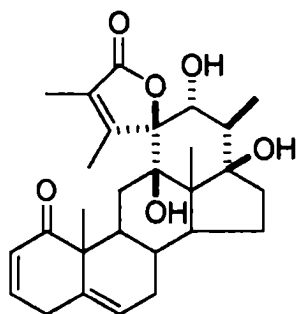
salpichrólido A



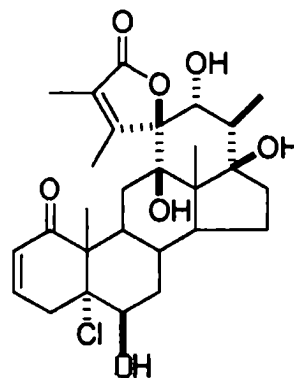
nicandrenona



withaferoxólido



jaborosalactona P



jaborosalactona 10

FIGURA N° 5.5: Estructuras químicas de los withanólidos: salpicrólido A (SA), nicandrenona (N), withaferoxólido*, jaborosalactona P (JP) y jaborosalactona 10 (J 10)

* no usado en este Trabajo de Tesis

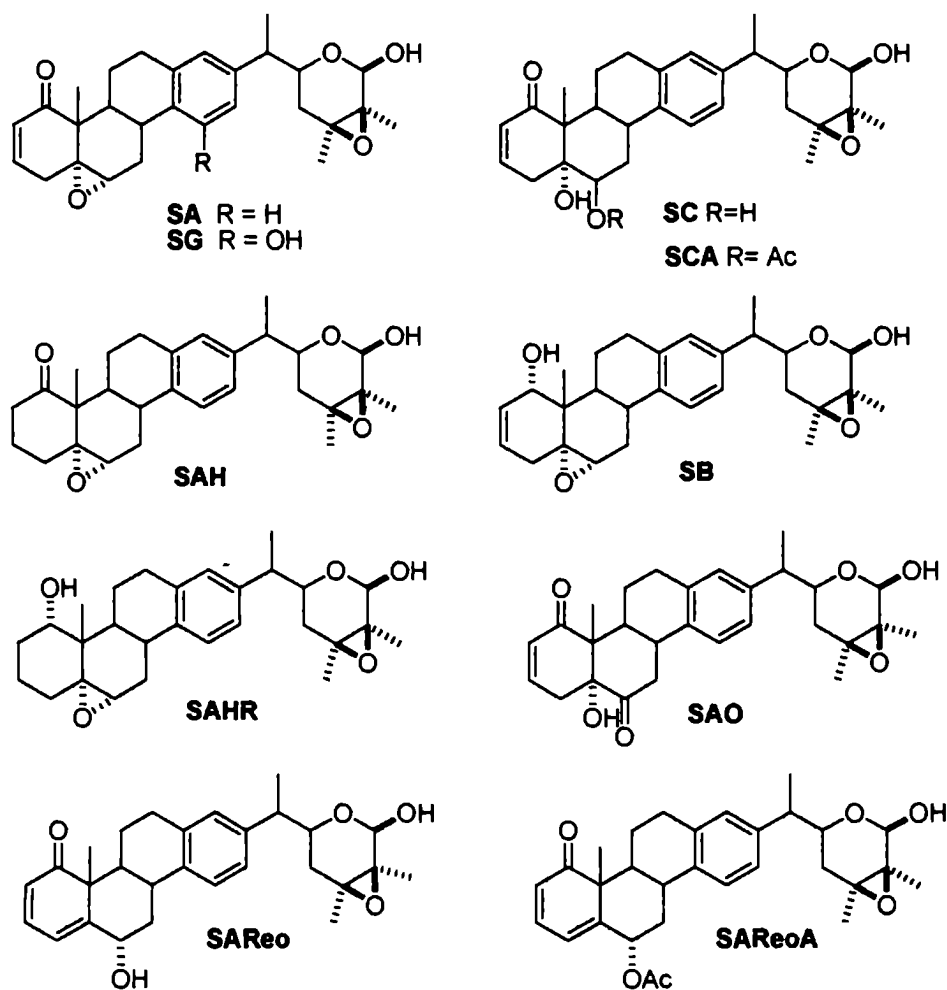


FIGURA N° 5.6: Estructuras químicas de los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG), y de los análogos derivados de los salpicrólidos A y C: salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A reducido (SAR=SB), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA) y salpicrólido C acetilado (SCA).

Tabla N° 5.1: Compuestos y extractos evaluados, su naturaleza y abreviaturas empleadas.

ESPECIE VEGETAL	PRODUCTOS			
	NATURALES		ANÁLOGOS OBTENIDOS POR SÍNTESIS QUÍMICA	
	DENOMINACION	ABREVIATURA	DENOMINACION	ABREVIATURA
<i>Salpichroa origanifolia</i>	salpicrólido A	SA	1- hidrogenado 2- hidrogenado reducido 3- reducido 4- oxidado 5- reordenado 6- reordenado acetilado	SAH SAHR SAR= SB* SAO SAREO SAREOA
	salpicrólido C	SC	1- acetilado	SCA
	salpicrólido G	SG		
	salpicrólido B	SB		
<i>Nicandra physaloides</i>	nicandrenona	N		
<i>Jaborosa odonelliana</i>	jaborosalactona P	JP		
	jaborosalactona 10	J10		-
<i>Physalis peruviana</i>	extracto crudo	PH		

* SB es un compuesto minoritario. Para la realización de los ensayos se sintetizó a partir de SA por reducción (SAR= SB)

5.3- BIOENSAYOS:

5.3.1- *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

5.3.1.1- METODOLOGÍAS DE EXPOSICION AL PRODUCTO

5.3.1.1.1- Exposición a alimento tratado

Se emplearon recipientes de vidrio de 100 ml de capacidad colocándose en cada uno 2 g de dieta artificial preparada con harina de trigo 0000, levadura de cerveza Virgen, CALSA, Argentina, y almidón de maíz, en una proporción 10:1,5:10, siendo cubiertos con tela de voile (Figura N° 5.7).

El producto disuelto en acetona era incorporado a la dieta en la concentración correspondiente, mientras que los controles sólo recibían el solvente. Una vez evaporado el solvente, a las 48 horas, se colocaban 10 larvas neonatas por recipiente, manteniendo el bioensayo en condiciones estandarizadas ($25 \pm 1^\circ \text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR y fotofase de 12 hs).

En todos los bioensayos se realizaron cuatro réplicas por tratamiento. Cada 7 días se registraba el número de individuos que se hallaban en cada estado de desarrollo, calculándose su porcentaje en relación al número total de individuos encontrados en cada tratamiento. El tamaño de las pupas y de los adultos fue determinado con ocular micrométrico en microscopio estereoscópico.

5.3.1.1.2- Aplicación tópica

Se empleó una microjeringa Hamilton de 10 µl, con la que mediante cada pulsación se obtiene un volumen de 0,2 µl. Se emplearon larvas de 5° estadio, aplicándose a cada una dicho volumen del producto disuelto en acetona, sobre los últimos urosternitos. Los controles sólo fueron tratados con acetona. Se colocaron grupos de cinco larvas tratadas en recipientes de vidrio de 100 ml de capacidad, cubiertos con tela de voile, conteniendo 2 g de dieta artificial (harina de trigo 0000, levadura de cerveza Virgen, CALSA, Argentina, y almidón de maíz). Las condiciones ambientales fueron mantenidas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ HR y fotofase de 12 hs. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento.

5.3.1.2- DOSIS Y CONCENTRACION EMPLEADAS

5.3.1.2.1- Exposición a alimento tratado

La concentración empleada fue para todos los compuestos ensayados de 500 ppm.

5.3.1.2.2- Aplicación tópica

La dosis que recibió cada insecto fue de 20 µg

5.3.1.3- EFECTOS OBSERVADOS

En ambas metodologías se registraron los siguientes parámetros:

- mortalidad (%)
- talla de pupas y adultos (en mm)
- presencia de alteraciones morfológicas

demoras en el desarrollo a través de determinaciones periódicas de talla de larvas, número de pupas y de adultos. En estos bioensayos, se tomó

la talla de los adultos como indicador de la actividad antialimentaria, ya que el uso de datos de peso podría haber sido afectado en forma errónea por deposición de polvo de la dieta en la superficie externa del insecto.

5.3.1.4- METODOLOGÍA ESTADISTICA

- Se realizaron análisis de variancia y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$) para los datos de mortalidad, talla de pupas y de adultos.
- Análisis de dosis- respuesta: El número de pupas y adultos cada 7 días, expresado como porcentaje en relación al número de sobrevivientes, fue empleado para calcular los parámetros TP 50% y TD 50% por método Probit. Se consideró diferencia significativa la no superposición de los intervalos de confianza entre los tiempos de TP 50% y TD50% de los tratamientos y de los controles.

5.3.2- *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

5.3.2.1- METODOLOGÍAS DE EXPOSICION AL PRODUCTO:

5.3.2.1.1- Exposición a alimento tratado

5.3.2.1.1.1- En dieta para larvas

La unidad muestral consistió en un recipiente de plástico de 60 ml de capacidad conteniendo 10 g de dieta artificial Terán (1977). Este recipiente a su vez, era colocado dentro de otro recipiente de plástico cilíndrico, de 10 cm de altura y 8,5 de diámetro, conteniendo arena esterilizada como sustrato para la pupariación (Figura N° 5.8).

Los productos a evaluar fueron disueltos en alcohol 96°, realizándose con estas soluciones la impregnación de la dieta artificial. La dieta correspondiente al control sólo fue impregnada con alcohol 96°. Luego de

dejar evaporar el solvente durante 48 hs, se incorporaban diez larvas neonatas en cada recipiente.

Las unidades experimentales eran colocadas en cámara de cría en condiciones controladas hasta la finalización del ensayo ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 5\%$ HR, oscuridad). Una vez que las larvas alcanzaban el estado de pupario en el medio correspondiente, éstos eran transferidos a nuevos recipientes, donde ocurría la emergencia de adultos (Figura N° 5.9). Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento.

5.3.2.1.1.2- En bebederos para adultos

Los productos fueron disueltos en agua mineral comercial agregándosele como tensioactivo Tween 20 a razón de una gota por ml. En los controles solamente se colocó agua con el tensioactivo. Las soluciones eran vertidas en bebederos de plástico de 20 ml de capacidad, los que contenían microesferas de vidrio de 5 mm (Budia et al., 1988) para evitar la inmersión y consecuente muerte de los individuos. Cada bebedero era colocado en un recipiente cilíndrico de plástico, de 10 cm de altura y 8,5 de diámetro, junto con pequeños platos conteniendo 10 g de dieta para adultos (levadura y azúcar en proporción 1:3) y una fruta artificial de plástico para la oviposición que se colgaba del borde del recipiente. Dentro de cada recipiente eran colocados 10 individuos adultos (Figuras N° 5.10 y 5.11). Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. Las soluciones eran renovadas al cabo de 48 horas, realizándose este procedimiento dos veces a lo largo del ensayo. Las unidades experimentales eran colocadas en cámara de cría en condiciones controladas hasta la finalización del ensayo ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 5\%$ HR, 16 horas de luz) (Figura N° 5.12).

5.3.2.1.2- Aplicación tópica

Se seleccionaron larvas de 2° estadio aplicándoseles 0,2 µl de una dilución en acetona de cada producto a evaluar, con una microjeringa Hamilton de 10 µl, en los últimos urosternitos. Los controles se trataron de igual manera con acetona (Robertson y Preisler, 1992). Las larvas eran colocadas en dieta artificial según Terán (1977) contenida en un recipiente de plástico de 60 ml de capacidad, ubicado en otro recipiente cilíndrico de 10 cm de altura y 8,5 cm de diámetro, manteniéndolos en cámara de cría a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 5\%$ de humedad relativa y total oscuridad, hasta la finalización del ensayo.

5.3.2.2- DOSIS Y CONCENTRACIONES EMPLEADAS

5.3.2.2.1- Exposición a alimento tratado

5.3.2.2.1.1- Bioensayos de dieta para larvas:

Tanto en la evaluación de la efectividad de los salpicrólidos naturales como en evaluación de sus derivados por síntesis la concentración empleada fue de 500 ppm.

El compuesto SB, fue también evaluado a menores concentraciones: 25, 50, 100 y 250 ppm, mientras que el extracto crudo de *P. peruviana* fue evaluado a 35.000, 10.000 y 1.000 ppm (Figuras 5.13 y 5.14).

5.3.2.2.1.2 - Bioensayos con bebederos para adultos:

Todos los salpicrólidos fueron evaluados a una concentración de 500 ppm, mientras que el extracto crudo de *P. peruviana* fue evaluado a 35.000, 10.000 y 1.000 ppm.

5.3.2.2.1.2- Aplicación tópica

La dosis que recibió cada insecto fue de 20 µg

5.3.2.3- EFECTOS OBSERVADOS

En todos los bioensayos se evaluó mortalidad y talla de puparios, estableciéndose demora en el desarrollo a través de determinaciones periódicas del número de puparios y de adultos. Se realizaron observaciones de presencia o ausencia de alteraciones morfológicas.

5.3.2.4- METODOLOGÍA ESTADISTICA

Por medio del análisis Probit (Finney, 1971) se calculó el tiempo de pupariación del 50% de la población en estudio (TP 50%) y el tiempo de desarrollo (TD 50%). En el primer caso se empleó el número de puparios expresado como porcentaje de ellos en relación al número de larvas por tratamiento, mientras que para el cálculo del TD 50% se utilizaron los datos del número de adultos en relación al número de puparios obtenidos en cada tratamiento.

La mortalidad total fue calculada como el número de adultos emergidos con respecto a la cantidad de larvas colocadas al inicio del bioensayo.

Los datos de mortalidad y longitud de puparios fueron analizados estadísticamente por medio de análisis de variancia y test de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3.3- *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)

5.3.3.1- METODOLOGÍAS DE EXPOSICION AL PRODUCTO

5.3.3.1.1- Exposición a alimento tratado

5.3.3.1.1.1- En dieta para larvas

Los compuestos fueron diluidos en alcohol 96°, impregnándose la dieta (Greene et al., 1976) con dichas soluciones, colocando 15 g en cada unidad experimental constituida por una caja de Petri. La dieta control sólo fue impregnada con alcohol 96°. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento, incorporando en cada una tres larvas de segundo estadio. Las condiciones ambientales mantenidas a lo largo del bioensayo fueron de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ y fotofase de 12 horas (Figuras N° 5.15 y 5.16).

5.3.3.1.1.2- Sobre discos foliares de soja

Discos de soja de 2 cm² eran cortados con sacabocados, los que se sumergían durante 10 segundos en la solución alcohólica de los withanólidos, mientras que los controles se sumergieron en alcohol 96°. La arena experimental consistió en una caja de Petri donde se colocaron 6 discos foliares dispuestos en círculo siguiendo el contorno de la caja (Kubo, 1991) (Figura N° 5.17). Una vez evaporado el alcohol se ubicaron tres larvas de quinto estadio en el centro de la arena experimental. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento.

5.3.3.2- CONCENTRACION EMPLEADA:

Todos los compuestos fueron incorporados a 500 ppm.

5.3.3.3- EFECTOS OBSERVADOS

5.3.3.3.1- Bioensayo en dieta artificial para larvas:

Diariamente se registraba el estado de desarrollo de los individuos así como su supervivencia. Se midió la longitud larval y al alcanzar el estado pupal, la longitud de las pupas determinándose posteriormente su viabilidad.

5.3.3.3.2- Sobre discos foliares de soja:

A lo largo de todo el bioensayo se registró el estado de desarrollo de los individuos y su supervivencia. Al alcanzar el estado pupal, se midió la longitud de las crisálidas.

A las 24 hs, se midió la ingesta foliar mediante el calco de superficie remanente sobre papel milimetrado.

5.3.3.4-METODOLOGÍA ESTADÍSTICA:

5.3.3.4.1- En dieta para larvas:

Se calculó el TP50 % y TD 50% por el método Probit, mientras que los datos de mortalidad y longitud de pupas fueron analizados por medio de ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tuckey ($p \leq 0,05$).

5.3.3.4.2- Sobre discos foliares de soja:

Las diferencias de ingesta entre tratamientos a las 24 hs así como los datos de mortalidad y longitud de pupas obtenidos fueron analizados por medio de ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tuckey ($p \leq 0,05$).

Se calculó el índice antialimentario mediante la fórmula $(1 - T/C) \times 100$ (Vaccarini y Bonetto, 1999) siendo T y C las áreas consumidas en discos tratados y control respectivamente.

5.3.4- *Diabrotica speciosa* G. (Coleoptera: Chrysomelidae)

5.3.4.1- METODOLOGÍAS DE EXPOSICION AL PRODUCTO:

5.3.4.1.1- En discos foliares de soja:

Los salpicrólidos se prepararon en soluciones alcohólicas al 96°. Con un sacabocados se obtuvieron discos de 2 cm², los que eran sumergidos durante 10 segundos en las soluciones alcohólicas en los tratados, y en alcohol solo en los controles. En cajas de Petri de 8 cm de diámetro conteniendo un disco de papel de filtro humedecido se dispusieron 6 discos siguiendo el contorno de la caja (Kubo, 1991). Una vez evaporado el alcohol se ubicaron tres adultos de *D. speciosa* en el centro de cada caja, brindándoles discos impregnados durante tres días consecutivos. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento (Figura N° 5.18).

Las condiciones ambientales fueron de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 5\%$ HR y fotofase de 14 hs de luz (Figura N° 5.19).

5.3.4.2- CONCENTRACION EMPLEADA:

Todos los compuestos fueron incorporados a 500 ppm.

5.3.4.3- EFECTOS OBSERVADOS:

Se observó mortalidad y superficie foliar consumida a las 24 hs, determinadas mediante el calco de la superficie foliar remanente sobre papel milimetrado.

5.3.4.4- METODOLOGÍA ESTADÍSTICA:

Los datos de mortalidad y superficie foliar consumida fueron analizados estadísticamente por método ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3.5- *Lema bilineata* G. (Coleoptera: Chrysomelidae)

Se evaluó la preferencia alimentaria que este insecto posee por *Physalis peruviana*, *Solanum gilo* y *Salpichroa origanifolia* tanto de modo directo, a través de la ingesta, como indirectamente, evaluando la permanencia sobre el alimento, parámetro que en los insectos fitófagos está directamente relacionado con el consumo del alimento. Las condiciones de cría fueron de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ y fotoperíodo de 14 hs de luz.

5.3.5.1- INGESTA:

Se cortaron discos de 2 cm² de hojas de *P. peruviana*, *S. gilo* y *S. origanifolia* (Kubo, 1991). La arena experimental estuvo representada por una caja de Petri de 8 cm de diámetro cuyo fondo se cubrió con una capa delgada de algodón y un disco de papel de filtro Whatman N°2, ubicándose seis discos de hoja siguiendo el perímetro de la caja. En el centro de la arena se dispuso una larva de tercer estadio por caja (Figura N° 5.20).

Diariamente se renovaba el alimento y se humedecía el fondo para mantener la turgencia del material vegetal, además de proveer humedad al insecto.

Se realizaron diez repeticiones por tratamiento midiendo la ingesta a las 24, 48 y 72 hs. Esta metodología básica se utilizó ofreciendo el alimento de

dos modos distintos: elección simple y múltiple (Figura N° 5.21). En el primer caso, en cada tratamiento se ofrecieron discos de *P. peruviana*, *S. gilo* o *S. origanifolia*. En elección múltiple, en cambio, en puntos opuestos de la arena experimental se ubicaron dos discos de cada especie en estudio, totalizándose seis discos por repetición. Ambos bioensayos se efectuaron en condiciones ambientales estandarizadas 25 ± 2 °C, 60 ± 5 % y fotoperíodo de 14 hs de luz.

5.3.5.2- PERMANENCIA SOBRE EL ALIMENTO:

Al igual que con los bioensayos de ingesta se trabajó con 10 repeticiones, y la preparación de la arena experimental se realizó siguiendo la metodología previamente explicada para el ensayo de elección múltiple.

Se registró la ubicación de los individuos en 6 momentos correspondientes a dos segmentos horarios: A (25, 26 y 27 hs) y B (73,74 y 75 hs) contados desde el inicio del experimento.

La distribución relativa de los insectos se calculó mediante las fórmulas:

$$\frac{\text{N° de individuos observados sobre } \underline{\textit{S. origanifolia}}}{\text{N° total de individuos observados}} \times 100 =$$

$$\frac{\text{N° de individuos observados sobre } \underline{\textit{P. peruviana}}}{\text{N° total de individuos observados}} \times 100 =$$

$$\frac{\text{N° de individuos observados sobre } \underline{\textit{S. gilo}}}{\text{N° total de individuos observados}} \times 100 =$$

5.3.5.3- EFECTOS OBSERVADOS

Se determinó mortalidad de los individuos a lo largo de los bioensayos y área foliar consumida, calcando los discos foliares ofrecidos el día anterior sobre papel milimetrado, contabilizándose la superficie ingerida.

5.3.5.4- METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Los datos de consumo foliar fueron analizados estadísticamente por método ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$).

En las Tablas N° 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 y 5.6 se resumen las metodologías empleadas para la evaluación de los productos por especie insectil, concentraciones y estado de desarrollo del insecto.

Tabla N° 5.2: Bioensayos realizados con *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae).

PRODUCTOS EVALUADOS	DENOMINACIÓN ABREVIADA DEL PRODUCTO	ESTADO DE DESARROLLO DEL INSECTO	METODO DE EXPOSICIÓN AL PRODUCTO	DOSIS Y CONCENTRACIONES
salpicrólido natural A	SA	larvas 5° estadio	aplicación tópica	20 µg/insecto
salpicrólidos modificado por síntesis derivados del salpicrólido A hidrogenado hidrogenado reducido reducido oxidado reordenado reordenado acetilado	SAH SAHR SB SAO SAREO SAREOA	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
salpicrólido natural C	SC	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
salpicrólido modificado por síntesis derivado del SC SC acetilado	SCA	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
salpicrólido natural G	SG	larvas 5° estadio	aplicación tópica	20 µg/ insecto
nicandrenona	N	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
jaborosolactona P	JP	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
		larvas 5° estadio	aplicación tópica	20 µg/insecto
jaborosolactona 10	J10	larvas neonatas	en alimento	500 ppm
		larvas 5° estadio	aplicación tópica	20 µg/ insecto

Tabla N° 5.3: Bioensayos realizados con *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).

PRODUCTOS EVALUADOS	DENOMINACIÓN ABREVIADA DEL PRODUCTO	ESTADO DE DESARROLLO DEL INSECTO	METODO DE EXPOSICIÓN AL PRODUCTO	DOSIS Y CONCENTRACIONES
salpicrólido natural A	SA	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
		larvas 5° estadio	aplicación tópica	20 µg/insecto
		adultos	en bebederos	500 ppm
salpicrólido natural C	SC	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
salpicrólido natural G	SG	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
salpicrólicos modificados por síntesis derivados de los salpicrólicos A y C hidrogenado oxidado reordenado reordenado acetilado	SAH SAHR SAO SAREO SAREOA	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
salpicrólido modificado por síntesis derivado del SC SC acetilado	SCA	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
salpicrólido A reducido	SAR (=SB)	larvas neonatas	en dieta artificial	500 ppm
		larvas neonatas	en dieta artificial	25, 50, 100, 250, 500 ppm
		larvas 2° estadio	aplicación tópica	20 µg/insecto
jaborosolactona P	JP	larvas 2° estadio	aplicación tópica	20 µg/insecto
extractos crudos <i>Physalis peruviana</i>	PH	larvas neonatas	en dieta artificial	1.000, 10.000 y 35.000 ppm
		adultos	en bebederos	1.000, 10.000 y 35.000 ppm

Tabla N° 5.4: Bioensayos realizados con *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)

PRODUCTOS EVALUADOS	DENOMINACIÓN ABREVIADA DEL PRODUCTO	ESTADO DE DESARROLLO DEL INSECTO	METODO DE EXPOSICIÓN AL PRODUCTO	DOSIS Y CONCENTRACIONES
salpicrólido natural A	SA	larvas 5° estadio	impregnación de discos foliares	500 ppm
		larvas de 3 er. estadio	impregnación de dieta artificial	500 ppm
salpicrólido natural C	SC	larvas 5° estadio	impregnación de discos foliares	500 ppm
		larvas de 3 er. estadio	impregnación de dieta artificial	500 ppm
salpicrólido natural G	SG	larvas 5° estadio	impregnación de discos foliares	500 ppm
		larvas de 3 er. estadio	impregnación de dieta artificial	500 ppm
jaborosolactona P	JP	larvas 5° estadio	impregnación de discos foliares	500 ppm
jaborosolactona 10	J10	larvas 5° estadio	impregnación de discos foliares	500 ppm

Tabla N° 5.5: Bioensayos realizados con *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)

PRODUCTOS EVALUADOS	DENOMINACIÓN ABREVIADA DEL PRODUCTO	ESTADO DE DESARROLLO DEL INSECTO	METODO DE EXPOSICIÓN AL PRODUCTO	DOSIS Y CONCENTRACIONES
salpicrólido natural A	SA	adultos	impregnación de discos foliares	500 ppm
salpicrólido C	SC	adultos	impregnación de discos foliares	500 ppm
salpicrólido G	SG	adultos	impregnación de discos foliares	500 ppm
salpicrólido A reducido	SB	adultos	impregnación de discos foliares	500 ppm

Tabla N° 5.6: Bioensayo realizados con *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)

ESPECIE VEGETAL	ESTADO DE DESARROLLO DEL INSECTO	METODO DE EXPOSICIÓN AL PRODUCTO
<i>Physalis peruviana</i>	larvas 3er estadio	discos foliares
<i>Salpichroa organifolia</i>	larvas 3er estadio	discos foliares
<i>Solanum gilo</i>	larvas 3er estadio	discos foliares



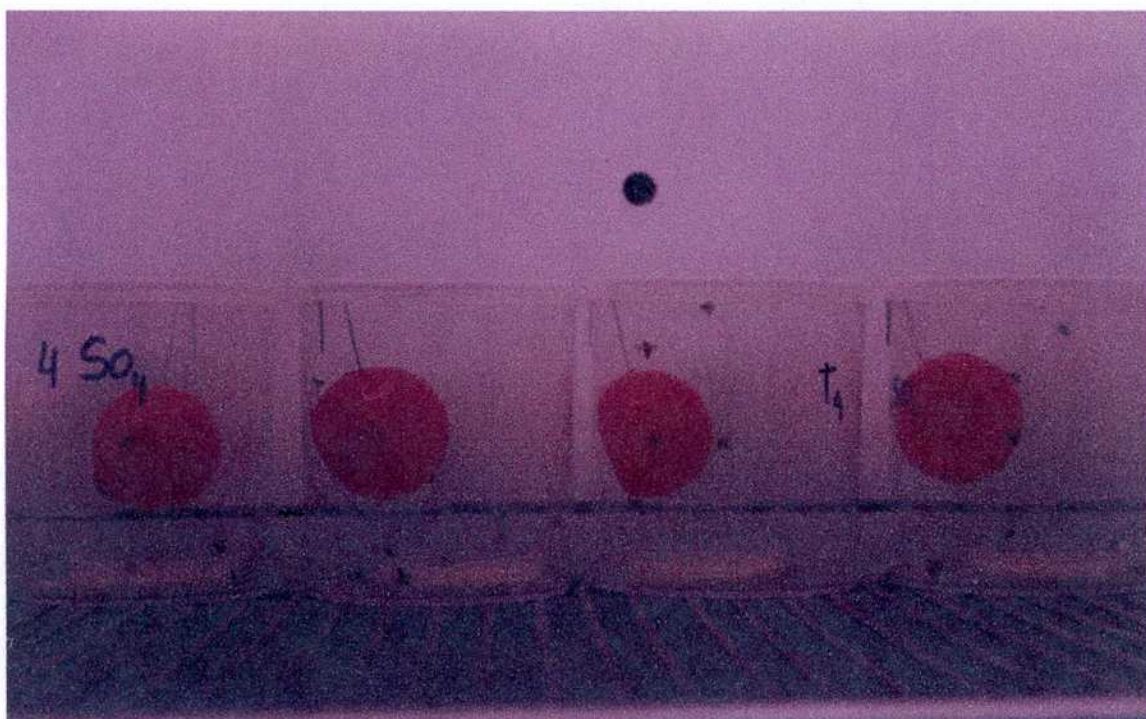
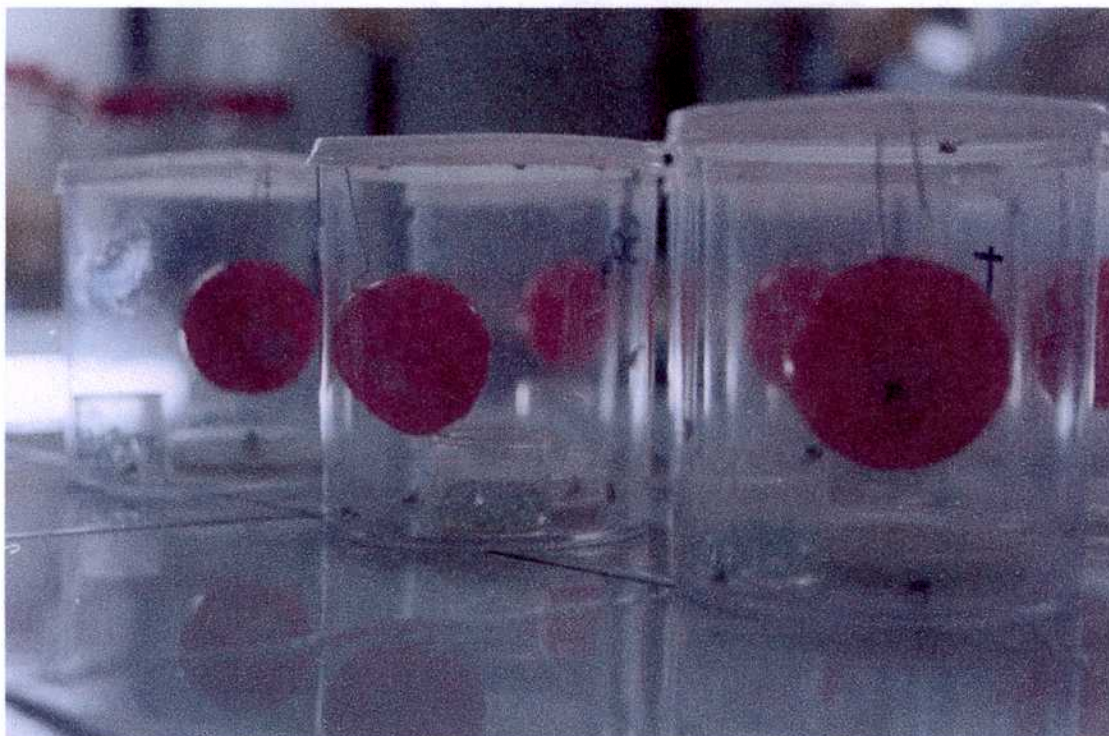
Figura N° 5.7: Bioensayo con withanólidos análogos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA) incorporados en alimento de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae).



Figura N° 5.8: Bioensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA) incorporados en dieta artificial Terán (1977) sobre *Ceratitits capitata* (Diptera: Tephritidae).



Figura N° 5.9: Frascos de vidrio con puparios de *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) en bioensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA) incorporados en dieta artificial Terán (1977).



Figuras N° 5.10 y 5.11: Bioensayo con salpicrólidos A (SA), C (SC), G (SG) y B (SB) incorporados en bebederos de adultos de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae).

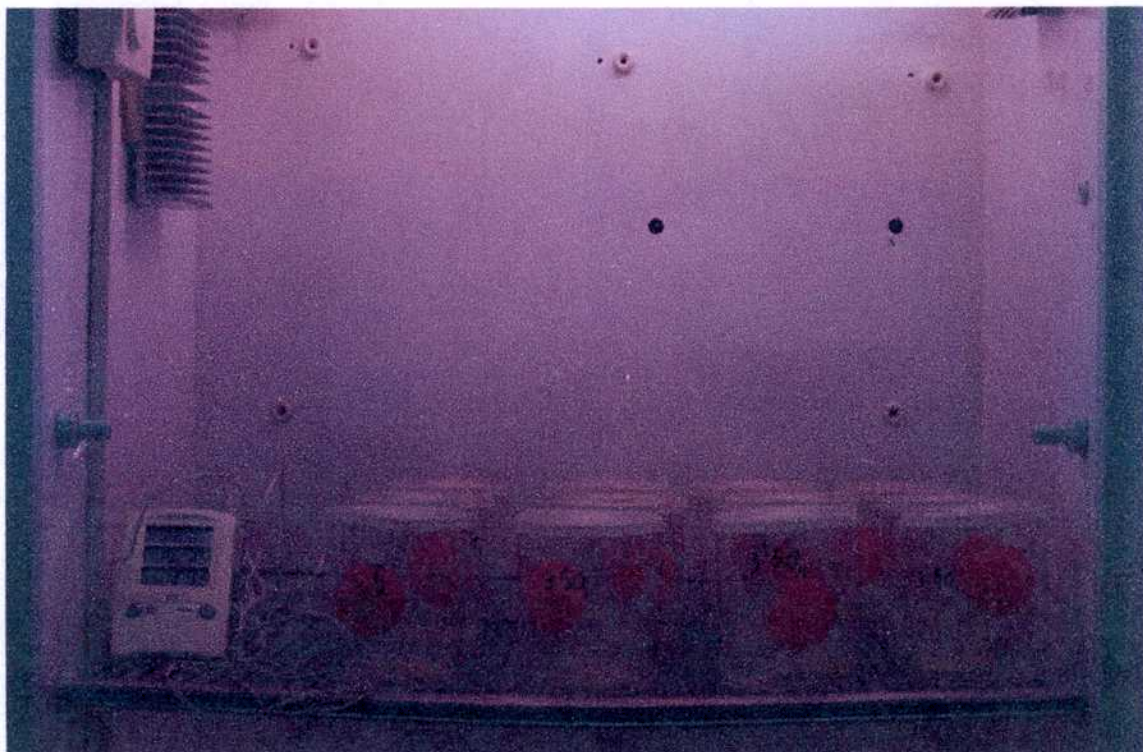


Figura N° 5.12: Bioensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC), G (SG) y B (SB) incorporados en bebederos de adultos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).



Figuras N° 5.13 y 5.14: Bioensayo con extractos crudos de *Physalis peruviana* (Solanaceae) incorporados en dieta de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) a 35.000, 10.000 y 1.000 ppm (superior), puparios correspondientes al control (inferior).



Figuras N° 5.15 y 5.16: Bioensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) impregnados en dieta artificial de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae).

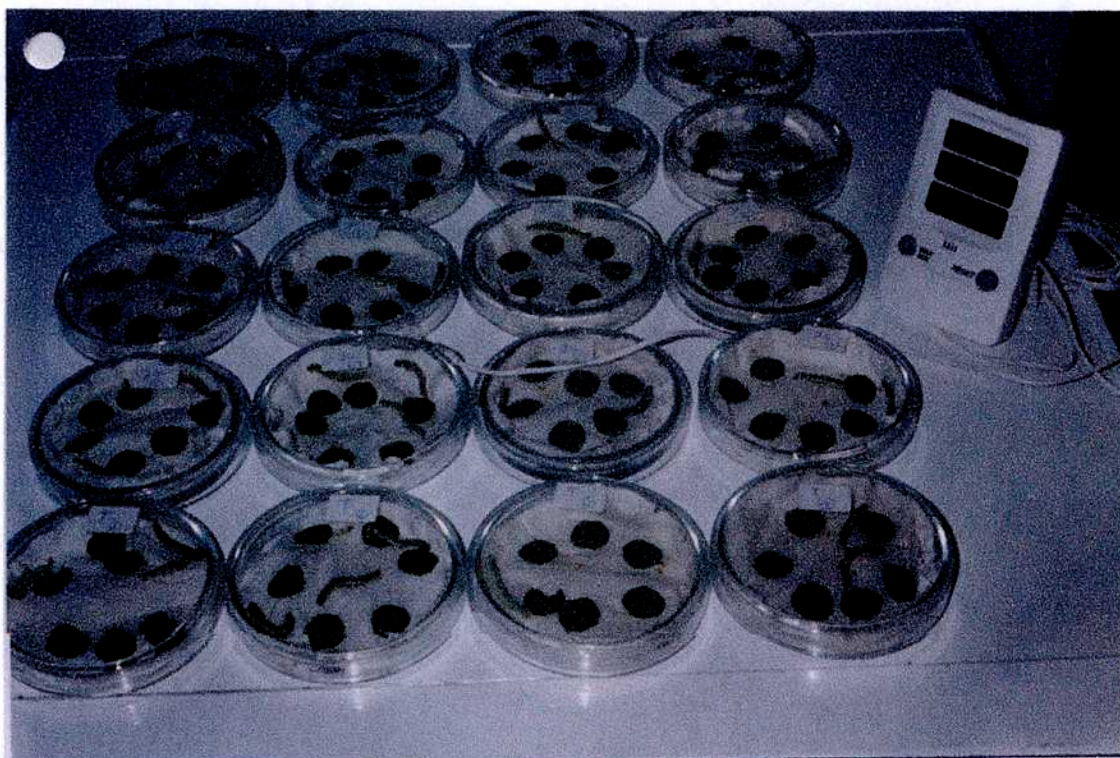
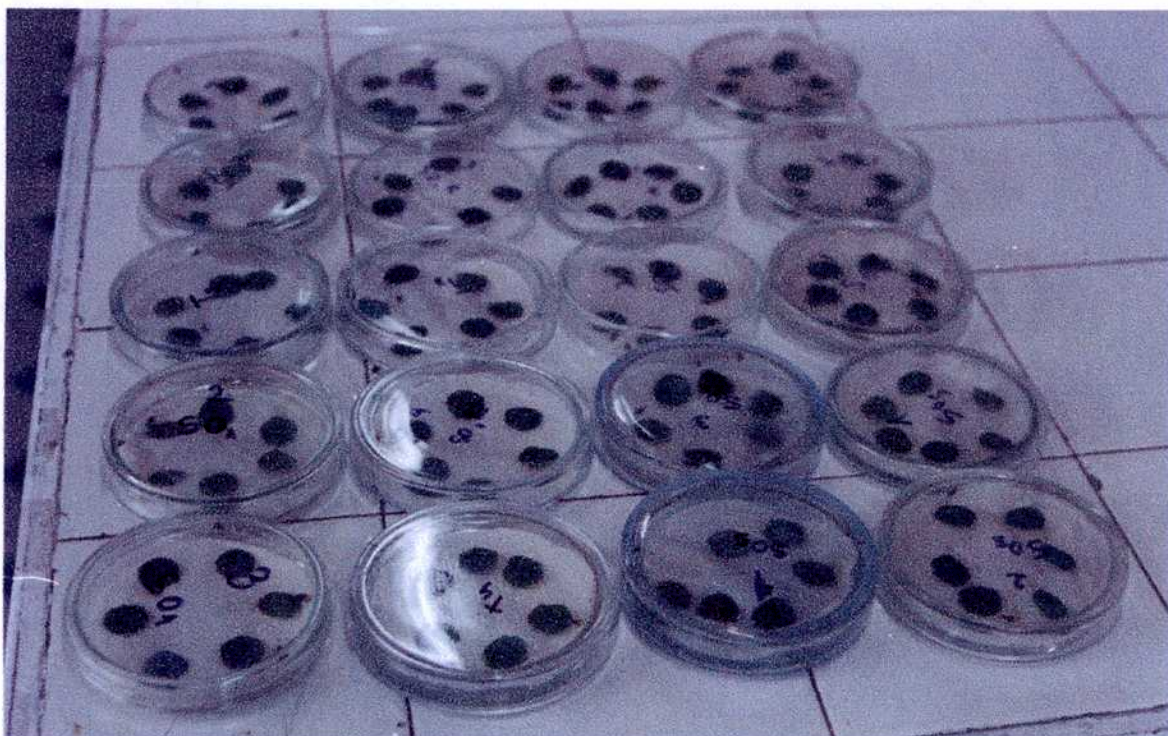
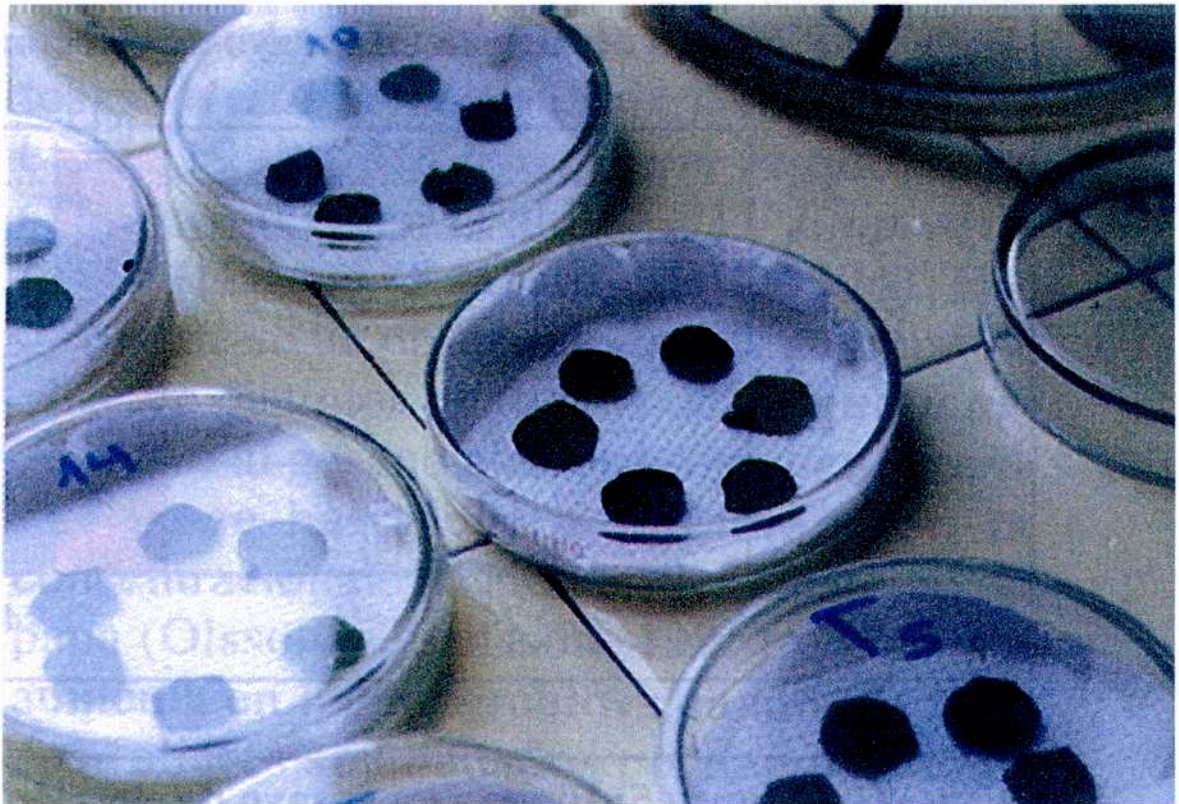


Figura N° 5.17: Bioensayo con larvas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas con discos foliares de soja impregnados con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG).



Figuras N° 5.18 y 5.19: Bioensayo con adultos *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) alimentados con discos foliares de soja impregnados con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG).



Figuras N° 5.20 y 5.21: Bioensayos de preferencia alimentaria con *Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)

6- RESULTADOS

6.1- *Tribolium castaneum*

Bioensayo N° 1: Efectos biológicos de los salpicrólidos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA): hidrogenado (SAH), hidrogenado reducido (SAHR), reducido (SB), reordenado (SAREO), reordenado acetilado (SAREOA) y oxidado (SAO), sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* expuestas a dieta tratada.

Los salpicrólidos fueron incorporados en solución acetónica a 500 ppm en la dieta, agregándose al cabo de 48 horas las larvas neonatas. Se realizaron observaciones cada 7 días con el fin de registrar los estados de desarrollo en que se hallaban los individuos y la mortalidad. Estos datos fueron empleados para determinar tanto el tiempo de pupación 50% (TP 50%) como el tiempo de desarrollo 50 % (TD 50%) mediante el método Probit.

Los resultados se hallan en las Figuras N° 6.1 y 6.2 donde se observa que sólo los compuestos derivados por síntesis: salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA), salpicrólido A oxidado (SAO) y el salpicrólido natural A (SA) produjeron demoras en el desarrollo hasta el estado pupal, ya que difirieron significativamente del control. Los porcentajes de demora en el desarrollo calculados a partir de los TP 50% obtenidos figuran en la Tabla N° 6.1.

Sin embargo, los valores de TD 50% obtenidos en dichos tratamientos no presentaron diferencias significativas con el control (Figura N° 6.2), lo que indicaría que a la concentración y metodología experimentada, las transformaciones que ocurren durante el proceso de pupación, tales como histólisis, histogénesis y bionecrosis, disminuyen el efecto del compuesto a lo largo del desarrollo del insecto.

No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en el porcentaje de mortalidad de adultos que indiquen efecto letal de estos salpicrólidos, ni tampoco en el tamaño de los adultos (Figuras N° 6.3 y 6.4).

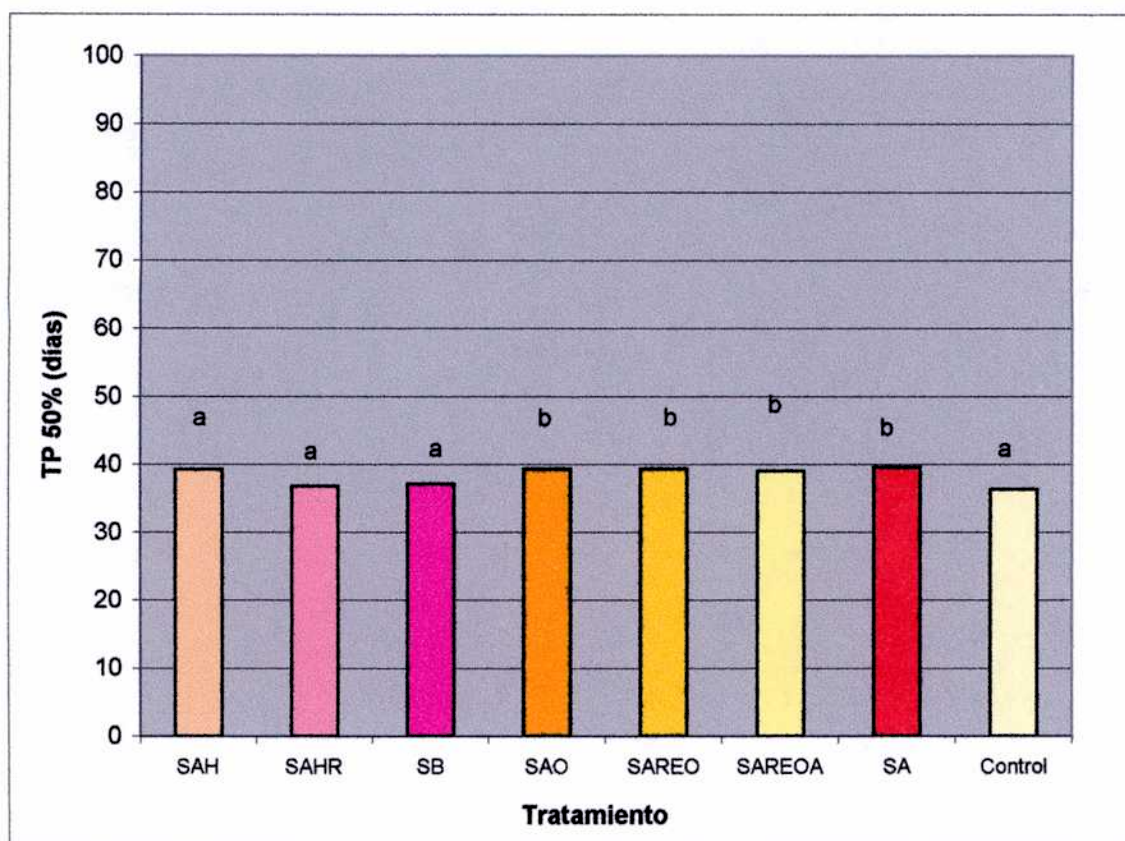


Figura N° 6.1: Tiempo de pupación 50% (días) de larvas de *T. castaneum* expuestas a los salpicrólidos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA): salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO) y salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA) y al salpicrólido A (SA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

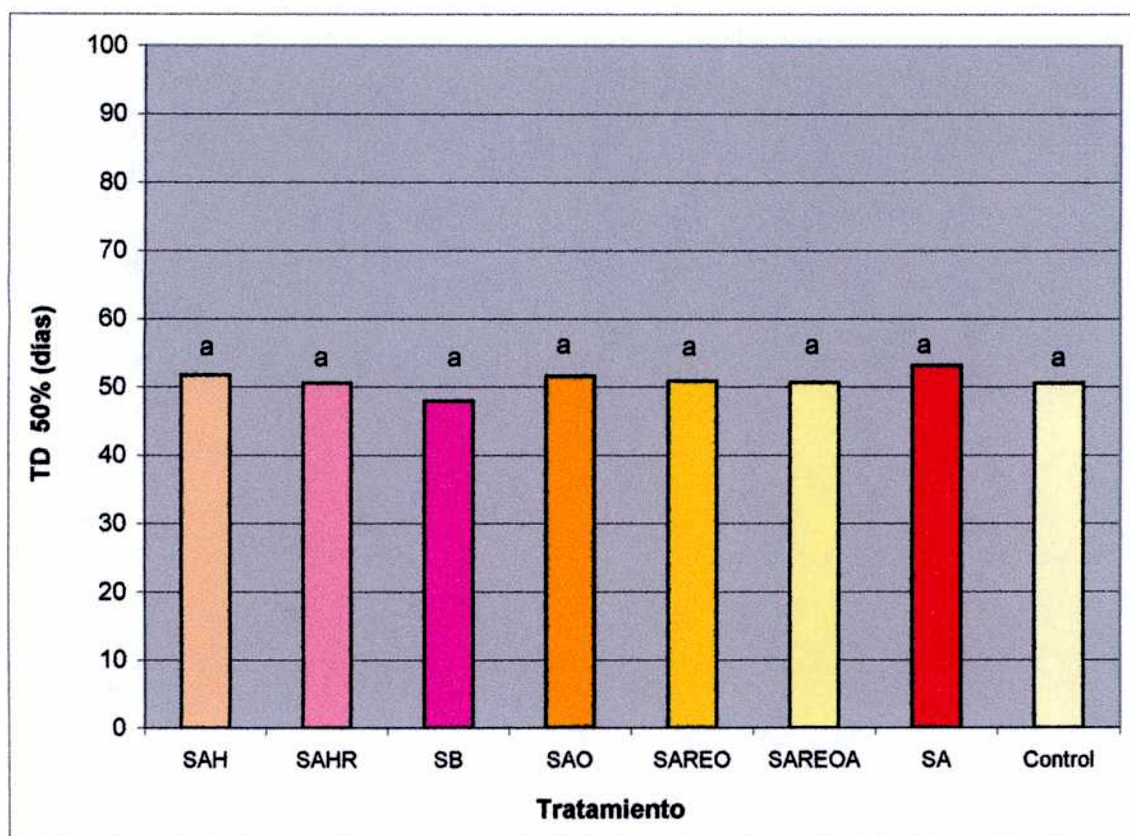


Figura N° 6.2: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de *T. castaneum* expuestas a los salpicrólidos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA): salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO) y salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA) y al salpicrólido A (SA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

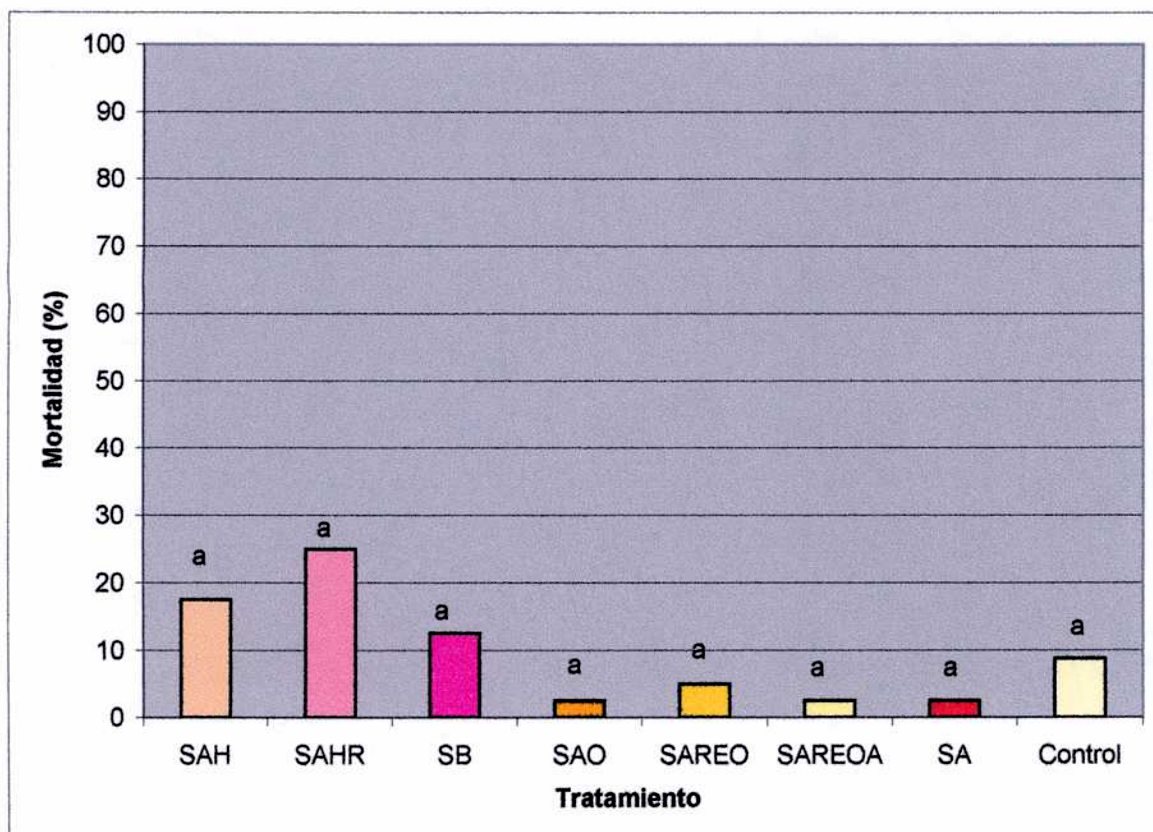


Figura N° 6.3: Mortalidad (%) de adultos de *T. castaneum* provenientes de larvas neonatas expuestas a los salpicrínidos derivados por síntesis del salpicrínido natural A (SA): salpicrínido A hidrogenado (SAH), salpicrínido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrínido A reducido (SB), salpicrínido A oxidado (SAO), salpicrínido A reordenado (SAREO) y salpicrínido A reordenado acetilado (SAREOA) y al salpicrínido A (SA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

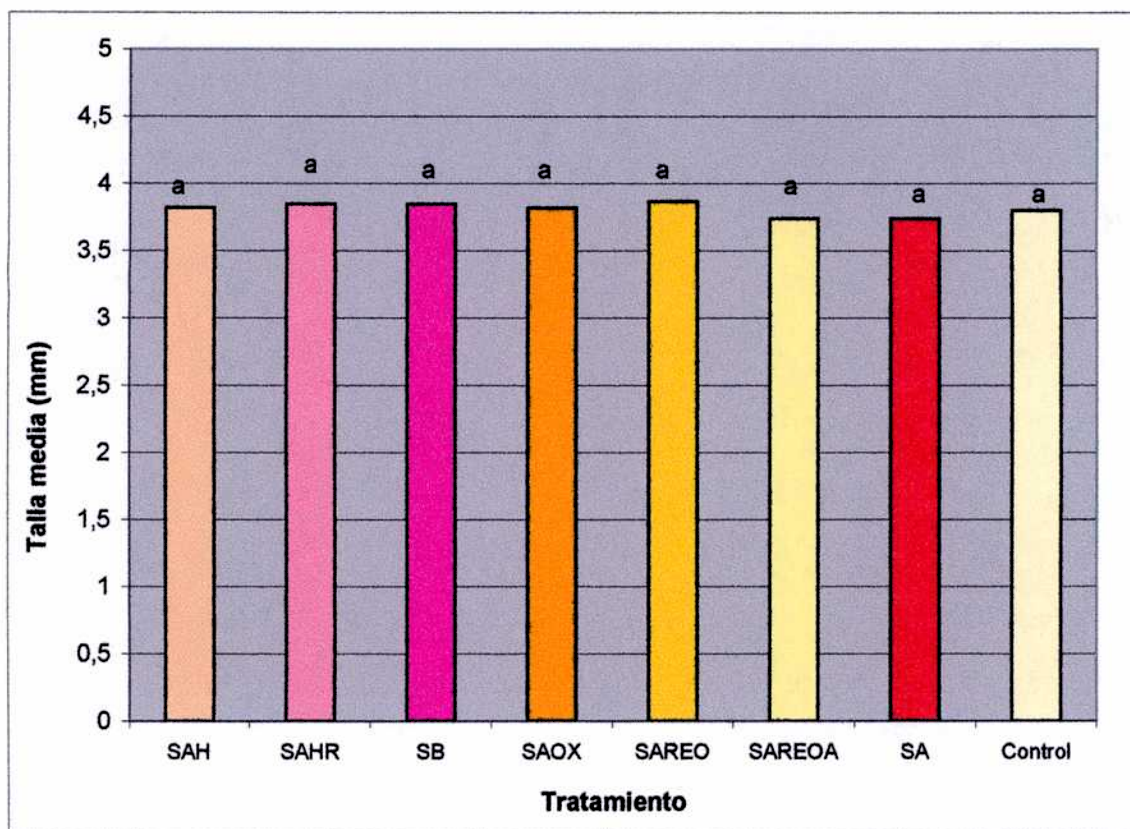


Figura N° 6.4: Talla promedio (mm) de adultos de *T. castaneum* registrada en tratamientos expuestos a los salpicrólidos derivados del salpicrólido A (SA): hidrogenado (SAH), hidrogenado reducido (SAHR), reducido (SB), oxidado (SAOX), reordenado (SAREO) y reordenado acetilado (SAREOA) y al salpicrólido A (SA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 2: Efectos biológicos del salpicrólido natural C (SC) y su derivado por síntesis acetilado (SCA) sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* expuestas a dieta tratada.

Siguiendo la misma metodología que en el Bioensayo N°1, se obtuvieron tanto el TP 50% como el TD 50% (Figuras 6.5 y 6.6 respectivamente) por el Método Probit, observándose que el compuesto derivado por síntesis del salpicrólido C (SC) no produjo demoras significativas en el desarrollo de los insectos.

No se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad ni en el tamaño de los adultos entre tratamientos (Figuras 6.7 y 6.8).

Estos resultados indicarían que el salpicrólido C acetilado (SCA), bajo la metodología y concentración empleadas no produce efectos biológicos letales ni subletales sobre el desarrollo de *T. castaneum*.

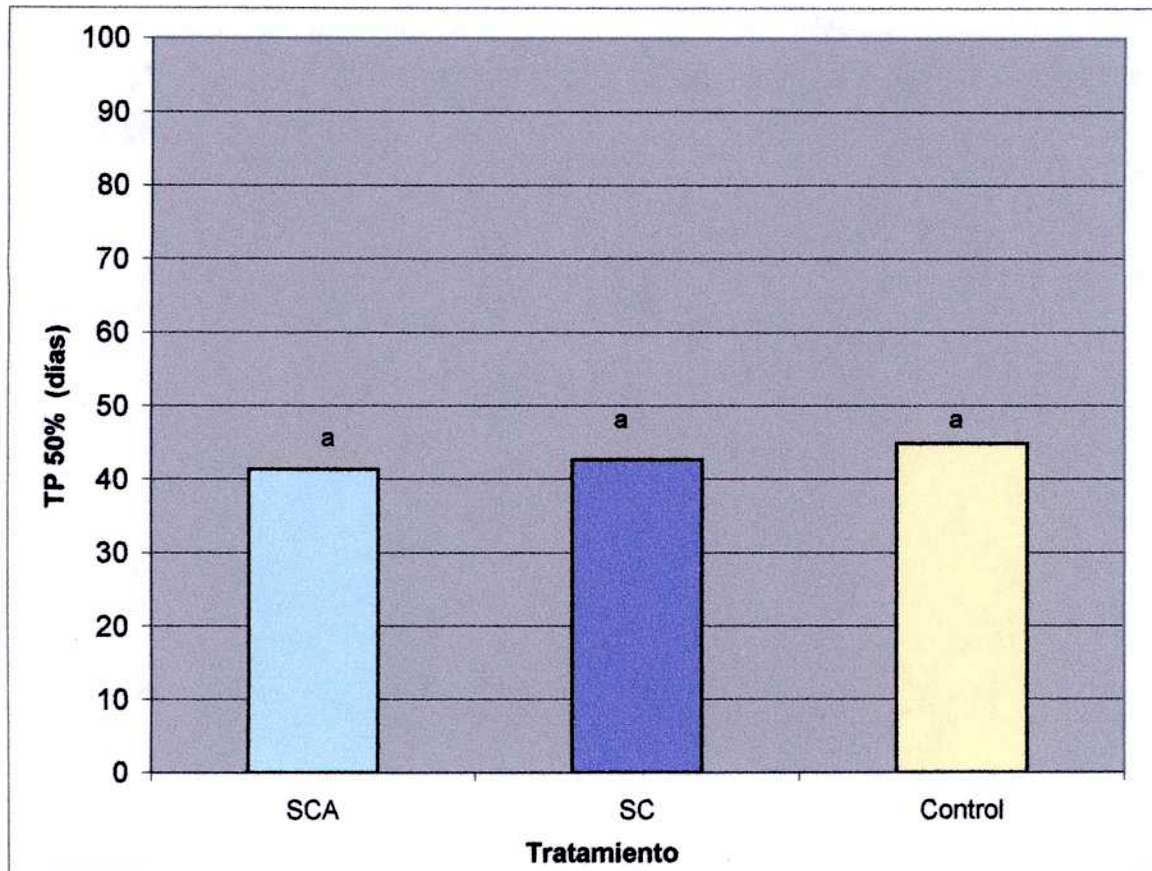


Figura N° 6.5: Tiempo de pupación 50% (días) de larvas de *T. castaneum* expuestas al salpicrólido C (SC) y su derivado por síntesis acetilado (SCA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

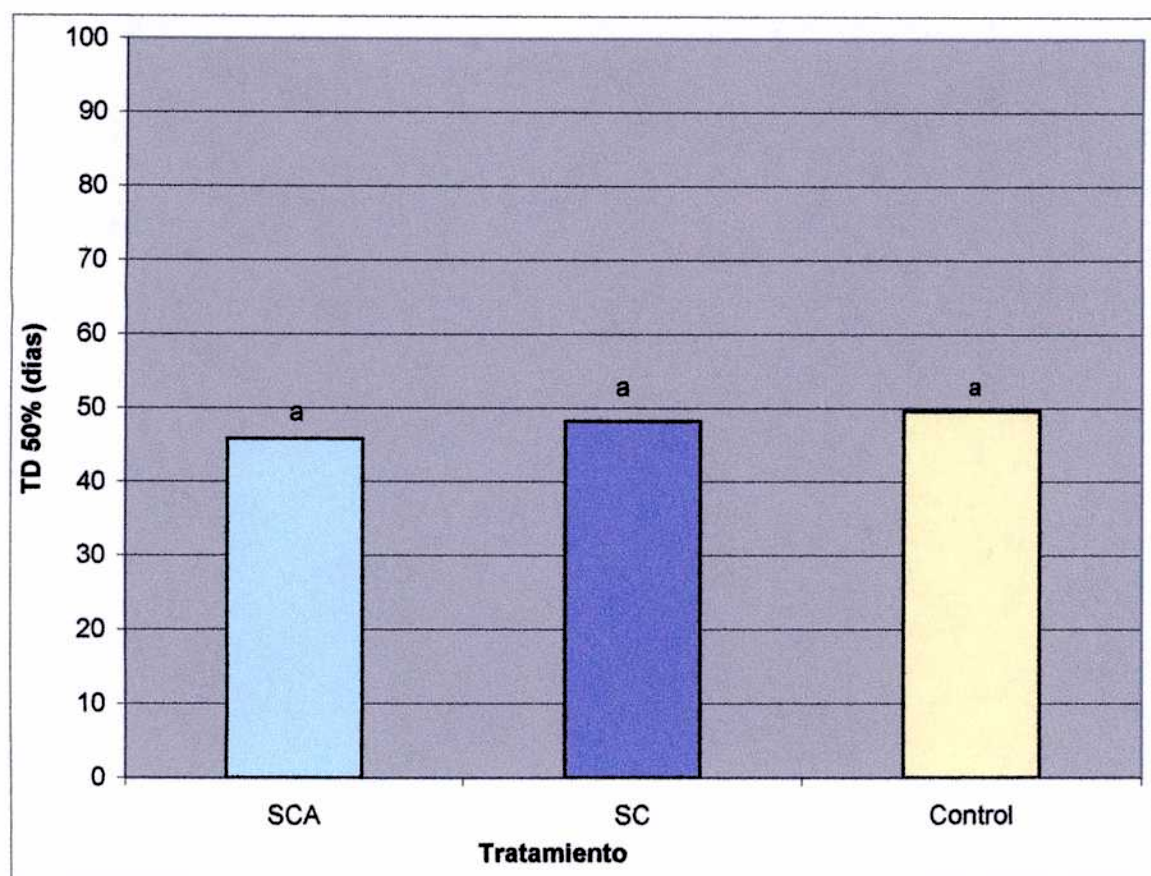


Figura N° 6.6: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de *T. castaneum* expuestas al salpicrólido natural C (SC) y su derivado por síntesis acetilado (SCA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

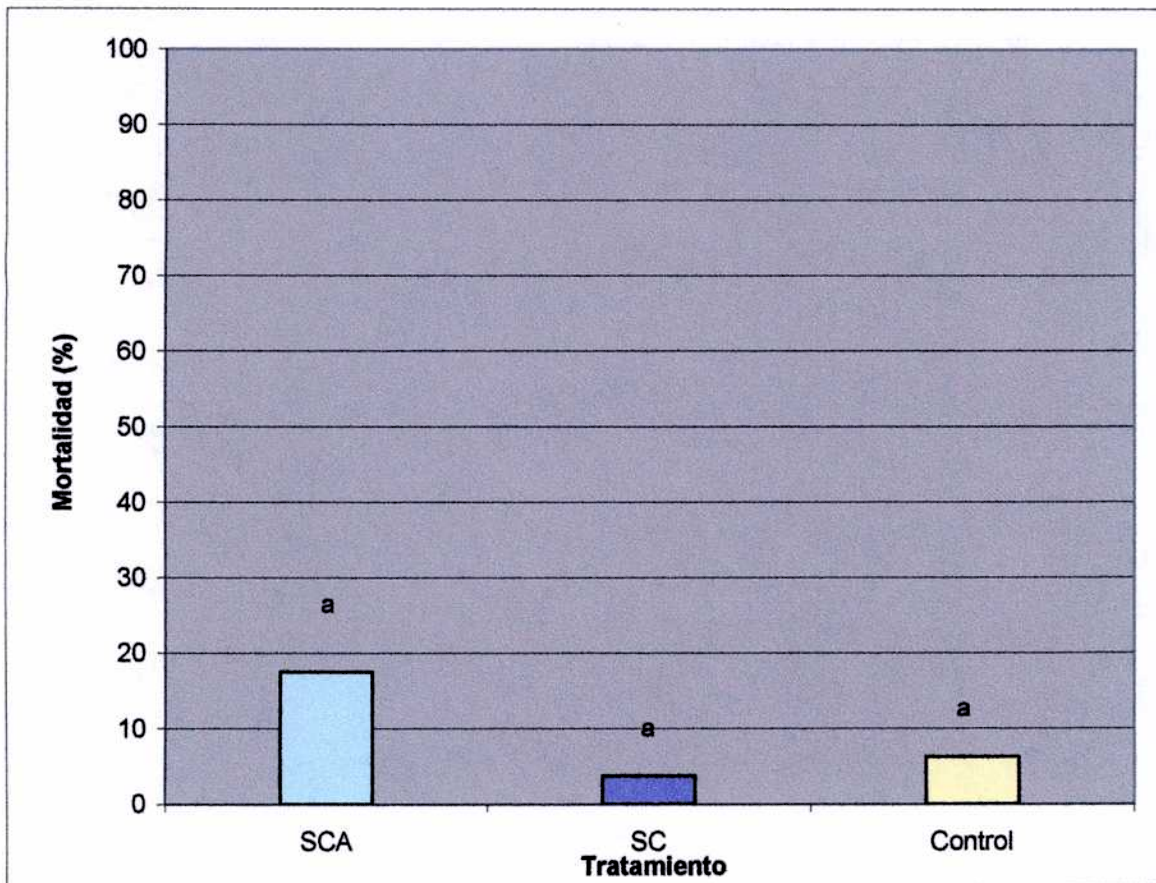


Figura N° 6.7: Mortalidad (%) de larvas de *T. castaneum* expuestas al salpicrólido natural C (SC) y su derivado por síntesis SCA. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

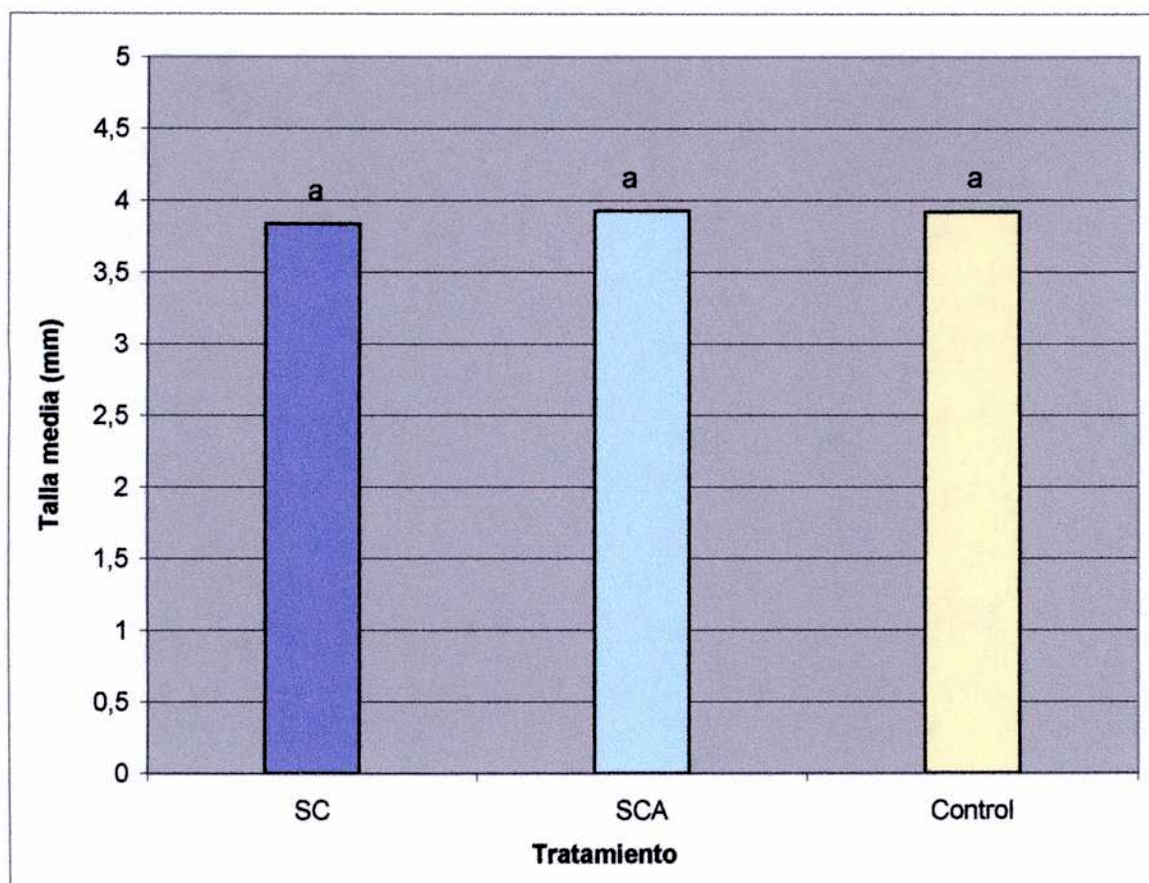


Figura N° 6.8: Talla promedio (mm) de adultos de *T. castaneum* provenientes de larvas neonatas expuestas al salpicrólido natural C (SC) y su derivado por síntesis SCA. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 3: Efectos biológicos de los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* por técnica de aplicación tópica.

Cohortes de cinco larvas de 5° estadio fueron tratadas con 20 µg de producto diluido en acetona por insecto. Cada dos días eran observadas, registrándose el estado de desarrollo de los individuos y la mortalidad (%).

Los valores de TP 50% y TD 50% obtenidos a través de Método Probit indican que sólo el salpicrólido A (SA) produjo diferencias significativas en el desarrollo de las larvas (Figuras N° 6.9 y 6.10) pero no se halló diferencia significativa en el porcentaje de mortalidad con respecto al control (Figura N° 6.11). Sobre la base de los parámetros TP 50 % y TD 50% obtenidos se calcularon los porcentajes de demora en el desarrollo calculados (Tabla N° 6.1).

Estos resultados indican que el salpicrólido natural A (SA) bajo esta metodología produce efectos subletales en el desarrollo de larvas de 5° estadio de *T. castaneum*.

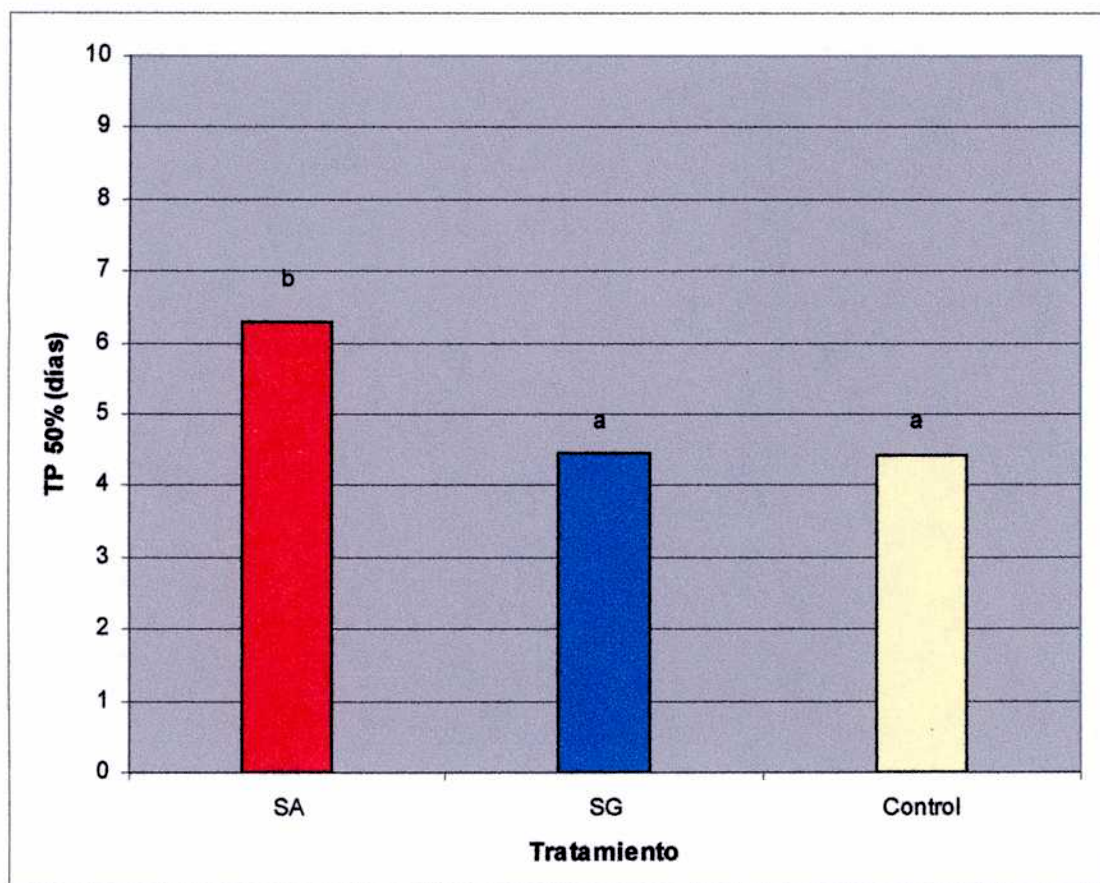


Figura N° 6.9: Tiempo de pupación 50% (días) de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* tratadas con solución acetónica de los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) por medio de técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

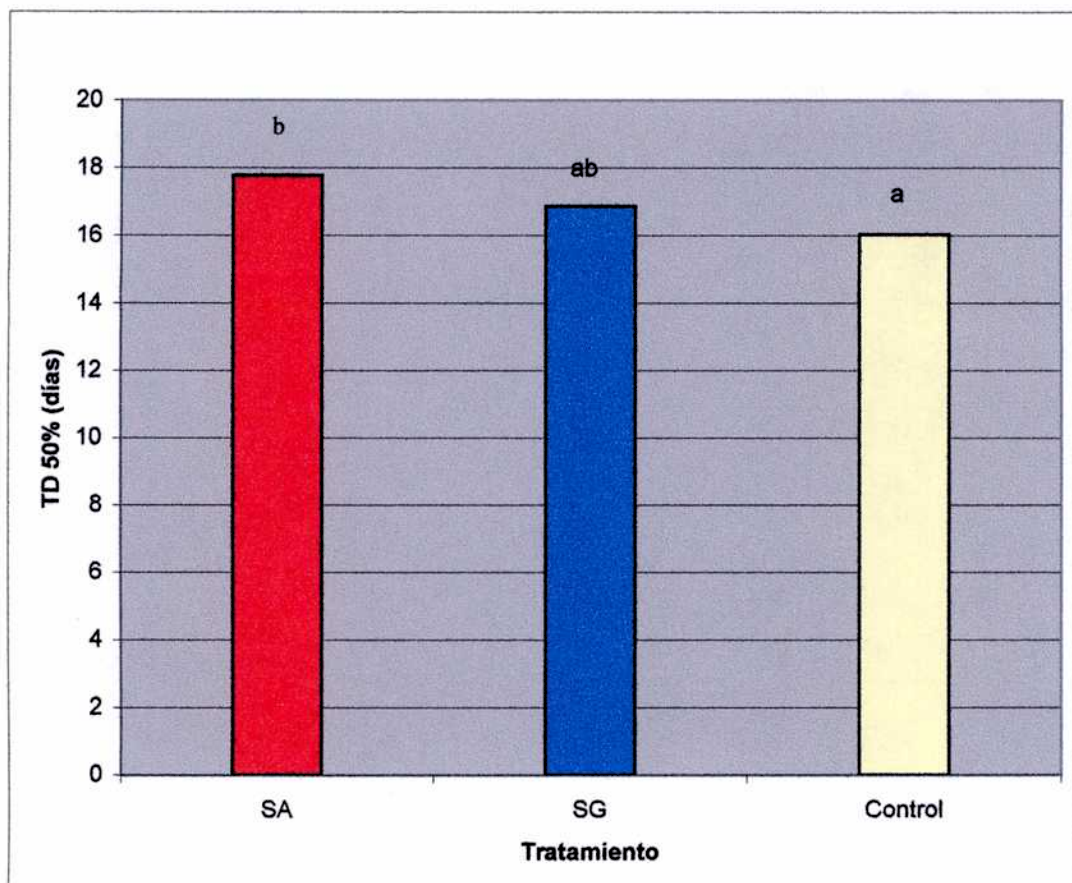


Figura N° 6.10: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* tratadas con solución acetónica de los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) por medio de técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

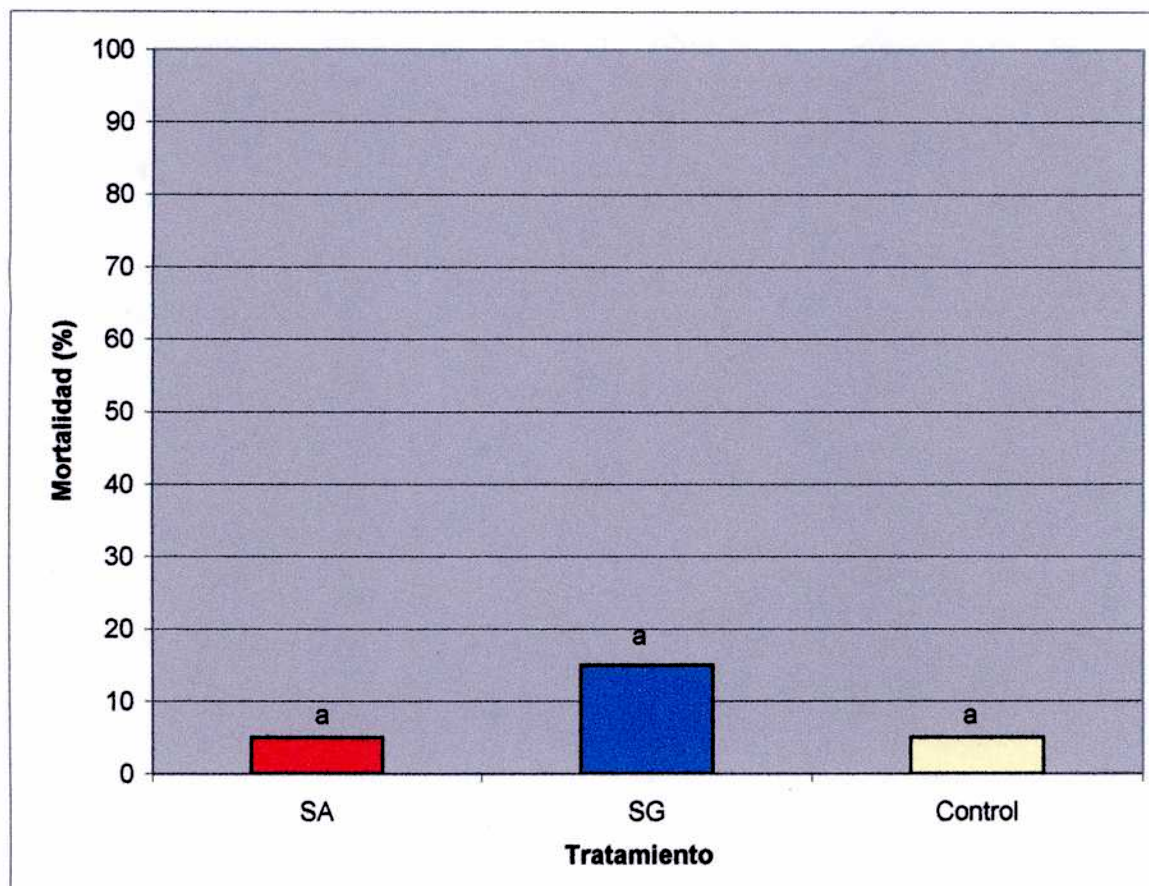


Figura N° 6.11: Mortalidad (%) de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* tratadas con solución acetónica de los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) por medio de técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N°4: Efectos biológicos de nicandrenona sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* expuestas a dieta tratada.

Larvas neonatas fueron expuestas a dieta impregnada con nicandrenona diluída en acetona a 500 ppm. Cada diez días se registraba el número de larvas en cada estadio de desarrollo, la aparición de pupas y adultos, así como la mortalidad. Mediante el método Probit se obtuvieron los parámetros TP 50% y TD 50% (Figuras 6.12 y 6.13). En el caso de nicandrenona, el TP 50% fue de 58,07 días (I.C.= 55,58-60,02) mientras que el TD 50% de 75,2 días (I.C.= 72,1-77,8 días). Dichos parámetros, en el caso de los individuos no tratados, fueron respectivamente de 41,9 (I.C.= 35,88- 53,7) y 55,9 días (I.C.= 49-60 días). Esto significa que a 58,07 días de iniciado el bioensayo 50% de las larvas tratadas con nicandrenona habían alcanzado el estado pupal y a 75,2 días el estado adulto, mientras que los individuos del control alcanzaron el estado pupal a 41,9 días y el estado adulto a 55,9 días. Los porcentajes de demora calculados sobre la base de los TP 50% y TD 50% se hallan dentro de los valores mas elevados (Tabla N° 6.1).

No se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad ni en la talla de adultos entre tratamientos (Figuras 6.14 y 6.15). En el tratamiento con nicandrenona, 5% de las pupas presentaron malformaciones.

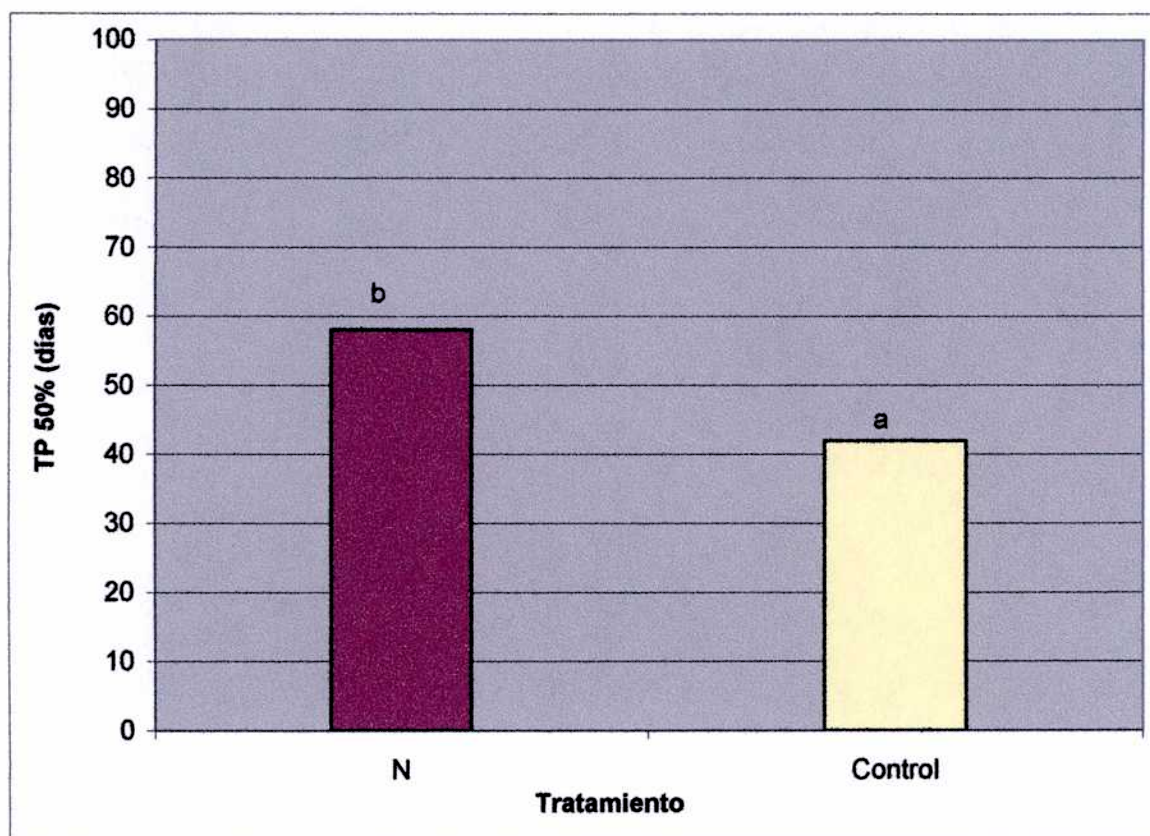


Figura N° 6.12: Tiempo de pupación 50% (días) de individuos de *T. castaneum* incubados desde larva neonata en dieta tratada con nicandrenona (N) a 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

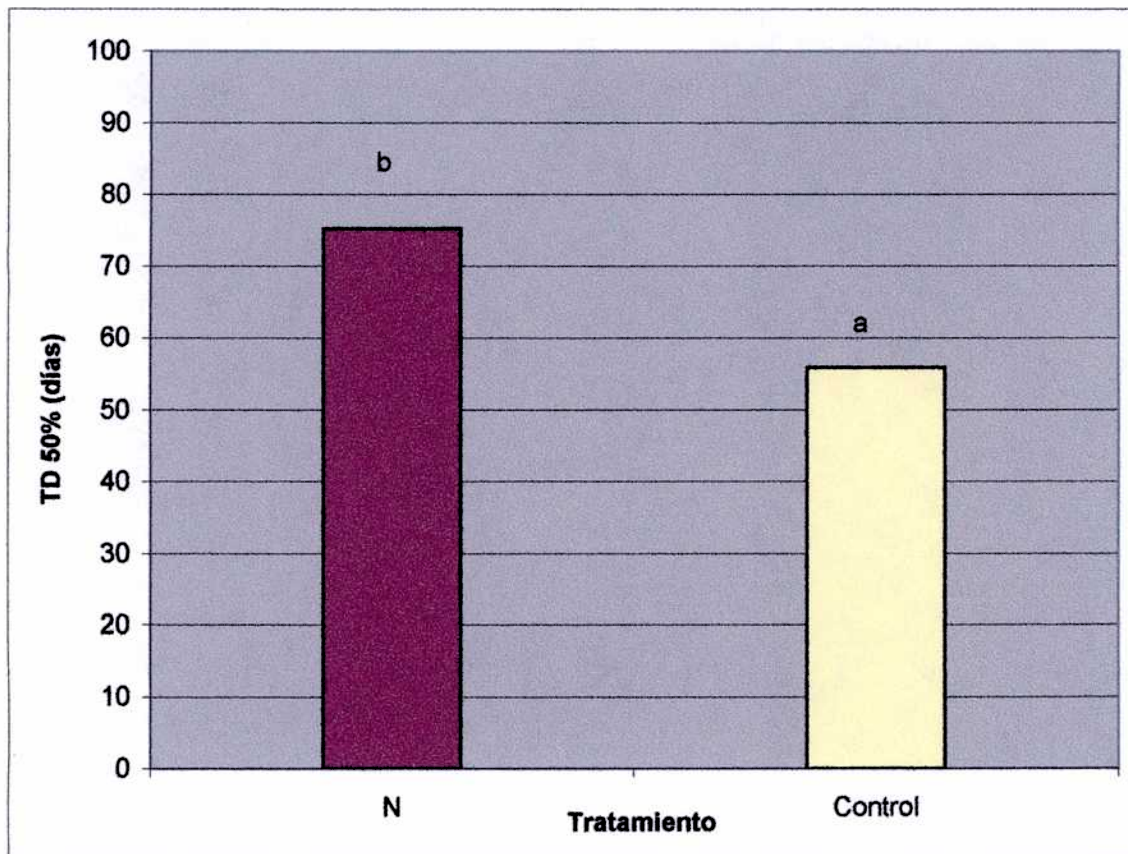


Figura N° 6.13: Tiempo de desarrollo 50% (días) de individuos de *T. castaneum* incubados desde larva neonata en dieta tratada con nicandrenona (N) a 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

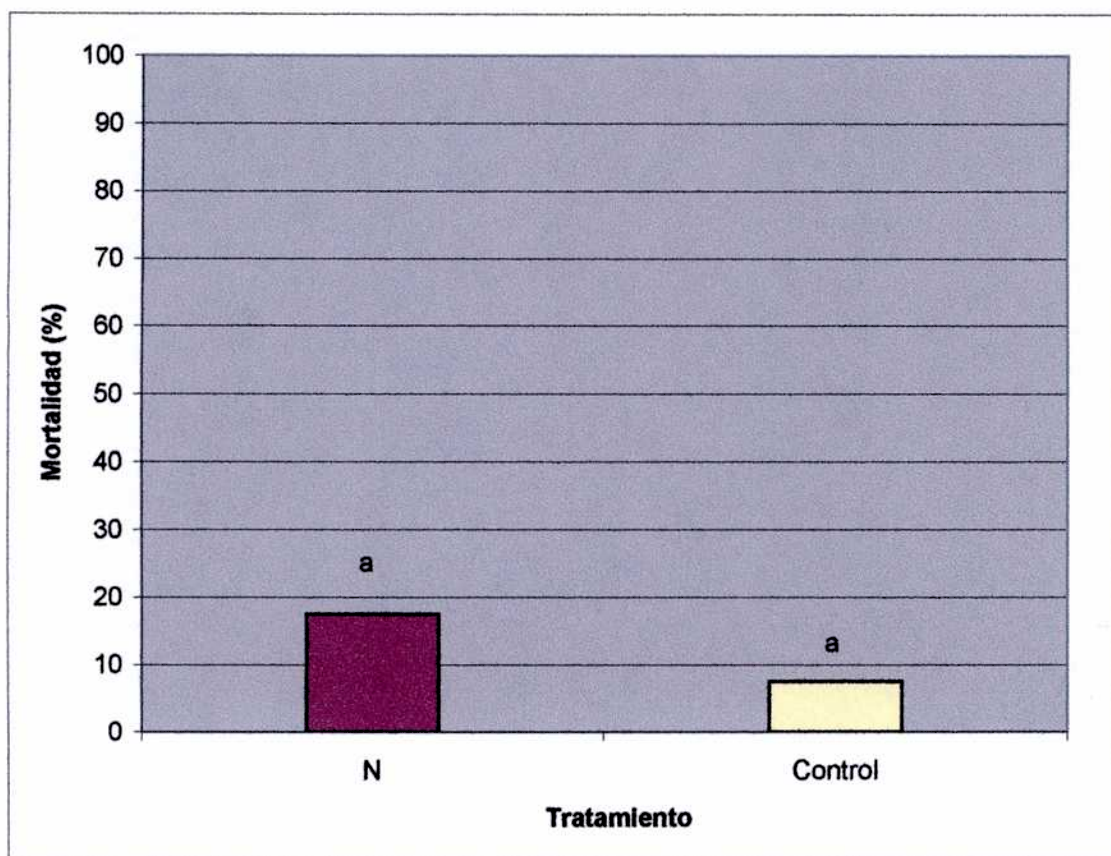


Figura N° 6.14: Mortalidad (%) de individuos de *T. castaneum* provenientes de larvas neonatas incubadas en alimento tratado con nicandrenona (N) a 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

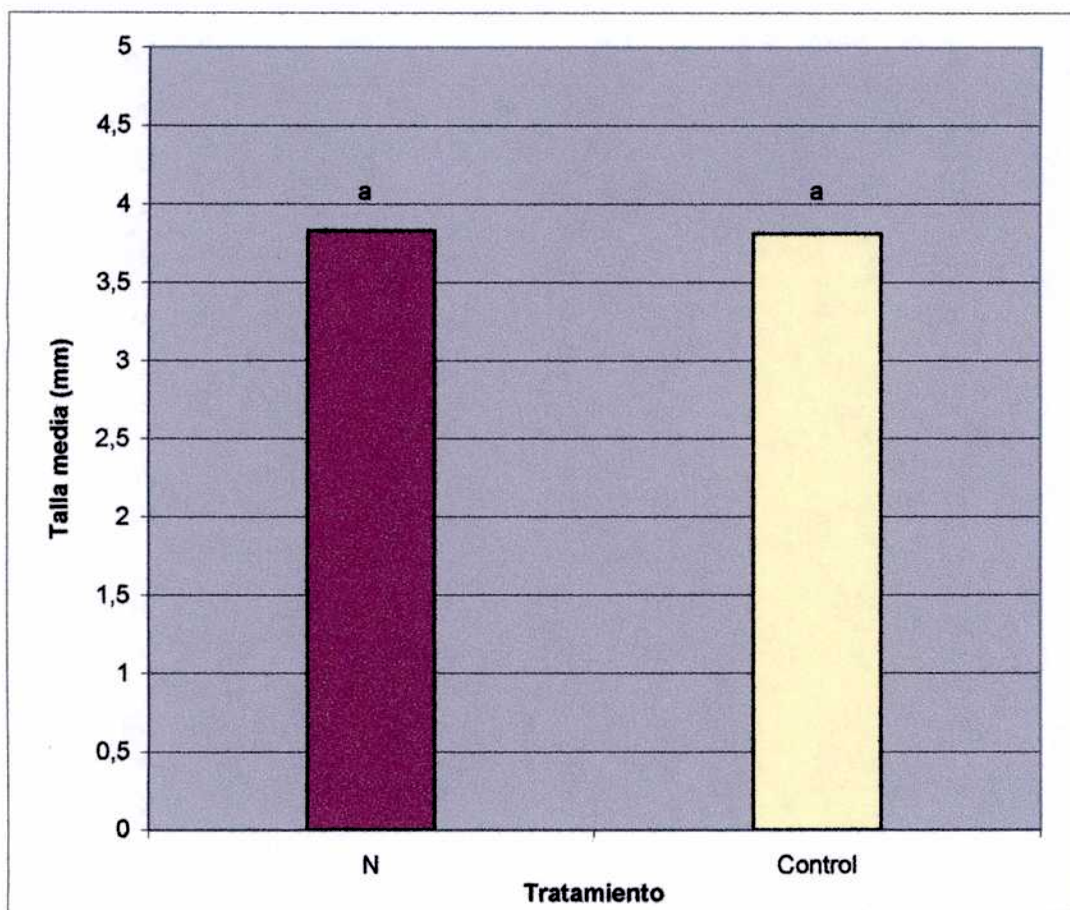


Figura N° 6.15: Talla promedio (mm) de adultos de *T. castaneum* provenientes de larvas neonatas incubadas con nicandrenona (N) a 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 5: Efectos biológicos de las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) sobre el desarrollo de larvas neonatas de *T. castaneum* expuestas a dieta tratada.

Las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) fueron incorporadas en solución acetónica a 500 ppm en la dieta, agregándose al cabo de 48 horas las larvas neonatas (Tabla 5.2). Cada 10 días se registraba el estado de desarrollo de los individuos para calcular el TP 50% y TD 50% mediante el método Probit. Los resultados muestran demoras de desarrollo ($p \leq 0,05$) cuando la dieta fue tratada con JP, pero no en el caso del J10 (Figuras N° 6.16 y 6.17). Los porcentajes de demora calculados presentaron altos valores (Tabla N° 6.2).

No hubo diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad entre tratamientos ($p \leq 0,05$) (Figura N° 6.18).

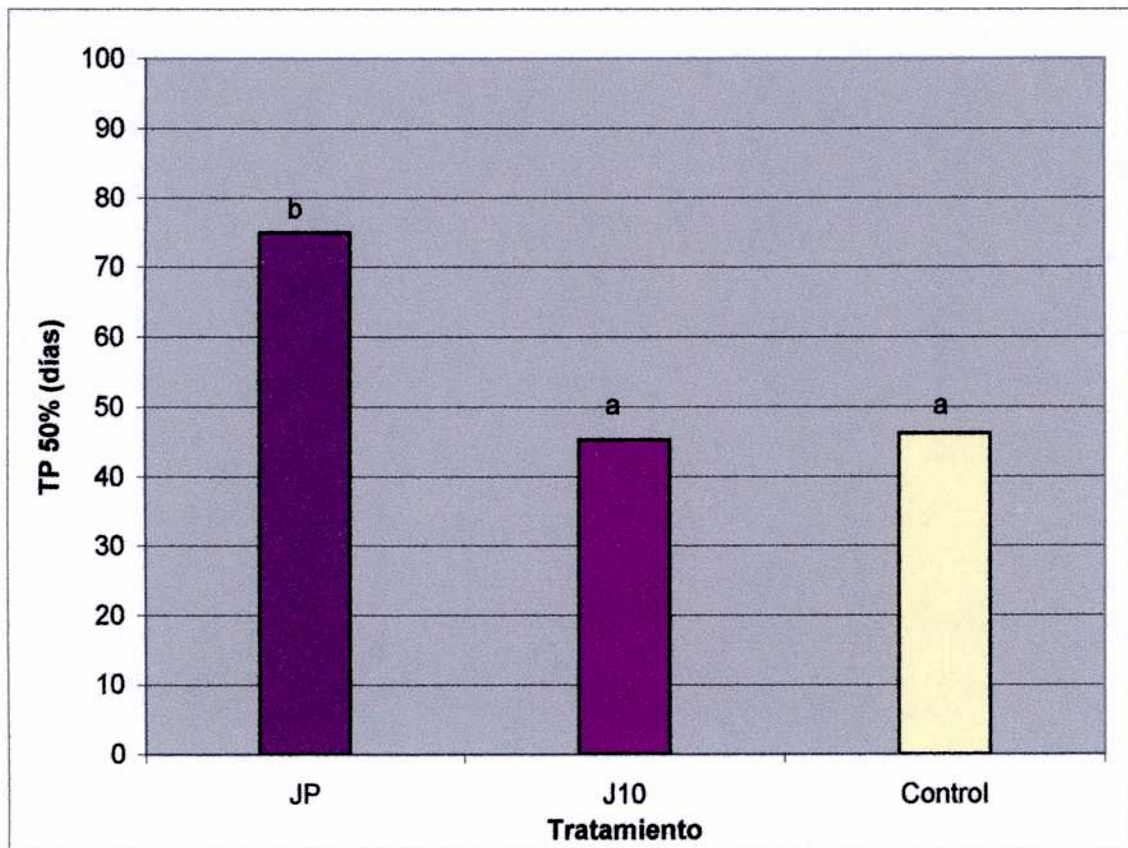


Figura N° 6.16: Tiempo de pupación 50% (días) de individuos de *T. castaneum* incubados desde larva neonata en dieta tratada con las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) a una concentración de 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

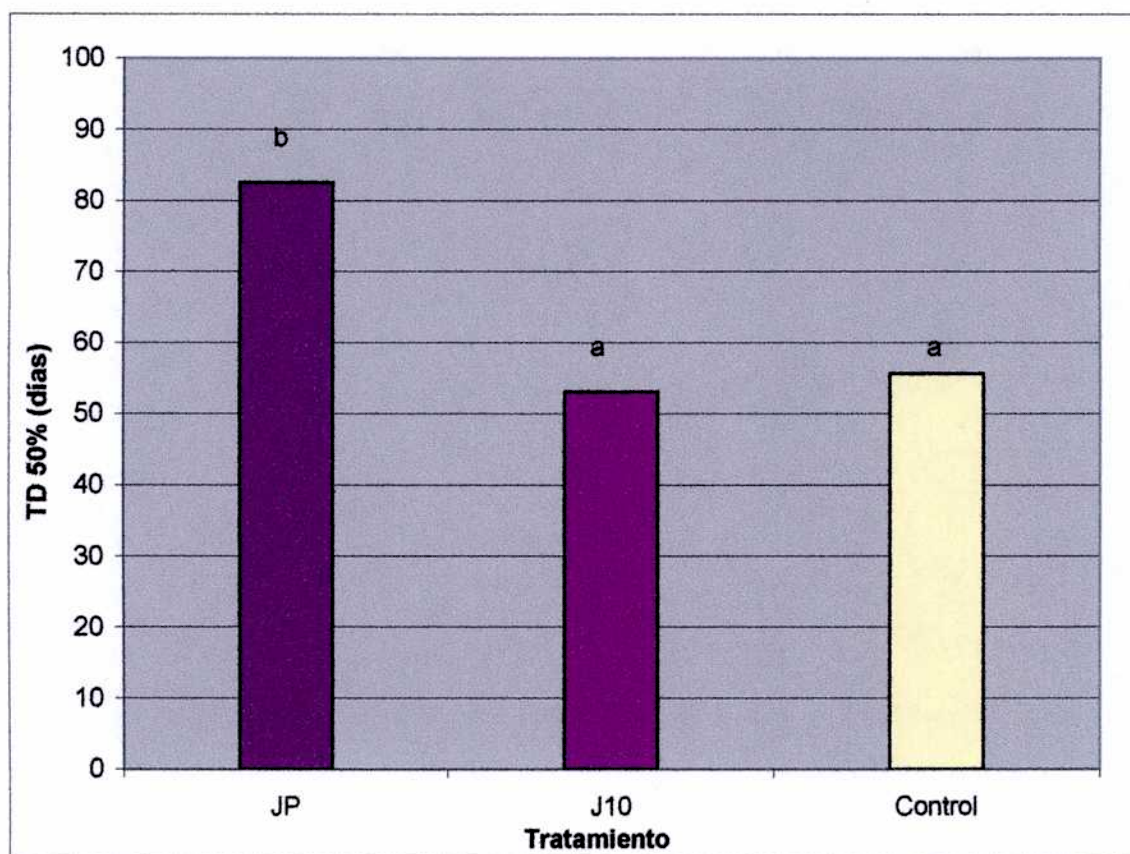


Figura N° 6.17: Tiempo de desarrollo 50% de individuos de *T. castaneum* incubados desde larva neonata en dieta tratada con las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) a una concentración de 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

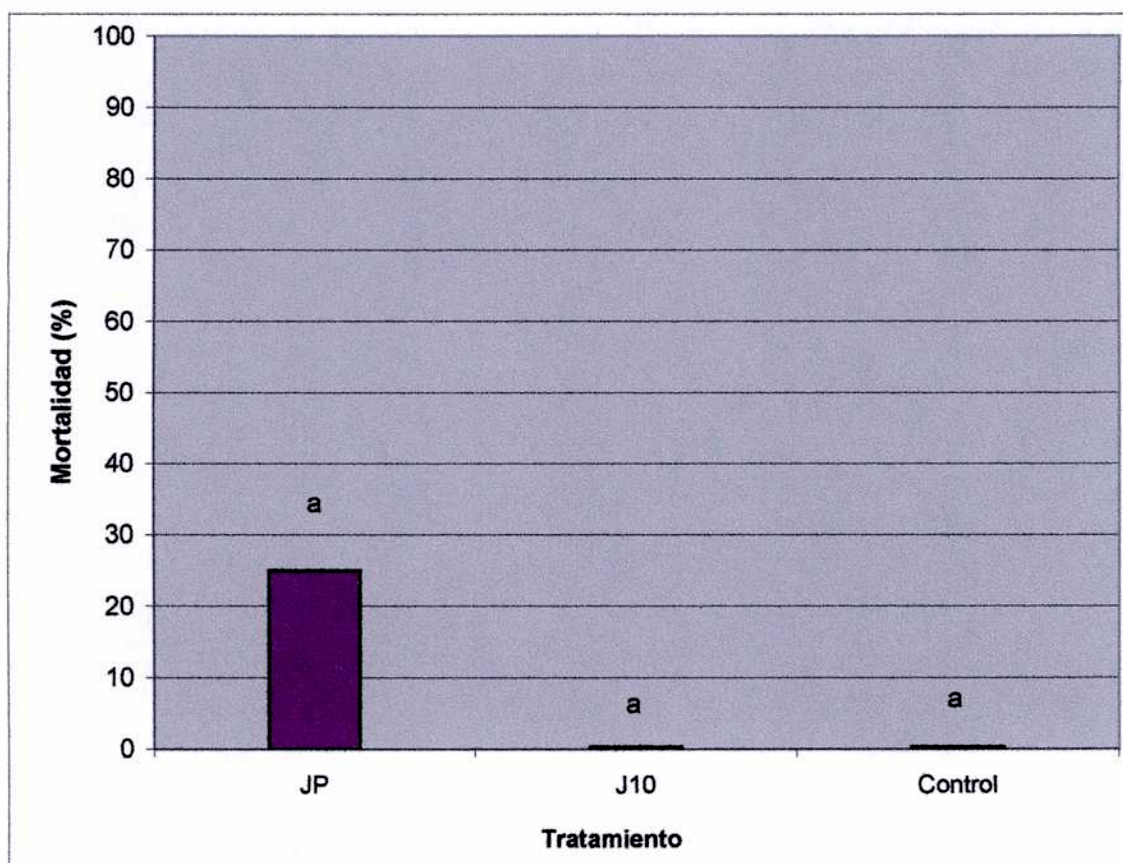


Figura N° 6.18: Mortalidad (%) de individuos de *T. castaneum* en alimento tratado con las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) a una concentración de 500 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N°6: Efectos biológicos de las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) y del salpicrólido SB derivado por síntesis del salpicrólido A (SA), sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* por técnica de aplicación tópica.

Cohortes de cinco larvas de 5° estadio fueron tratadas a razón de 20 µg/insecto de producto disuelto en acetona, recibiendo el control solo acetona. Cada dos días eran observadas registrándose el estado de desarrollo de los individuos, con el fin de calcular los parámetros TP 50% y TD 50%, y la mortalidad de los individuos.

No se hallaron diferencias significativas ni en el tiempo de pupación 50% (Figura 6.19) ni en los porcentajes de mortalidad entre las jaborosalactonas P (JP), 10 (J10) y el salpicrólido B (SB) aplicados por medio de aplicación tópica y el control ($p \leq 0,05$) (Figura N° 6.20).

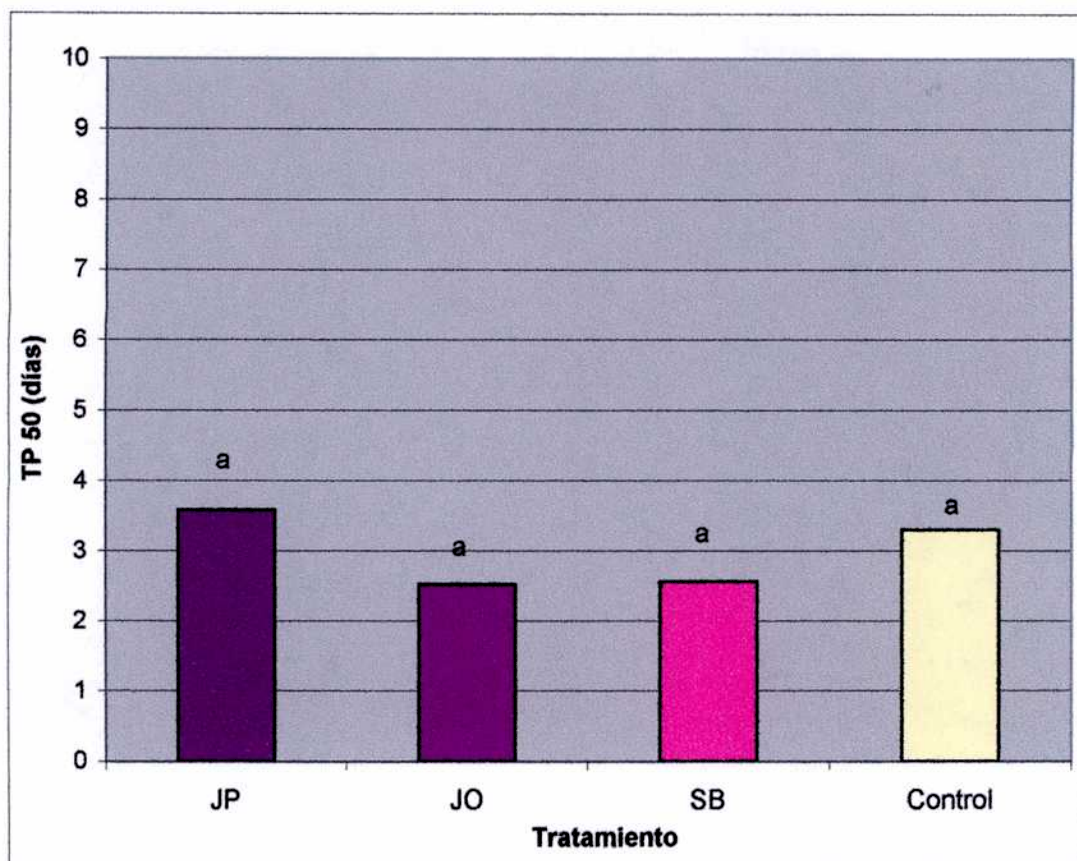


Figura N° 6.19: Tiempo de pupación 50% (días) de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* tratadas con jaborosalactonas P (JP), 10 (J10) y el salpicrólido B (SB) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

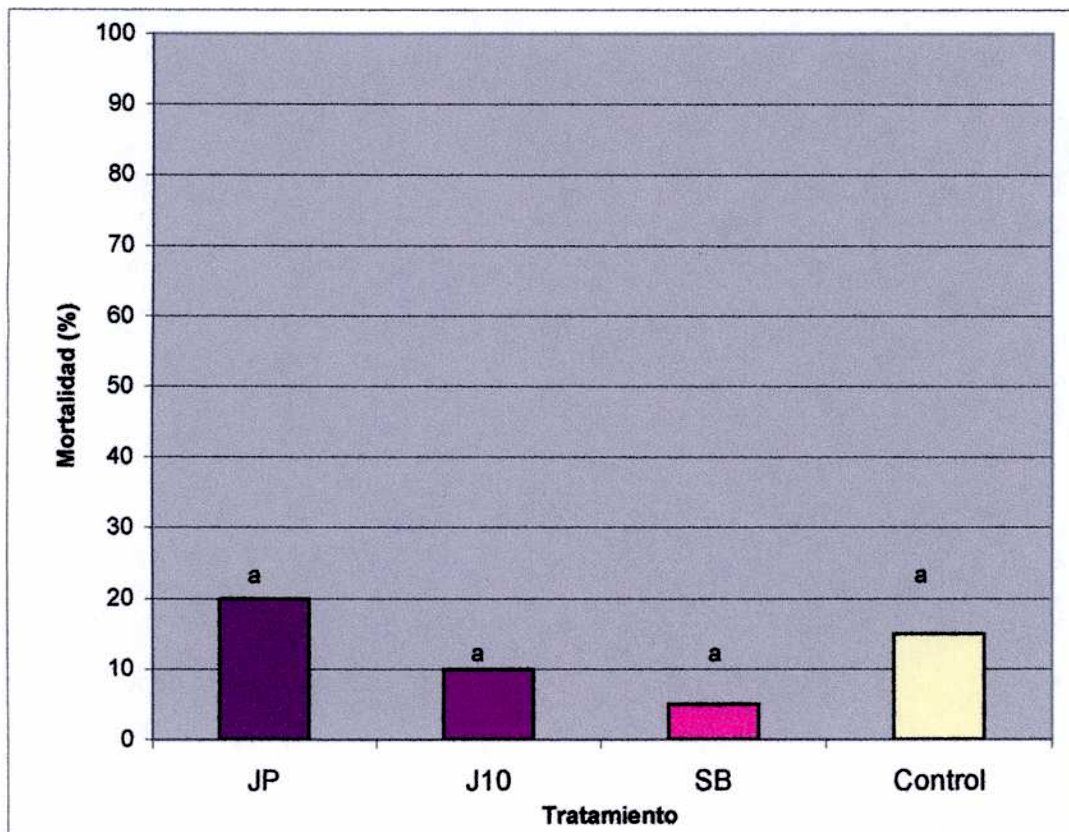


Figura N° 6.20: Mortalidad (%) de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* tratadas con las jaborosalactonas P (JP), 10 (J10) y el salpicrólido B (SB) por técnica de aplicación tópica Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

TABLA N° 6.1: Porcentajes de demora calculados según fórmulas 1 y 2 * producidos por los withanólidos que ocasionaron efectos subletales en el desarrollo de *Tribolium castaneum*

WITHANÓLIDO	DEMORA EN EL DESARROLLO (%)			
	ALIMENTO TRATADO		APLICACIÓN TÓPICA	
	TP (1)	TD (2)	TP (1)	TD (2)
SAO	8,46			
SAREO	8,46			
SAREOA	7,60			
SA	9,14		42,08	10,79
N	38,59	34,53		
JP	28,75	48,38		

* (1) % de demora: $\frac{(TP\ 50\ tratado - TP50\ Control)}{TD50\ Control} \times 100 =$

(2) % de demora: $\frac{(TD\ 50\ tratado - TD50\ Control)}{TD50\ Control} \times 100 =$

6.2- *Ceratitis capitata*

Bioensayo N°1: Efectos biológicos de los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos modificados por síntesis del salpicrólido natural A (SA): salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO) y salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA) sobre el desarrollo de larvas de *C. capitata* expuestas a dieta tratada.

La actividad biológica de los salpicrólidos naturales A, C y G, y de los análogos modificados por síntesis del salpicrólido A (SAH, SAHR, SB, SAO, SAREOA, SAREO), fue evaluada en larvas de *C. capitata* a través de la obtención de los parámetros TP 50% y TD 50% con los que se evidencian demoras de desarrollo (Figuras N° 6.21 y 6.22), registrándose además la mortalidad a lo largo del bioensayo, y el tamaño de puparios (Figuras N° 6.23 y 6.24).

En las Figuras N° 6.21 y 6.22 se observa que tanto los salpicrólidos naturales A, C y G como los compuestos derivados por síntesis del SA (SAH, SAHR, SAO, SAREOA, SAREO) produjeron demoras significativas en el desarrollo, mientras que en el caso del compuesto SB la elevada mortalidad registrada antes de la pupariación, no permitió el cálculo del TP 50%. El derivado por síntesis mediante la reducción del anillo A (SAHR) mostró la mayor demora en el desarrollo (TD 50%) entre los análogos sintéticos. En la

Tabla N° 6.2 figuran los porcentajes de demora calculados sobre la base de los TP 50% y TD 50% obtenidos.

Los salpicrólicos que produjeron la mayor mortalidad fueron los naturales A (SA) y G (SG) y los derivados por síntesis del salpicrólico A (SA), salpicrólico B (SB) y salpicrólico hidrogenado reducido SAHR (Figura N° 6.23 y Tabla N° 6.2).

El salpicrólico B (SB) fue el más activo, mostrando la mayor mortalidad (95%) (Tabla N° 6.2) observada al alcanzar el estado adulto. Además los salpicrólicos A (SA), G (SG) y B (SB) produjeron fallas significativas en la emergencia de los adultos.

No se hallaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la talla de los puparios para ningún tratamiento (Figura N° 6.24).

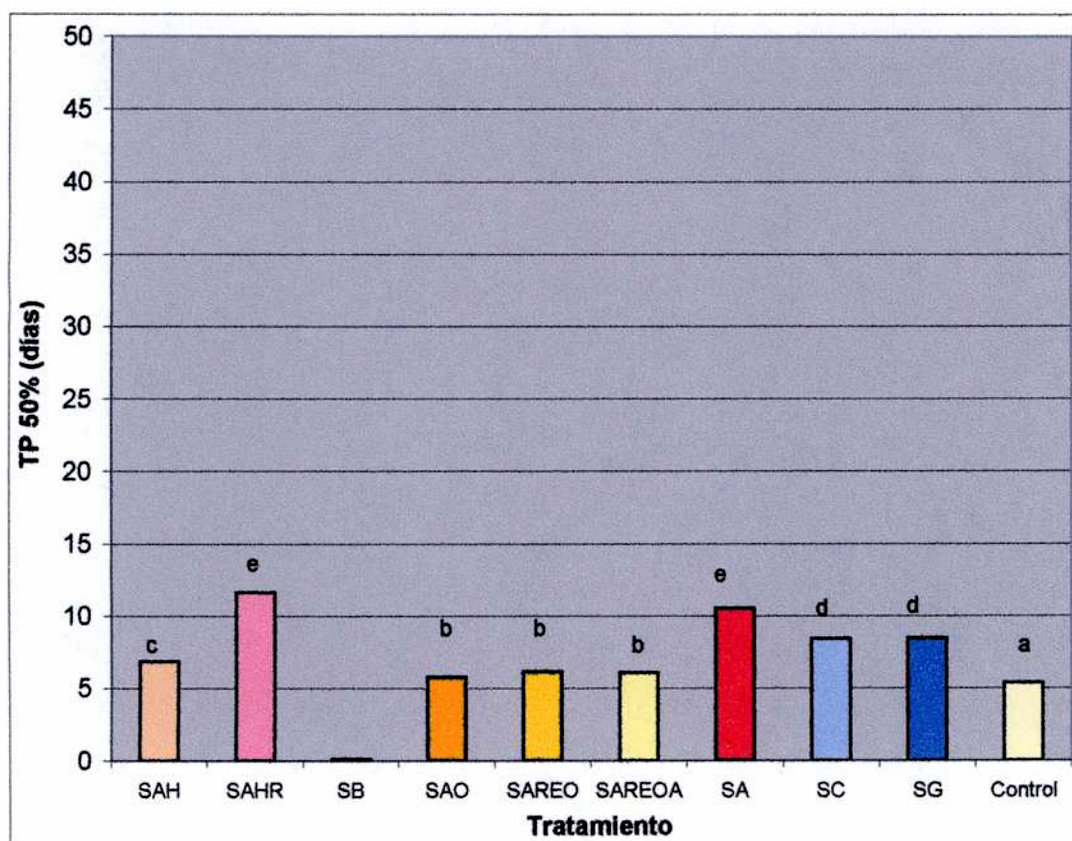


Figura N° 6.21: Tiempos de pupariación 50% (días) de larvas de *C. capitata* criadas en dieta Terán (1977) impregnada con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos derivados del SA por síntesis química: salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

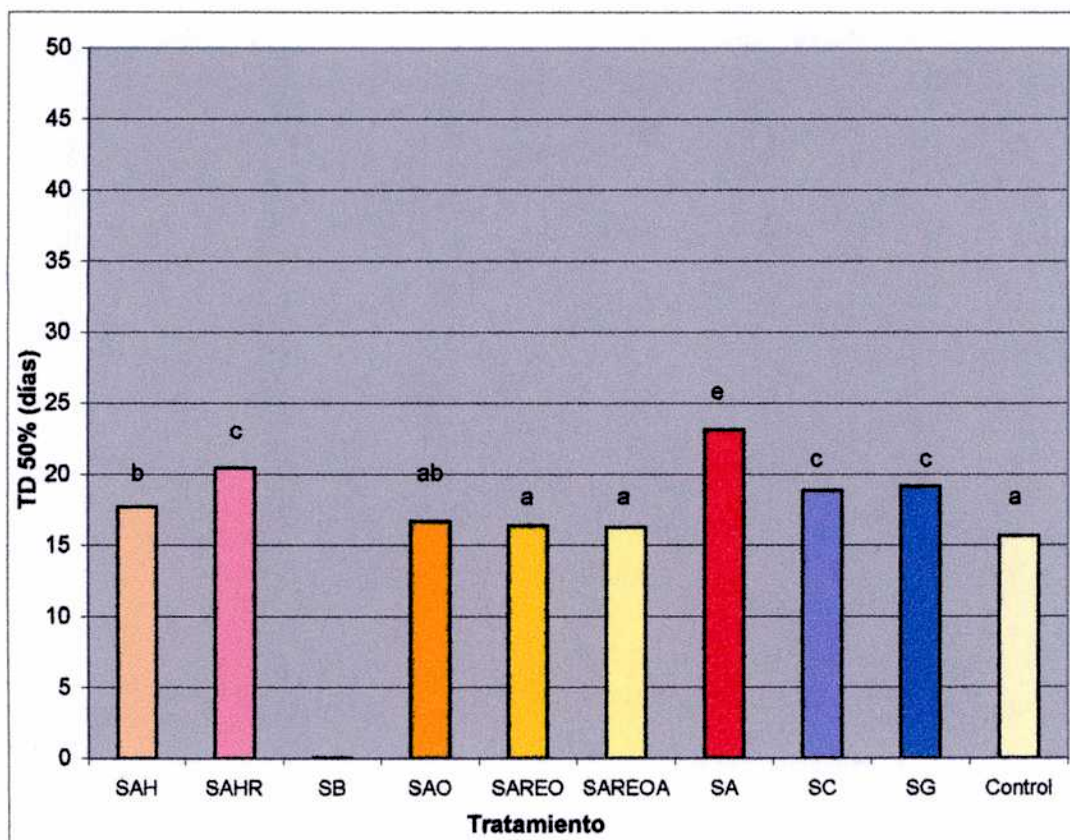


Figura N° 6.22: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de *C. capitata* criadas sobre dieta Terán (1977) impregnada con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos derivados del SA por síntesis química: salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

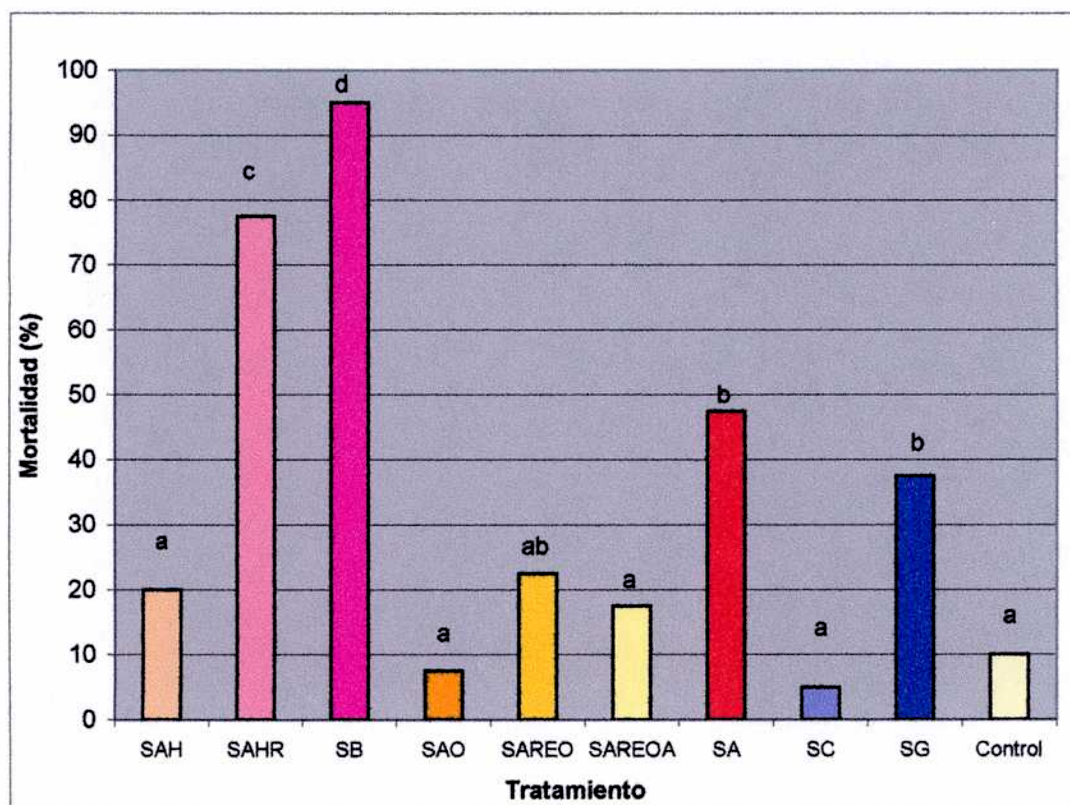


Figura N° 6.23: Mortalidad (%) de larvas de *C. capitata* criadas en dieta Terán (1977) impregnada con soluciones alcohólicas de los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos modificados por síntesis derivados del SA: salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

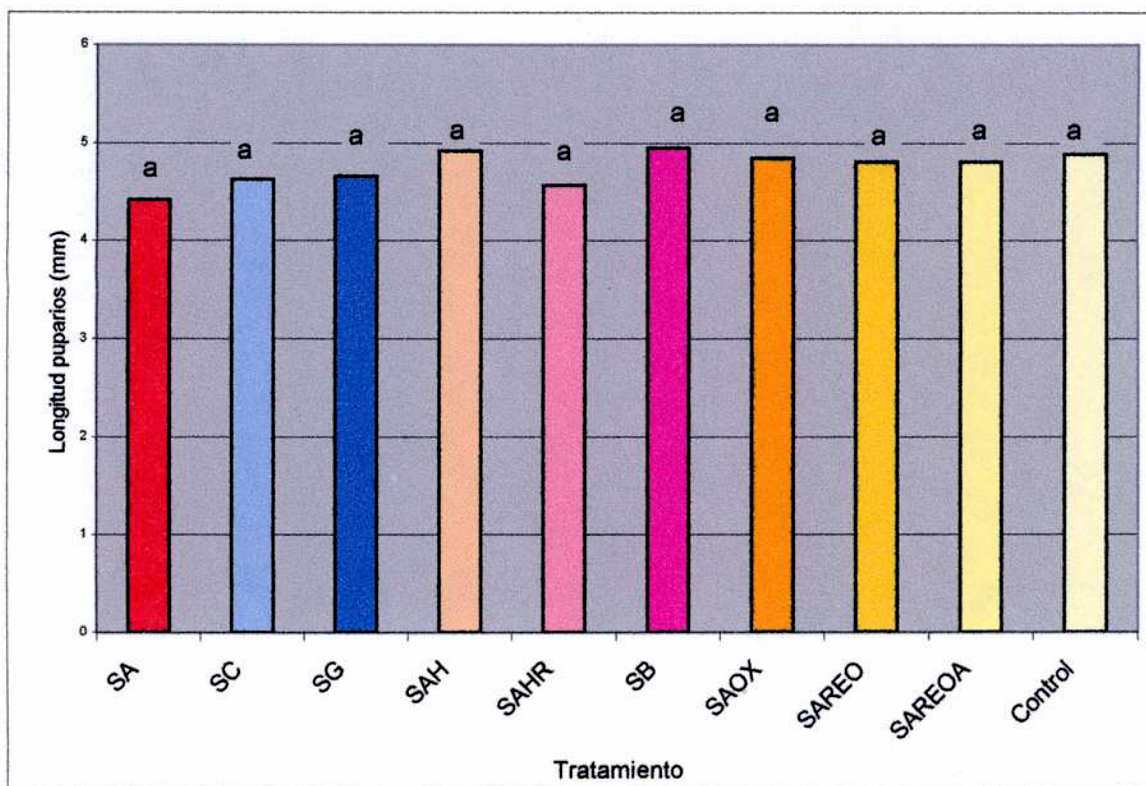


Figura N° 6.24: Talla promedio de puparios (mm) provenientes de larvas de *C. capitata* tratadas con soluciones alcohólicas de los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y análogos modificados por síntesis derivados del SA: salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A reducido (SB), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 2: Determinación de la concentración efectiva media del salpicrólido B (SB) en larvas de *C. capitata* expuestas a dieta tratada.

De los resultados obtenidos en el bioensayo N°1, se desprende que el compuesto de mayor efecto letal es el salpicrólido B, el cual produjo una mortalidad de 95%. En vista de estos resultados se consideró oportuno calcular su concentración efectiva media, es decir la concentración mínima que mata 50% de la población, para lo cual se evaluó su efecto letal en cinco concentraciones: 500, 250, 100, 50 y 25 ppm. Grupos de larvas neonatas (n=10) fueron criadas en dieta artificial tratada en dichas concentraciones. Diariamente el número de puparios fue contado para determinar el TP50% mediante el análisis Probit ($p \leq 0,05$). Una vez emergidos los adultos, éstos fueron contabilizados con el fin de obtener datos de mortalidad, sometiéndolos a ANOVA.

La CE 50 calculada a partir de los datos de mortalidad (Figura N° 6.27) fue de 83 ppm (Intervalo de confianza= 75ppm- 94ppm). El compuesto SB produjo 100% de mortalidad en 250 y 500 ppm (Figura N° 6.27 y Tabla N° 6.8), no permitiendo el cálculo del TP 50% ni el TD 50% para estas concentraciones (Figuras N° 6.25 y 6.26). No sólo se observaron demoras en el desarrollo en las concentraciones medias (100 y 50 ppm), las que se establecieron por la no superposición de los respectivos intervalos de confianza, sino también en la más baja ensayada, 25 ppm (Figuras N° 6.25 y 6.26). Los porcentajes de demora obtenidos resultaron elevados (Tabla N° 6.2).

La mortalidad registrada difirió significativamente con respecto al control a todas las concentraciones ensayadas (Figura N° 6.27), pero no se hallaron diferencias significativas en el tamaño de los puparios entre éstas (Figura N° 6.28).

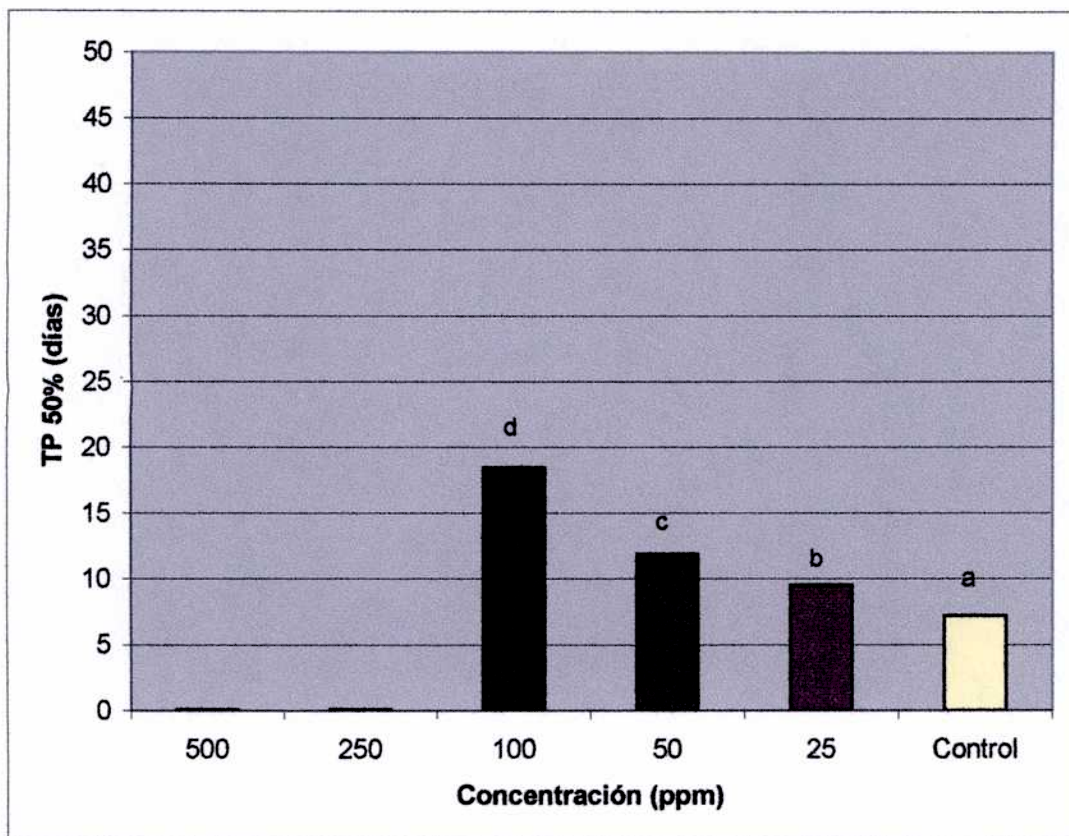


Figura N° 6.25: Tiempo de pupariación 50% (días) de larvas de *C. capitata* expuestas a dieta tratada con diferentes concentraciones del salpicrólido B (SB). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

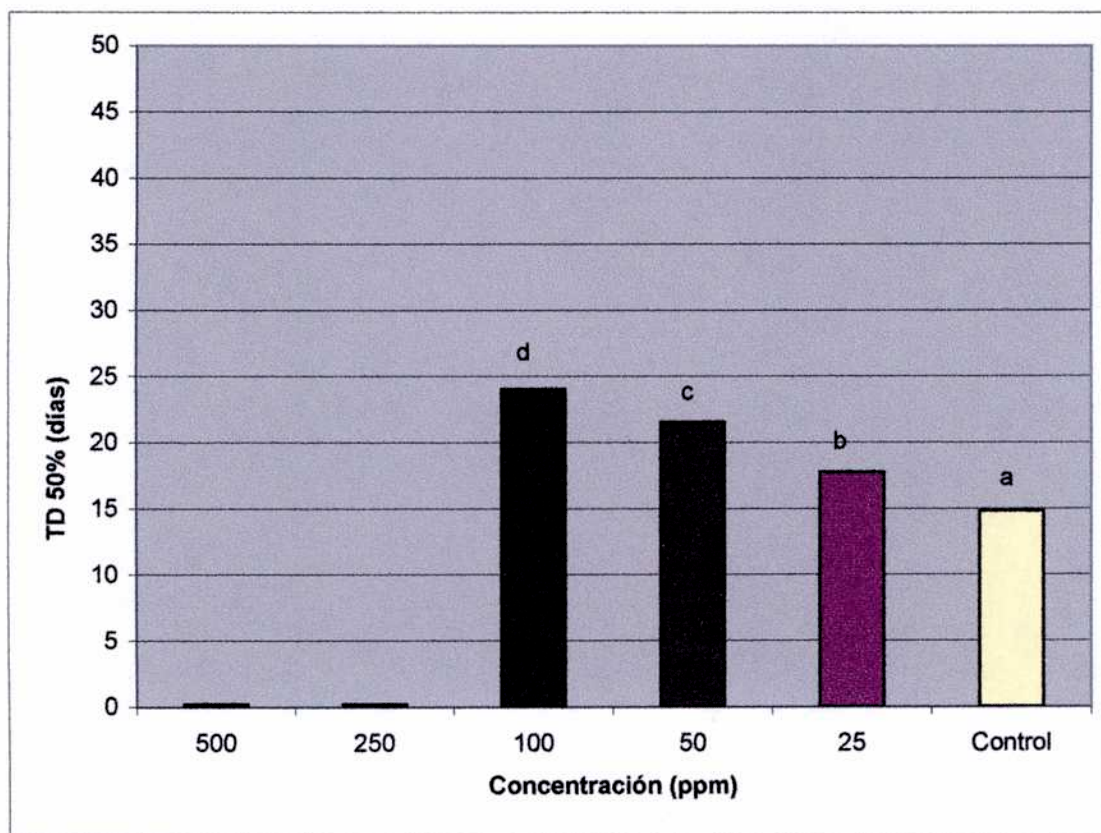


Figura N° 6.26: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de *C. capitata* expuestas a dieta tratada con diferentes concentraciones del salpicrólido B (SB). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

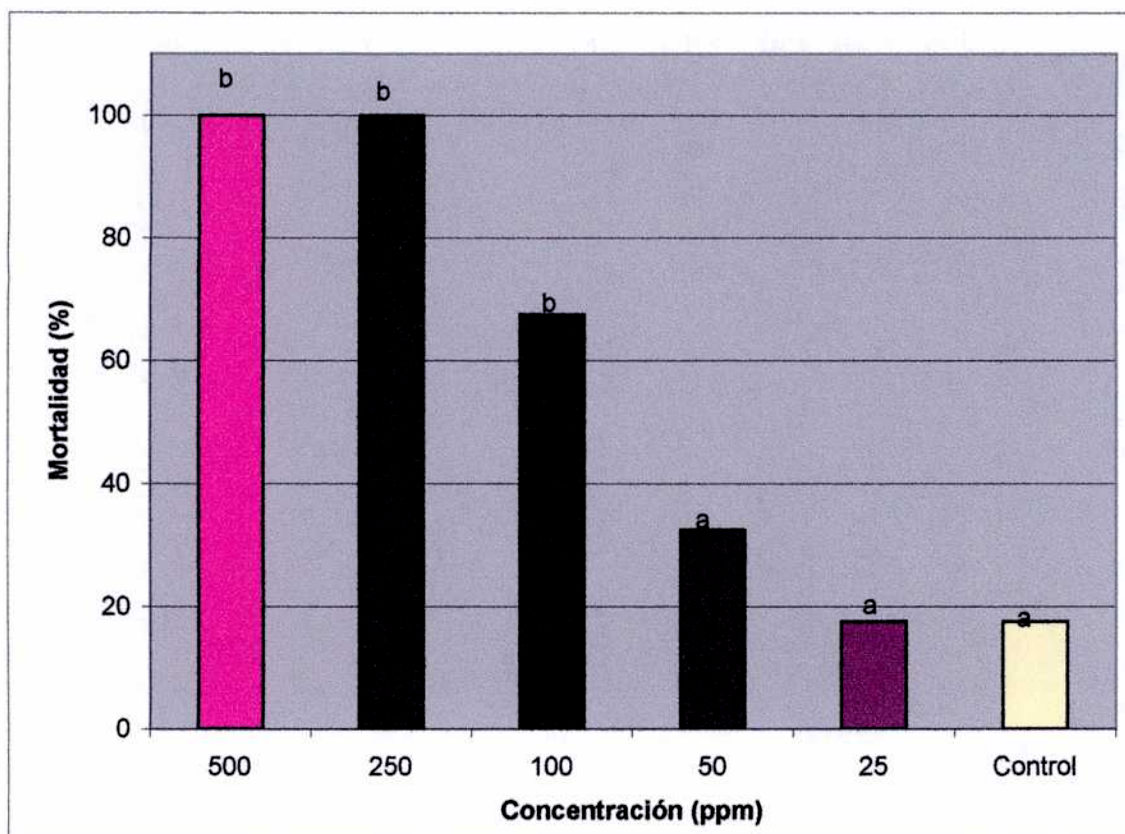


Figura N° 6.27: Mortalidad (%) de larvas de *C. capitata* expuestas en diferentes concentraciones del salpicrólido B (SB). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

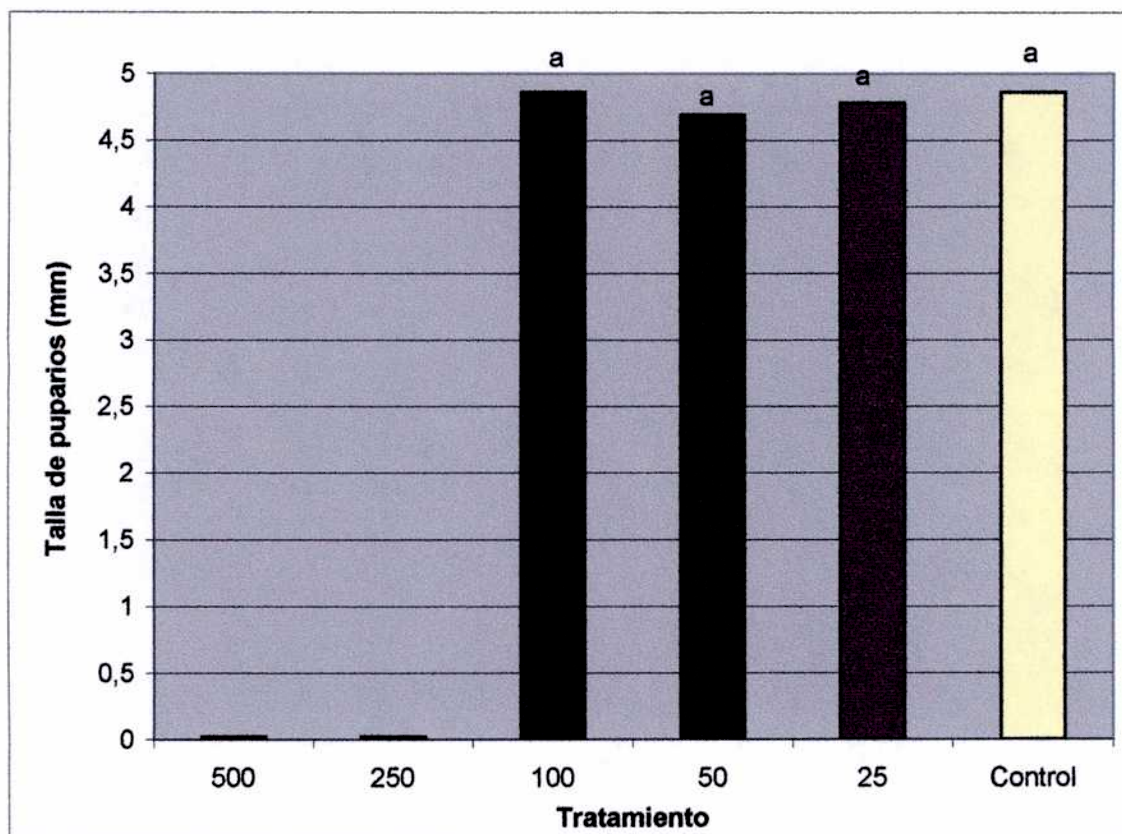


Figura N° 6.28: Talla media de puparios (mm) provenientes de larvas de *C. capitata* expuestas en diferentes concentraciones del salpicrólido B (SB). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N°3: Efectos biológicos del salpicrólido B (SB) sobre larvas de *C. capitata* por técnica de aplicación tópica.

Los resultados de los bioensayos anteriores llevaron a evaluar la efectividad del salpicrólido B (SB) por la técnica de aplicación tópica de larvas de segundo estadio.

En las Figuras N° 6.29 y 6.30 se observa que las larvas no presentaron demoras en el desarrollo, ya que los TP 50% y TD 50% obtenidos no resultaron estadísticamente diferentes de los obtenidos con las larvas no tratadas.

Tampoco se hallaron diferencias significativas entre las larvas tratadas y el control, en el porcentaje de mortalidad y en el tamaño de los puparios ($p \leq 0,05$) (Figuras N° 6.31 y 6.32), descartándose una posible actividad por contacto del compuesto sobre esta especie insectil.

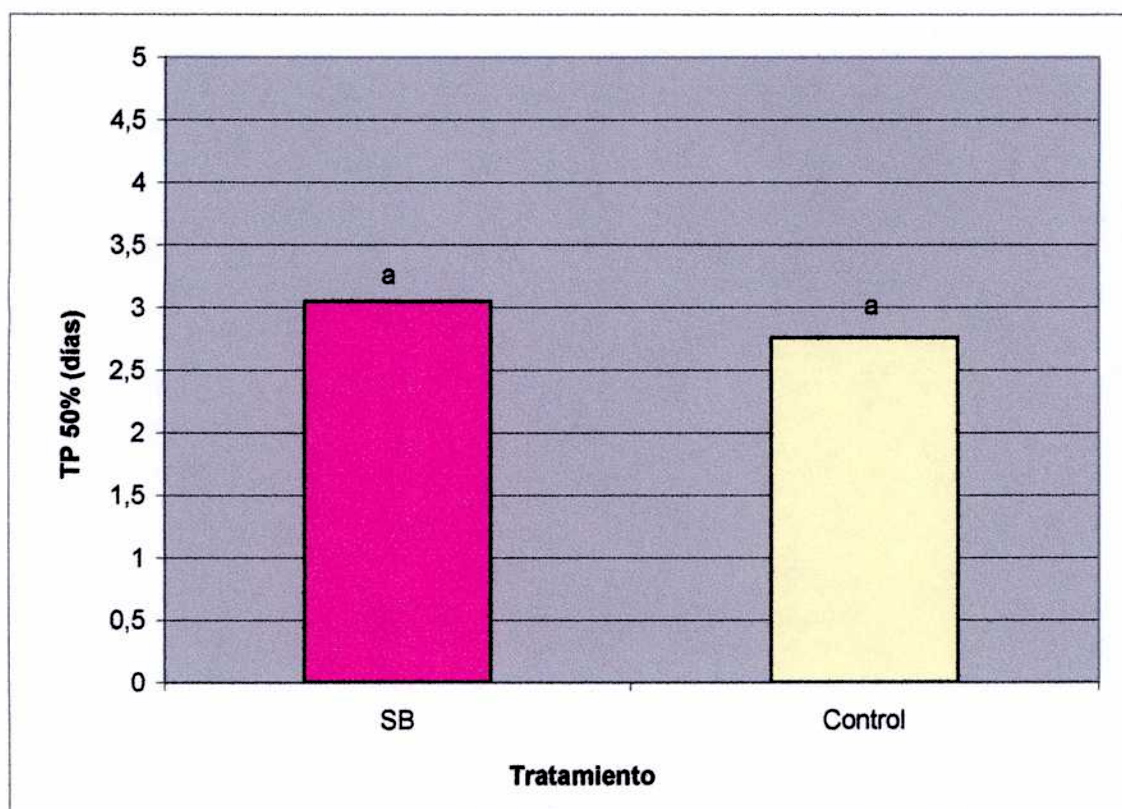


Figura N° 6.29: Tiempo de pupariación 50% (días) de larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas con el salpicrólido B (SB) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

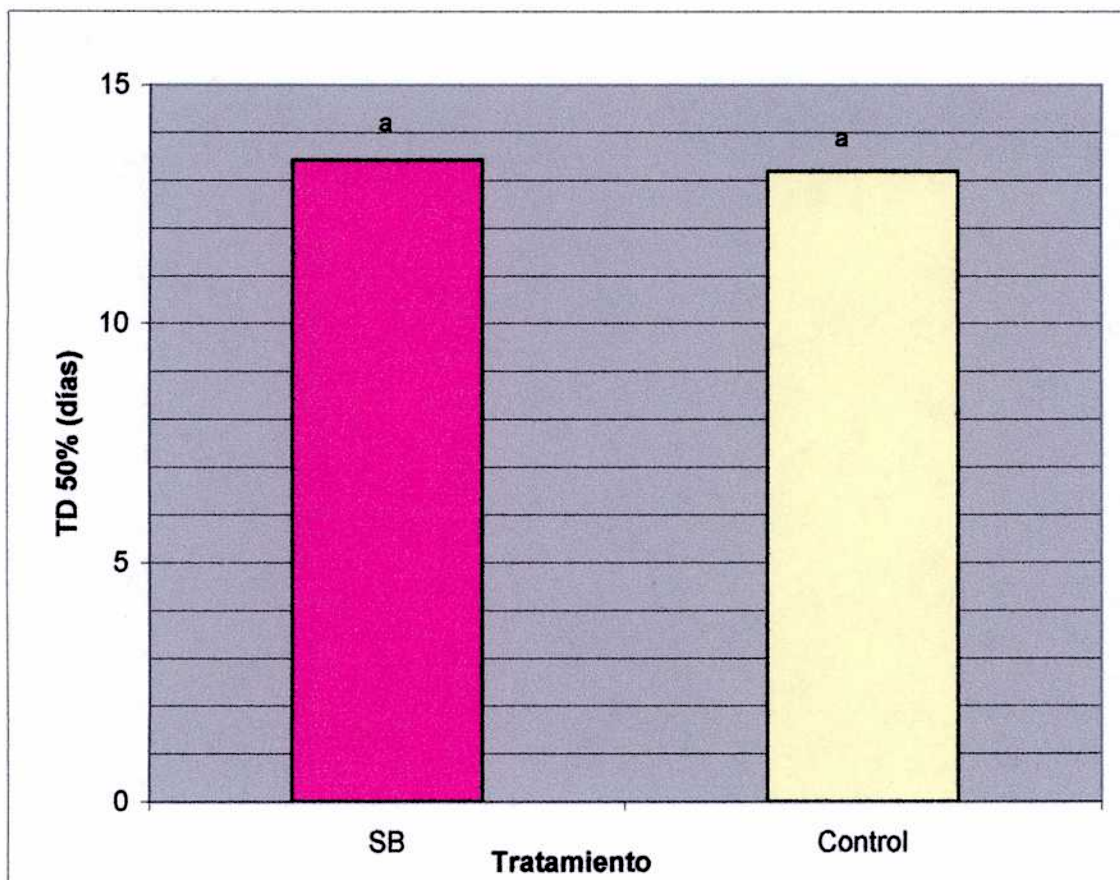


Figura N° 6.30: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas con el salpicróido B (SB) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

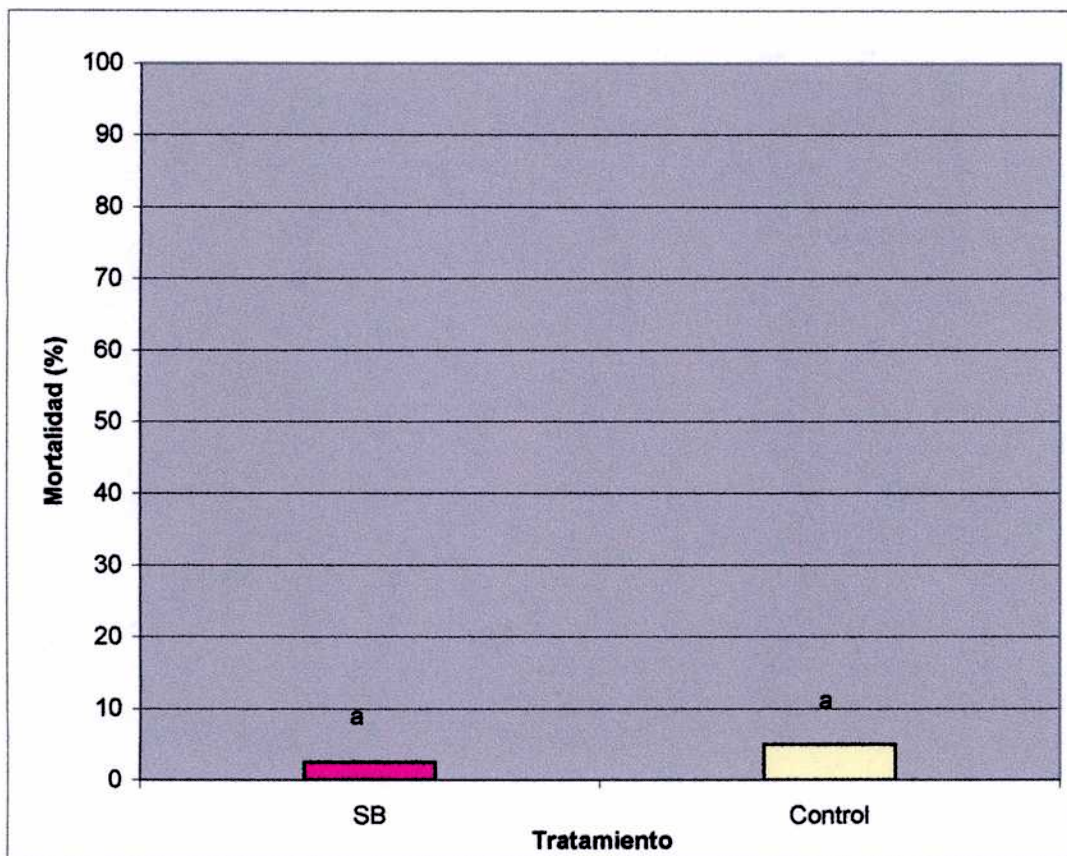


Figura N° 6.31: Mortalidad (%) de larvas *Ceratitidis capitata* tratadas con el salpicrólido B (SB) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

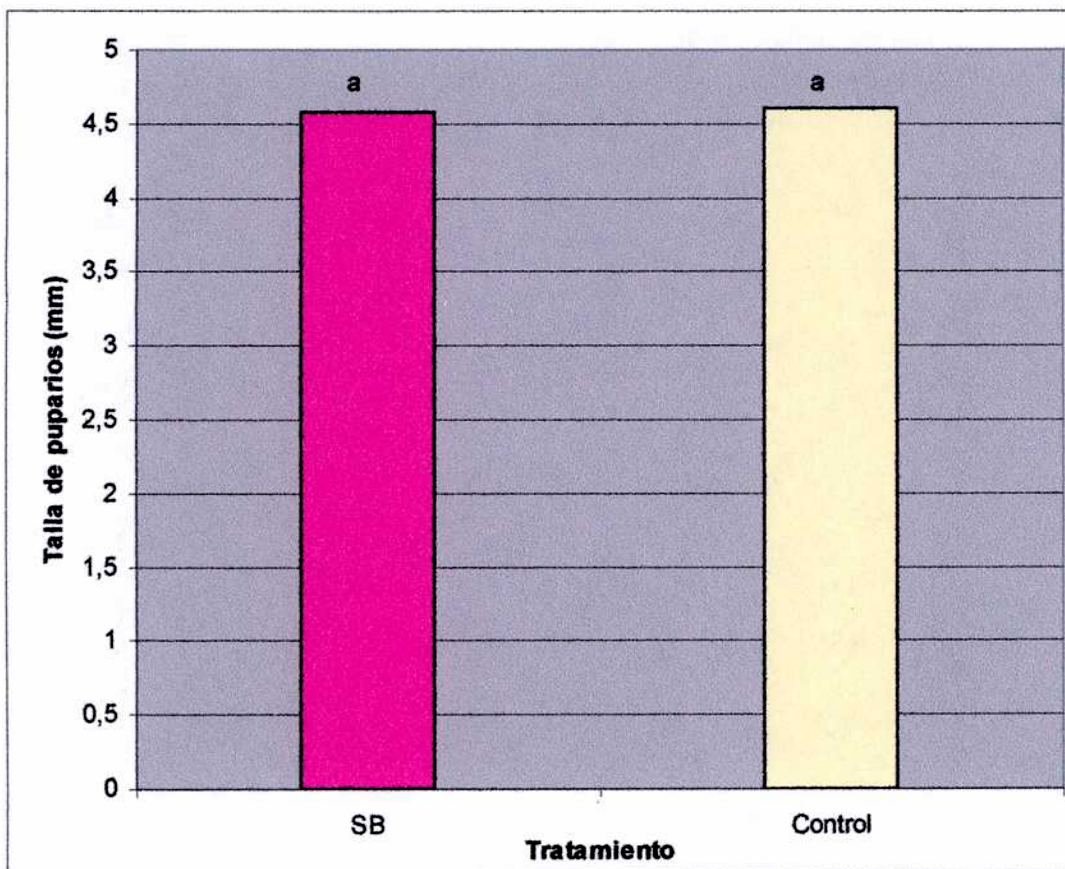


Figura N° 6.32: Talla promedio de puparios (mm) provenientes de larvas de *C. capitata* expuestas al salpicrólico B (SB). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N°4: Efectos biológicos de salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG), y del análogo modificado por síntesis del salpicrólido A: salpicrólido B (SB) sobre la supervivencia y fecundidad de adultos de *C. capitata* expuestos a bebederos tratados.

Soluciones de los salpicrólidos A, C, G y del análogo obtenido por síntesis, salpicrólido A reducido (SB), diluidos en agua mineral comercial usando una gota por ml de Tween 20 como tensioactivo fueron ofrecidos a grupos de 10 adultos recién emergidos. Los controles sólo recibieron agua mineral comercial con el tensioactivo.

La mortalidad fue registrada diariamente, empleándose ANOVA para determinar el porcentaje de mortalidad en cada tratamiento, mientras que la cantidad de huevos puestos durante los días 1 a 4 fue contada en el día 4, y los colocados durante los días 5 a 7, el día 7. Para determinar diferencias significativas en el porcentaje de fecundidad en cada tratamiento se empleó ANOVA.

La mortalidad de adultos luego de beber durante 4 días la solución de salpicrólido B (SB) se incrementó significativamente ($p \leq 0,05$) en comparación con los tratamientos conteniendo los salpicrólidos naturales, los que también difirieron con respecto al control. Estos efectos significativos ($p \leq 0,05$) continuaron hasta el día 7 (Figura N° 6.33 y Tabla N° 6.2).

No se hallaron diferencias significativas de fecundidad entre los tratamientos (Figura N° 6.34).

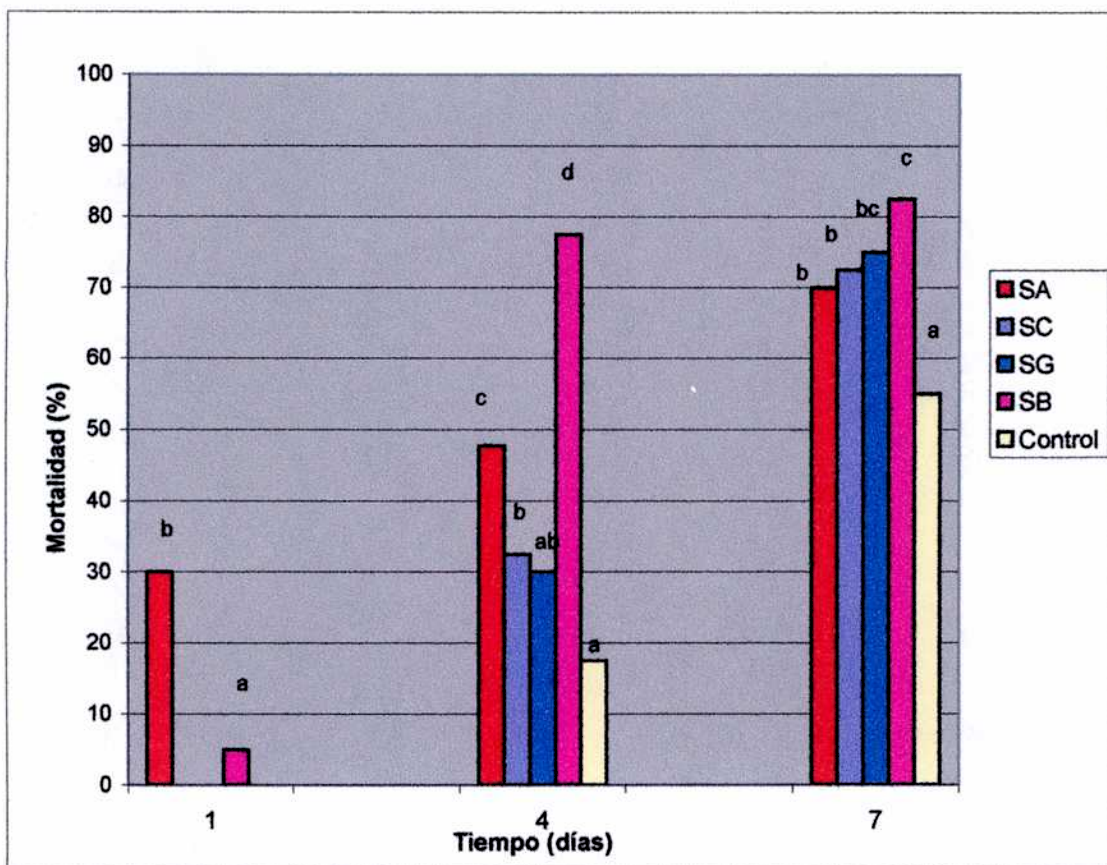


Figura N° 6.33: Mortalidad (%) de adultos de *C. capitata* obtenida con los salpicrólicos naturales A (SA), C (SC) y G (SG), y el derivado por síntesis salpicrólico B (SB) incorporados en agua de bebederos. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

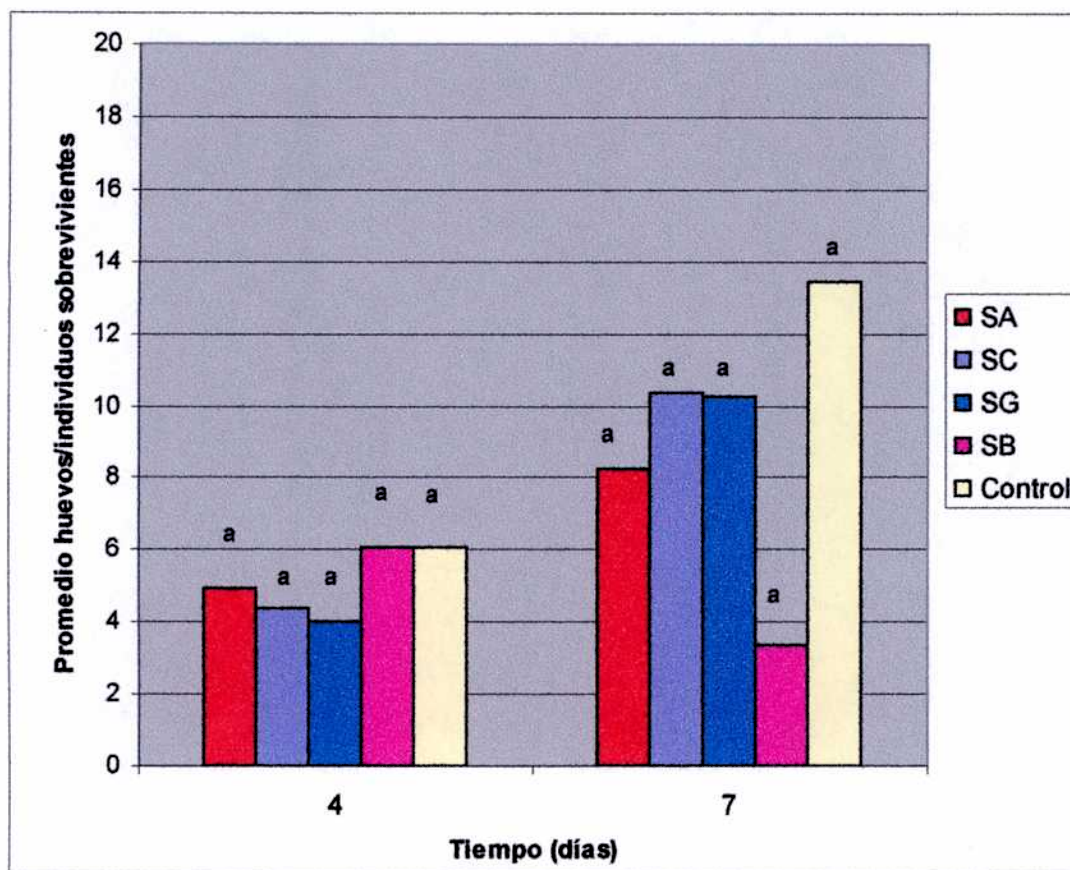


Figura N° 6.34: Fecundidad (N° de huevos/individuo sobreviviente) de adultos de *C. capitata* obtenida con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y el derivado por síntesis salpicrólido B (SB) incorporados en agua de bebederos. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 5: Efectos biológicos de extractos crudos de *Physalis peruviana* sobre el desarrollo de larvas de *C. capitata* expuestas a dieta tratada.

Grupos de larvas neonatas fueron alimentados con dieta impregnada con extractos crudos de *P. peruviana* en las siguientes concentraciones: 35.000, 10.000 y 1.000 ppm. Los resultados obtenidos se hallan en las Figuras N° 6.35, 6.36 y 6.37 donde puede observarse que el cálculo de TP 50% y de TD 50% en las mayores concentraciones ensayadas (10.000 y 35.000) no pudo llevarse a cabo debido a la mortalidad total de los individuos, mientras que la menor concentración (1.000 ppm) produjo demora en el desarrollo de larvas de *C. capitata* (Figuras N° 6.35 y 6.36). Los porcentajes de demora calculados sobre la base de los TP 50% y TD 50% para la menor concentración figuran en la Tabla N° 6.2, donde se observa que resultaron elevados valores.

Se hallaron diferencias significativas de mortalidad total a todas las concentraciones ensayadas ($p \leq 0,05$) (Figura N° 6.37 y Tabla N° 6.2).

En las mayores concentraciones las larvas no alcanzaron el estado puparal, mientras que a 1000 ppm, las larvas, a pesar de presentar escaso desarrollo (Figura N° 6.38) alcanzaron dicho estado, registrándose diferencias significativas en el tamaño con respecto al control (Figuras N° 6.39).

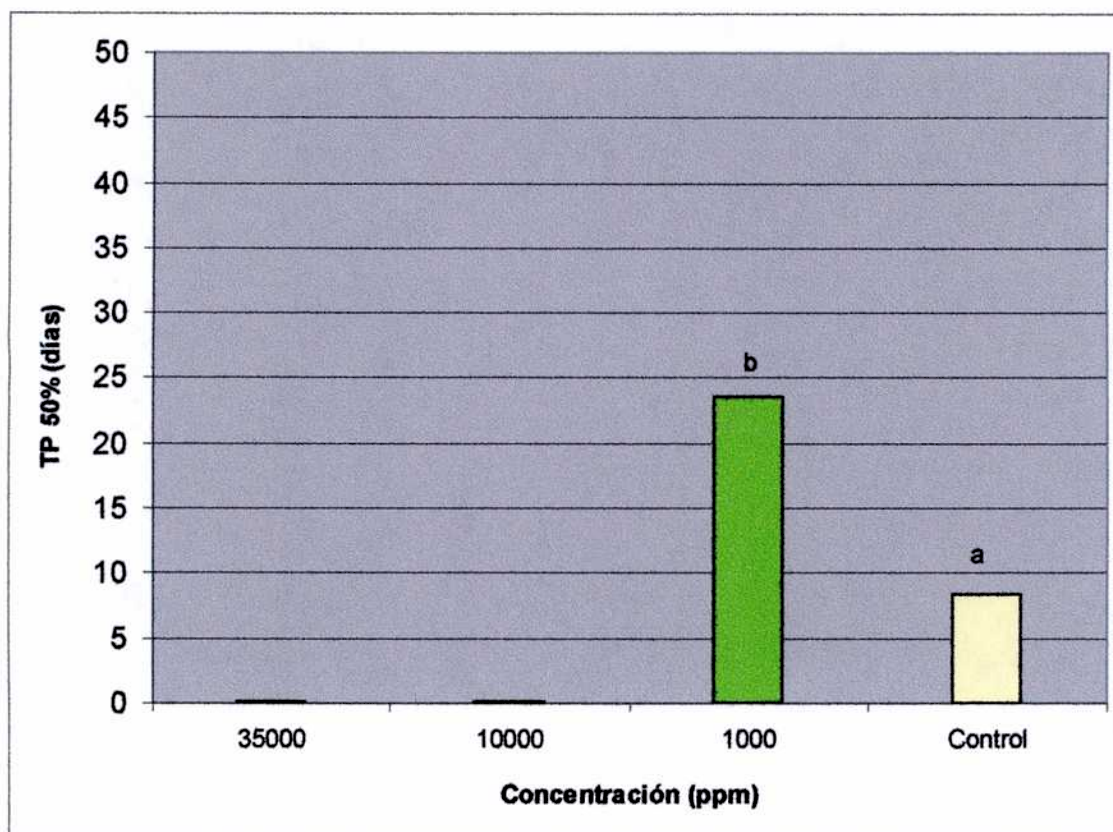


Figura N° 6.35: Tiempo de pupariación (días) del 50% de larvas criadas en dieta impregnada a tres concentraciones de extractos crudos de *P. peruviana*. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

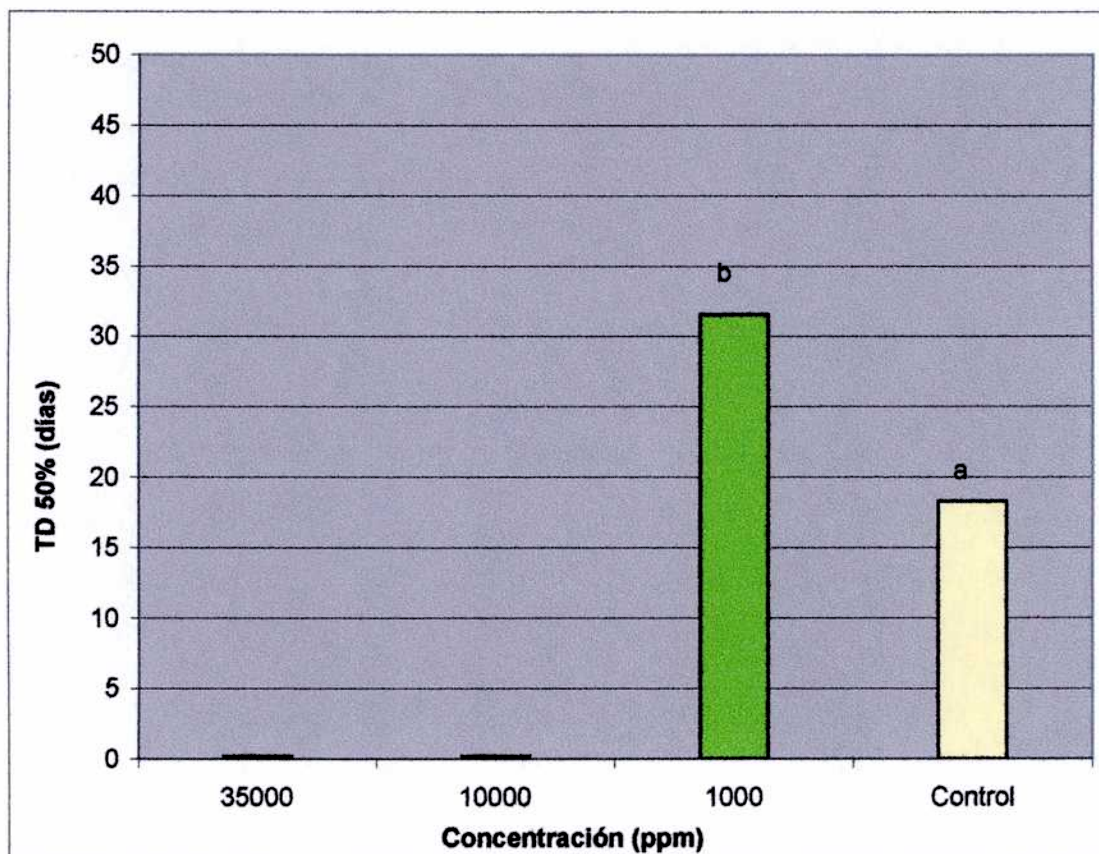


Figura N° 6.36: Tiempo de desarrollo 50% (días) de larvas criadas en dieta impregnada a tres concentraciones de extractos crudos de *P. peruviana*. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

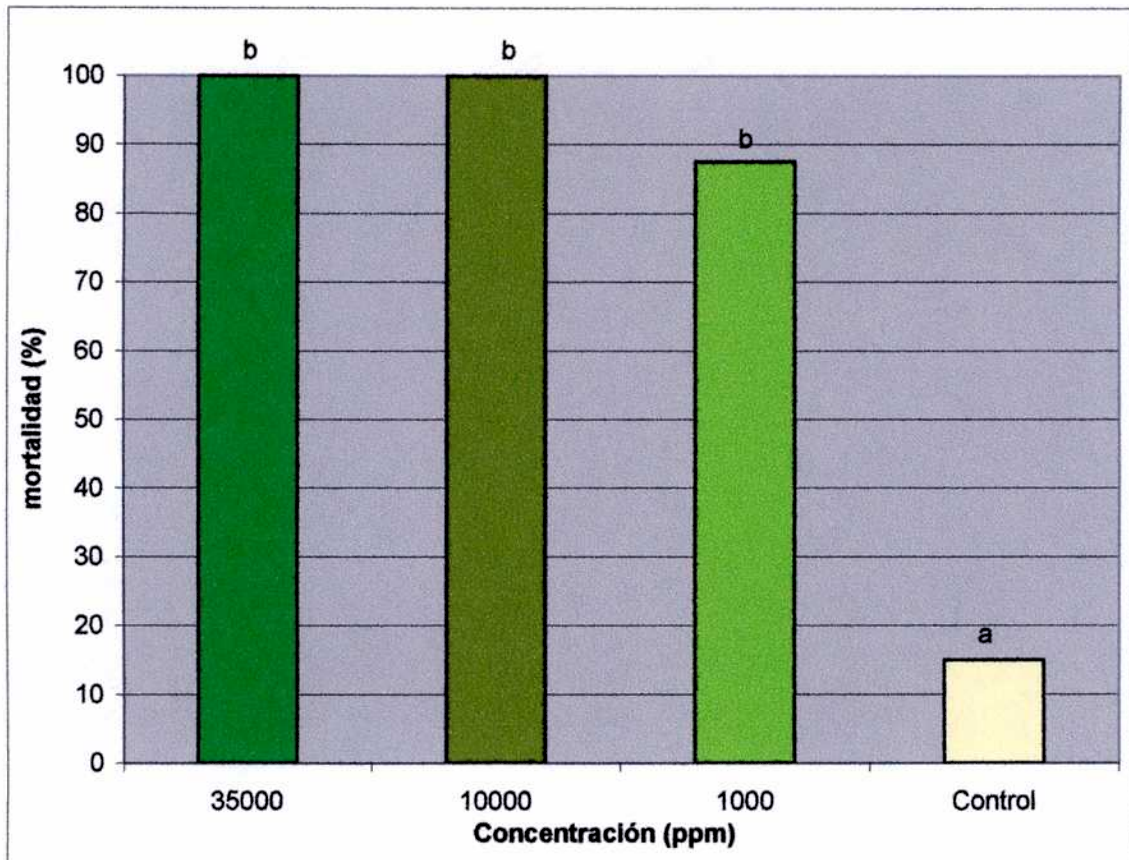


Figura N° 6.37: Mortalidad (%) de individuos de *C. capitata* criados en dieta impregnada a tres concentraciones de extractos crudos de *P. peruviana*. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).



Figura N° 6.38: Larvas de *C. capitata* desarrolladas en dieta artificial según Terán (1977) impregnada con extractos crudos de *P. peruviana* a una concentración de 1000 ppm.

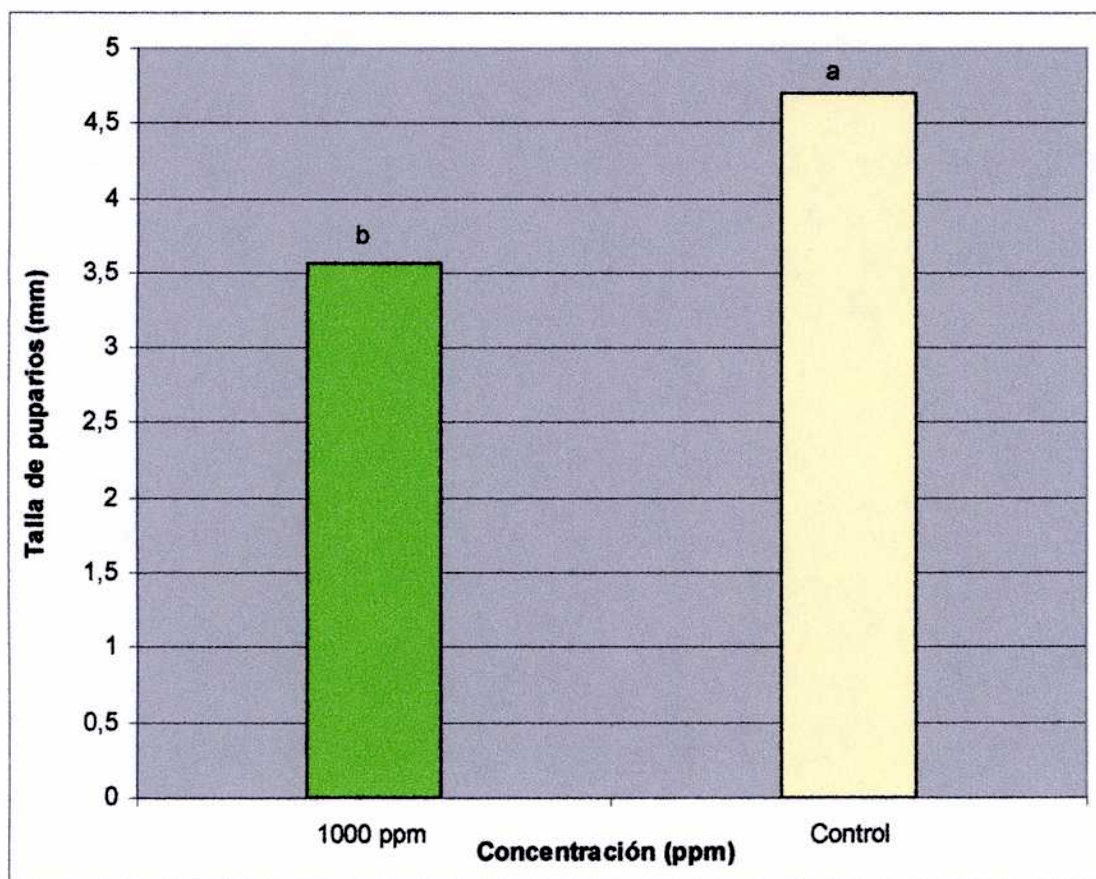


Figura N° 6.39: Talla de puparios (mm) de larvas criadas en dieta impregnada con extractos crudos de *P. peruviana* a una concentración de 1000 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 6: Efectos biológicos de extractos crudos de *Physalis peruviana* sobre la supervivencia y fecundidad de adultos de *C. capitata* expuestos a bebederos tratados.

El bioensayo consistió en ofrecer extractos de *P. peruviana* disueltos en agua mineral comercial usando como tensioactivo una gota de Tween 20 por ml a grupos de 10 adultos recién emergidos. Los controles sólo recibieron agua mineral comercial con el tensioactivo. La mortalidad fue registrada diariamente empleándose ANOVA para determinar el porcentaje de mortalidad en cada tratamiento (Figura N° 6.40 y Tabla N° 6.2).

La cantidad de huevos puesta durante los días 1 a 4 fue contada en el día 4, mientras que los huevos colocados durante los días 5 a 7, el día 7, obteniéndose para cada dosis el porcentaje de fecundidad respecto del número de sobrevivientes registrados los días 4 y 7. Dichos datos fueron sometidos a un análisis de varianza obviándose aquellos casos en que se contabilizaron huevos pero se produjo una mortalidad de 100%.

Se concluye que los extractos de *P. peruviana* no tuvieron efecto alguno en la fecundidad de los individuos (Figura N° 6.41).

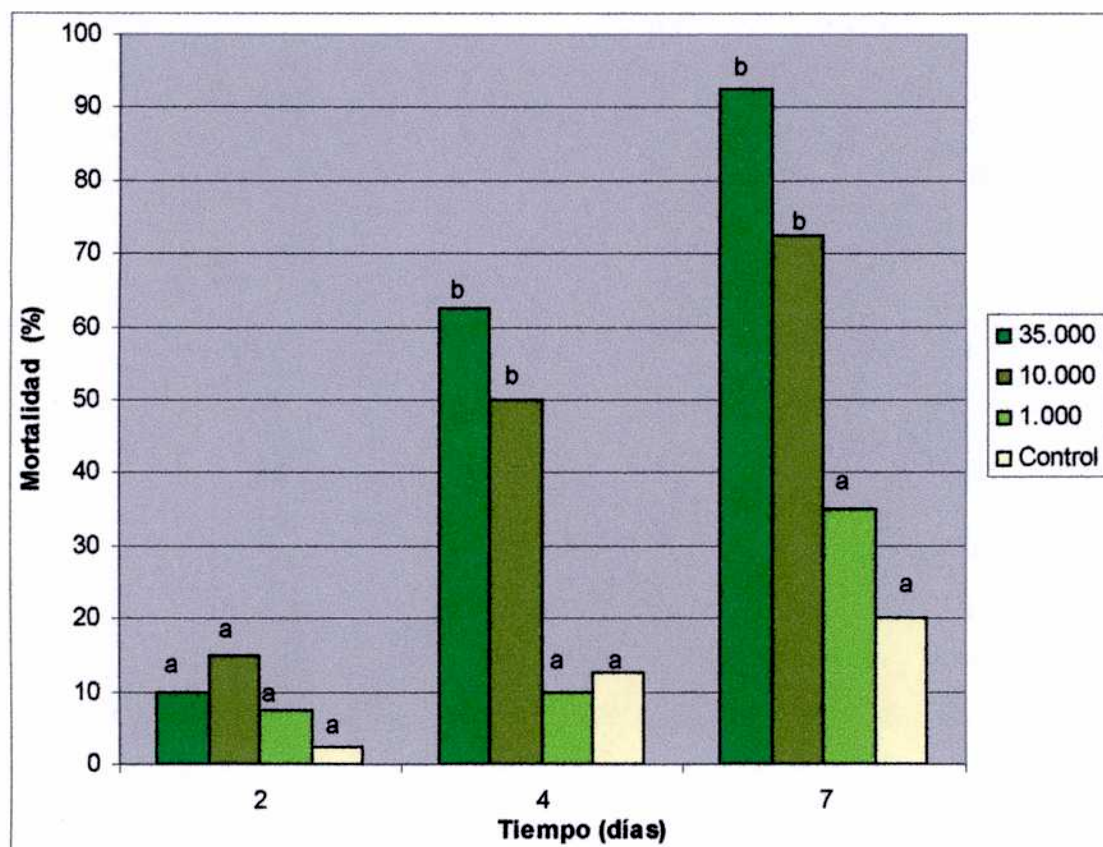


Figura N° 6.40: Mortalidad (%) de adultos de *C. capitata* obtenida con extractos crudos de *Physalis peruviana* incorporados en agua de bebederos a 35.000, 10.000 y 1.000 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

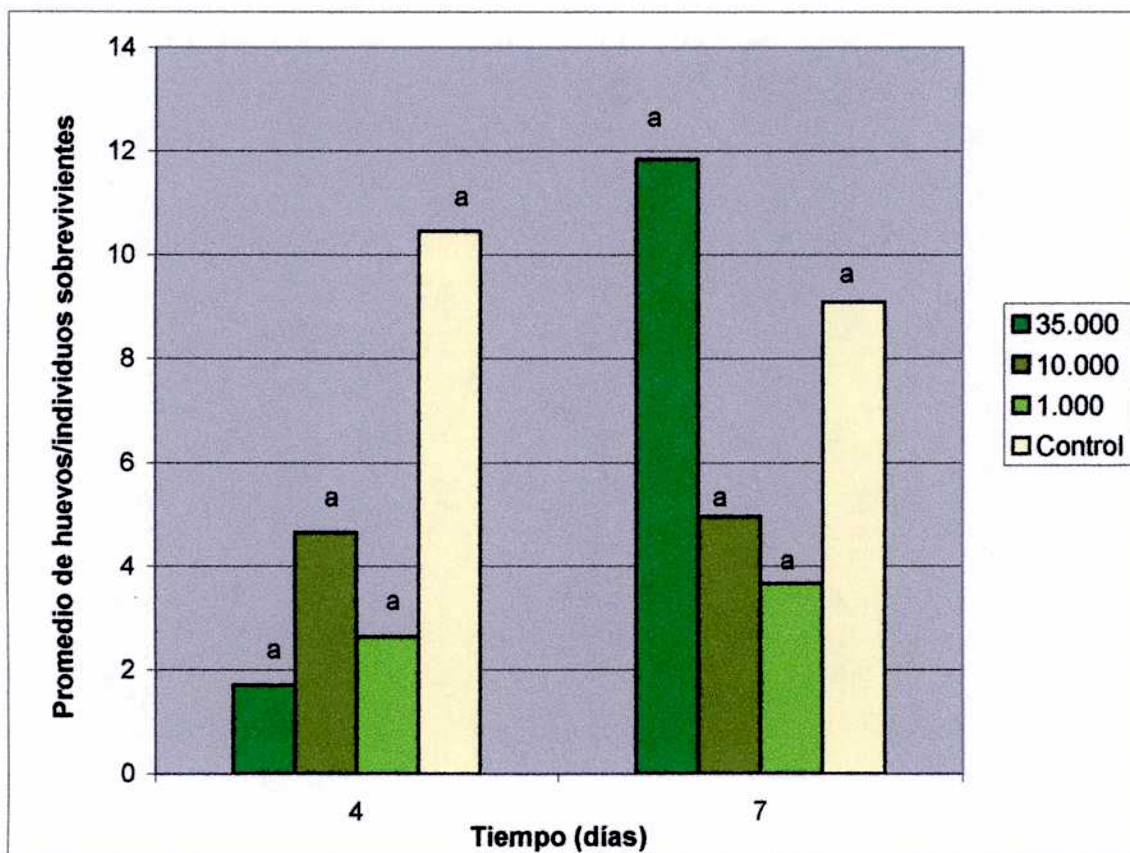


Figura N° 6.41: Fecundidad (N° de huevos/individuo sobreviviente) de adultos de *C. capitata* obtenida con extractos crudos de *Physalis peruviana* incorporados en agua de bebederos a 35.000, 10.000 y 1.000 ppm. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N° 7: Efectos biológicos de la jaborosalactona P (JP) sobre larvas de *C. capitata* por técnica de aplicación tópica.

Grupos de larvas de segundo estadio (n=10) fueron tratados con una solución alcohólica de jaborosalactona P (JP) por medio de la técnica de aplicación tópica. Los grupos controles fueron tratados sólo con alcohol.

Se calcularon los parámetros TP 50 % y TD 50% no obteniéndose en ninguno de los dos casos demoras en el desarrollo (Figuras N° 6.42 y 6.43).

Tampoco se hallaron diferencias significativas en los datos de mortalidad y tamaño de puparios mediante ANOVA y el prueba múltiple de Tukey ($p \leq 0.05$) (Figuras N° 6.44 y 6.45).

Los resultados hallados indican que la jaborosalactona P (JP) bajo esta metodología y dosis no produce efectos biológicos medibles sobre el desarrollo de *C. capitata*.

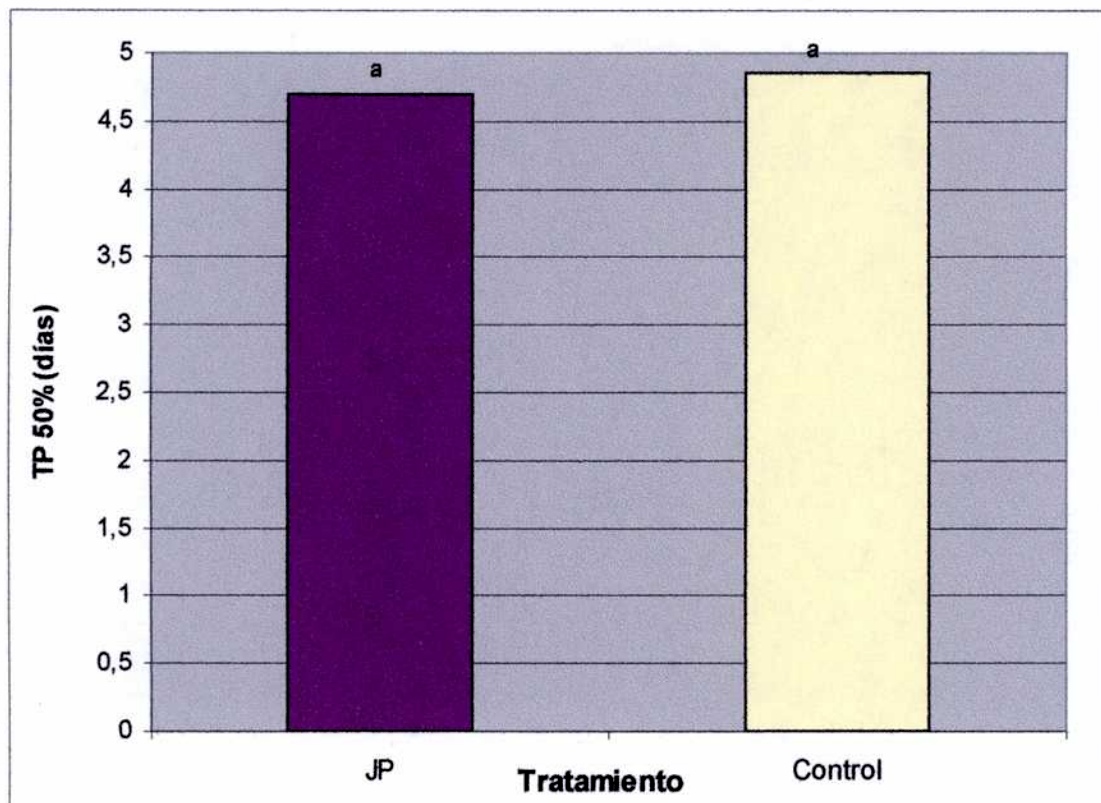


Figura N° 6.42: Tiempo de pupariación 50% (días) desde larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas con jaborosalactona P (JP) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

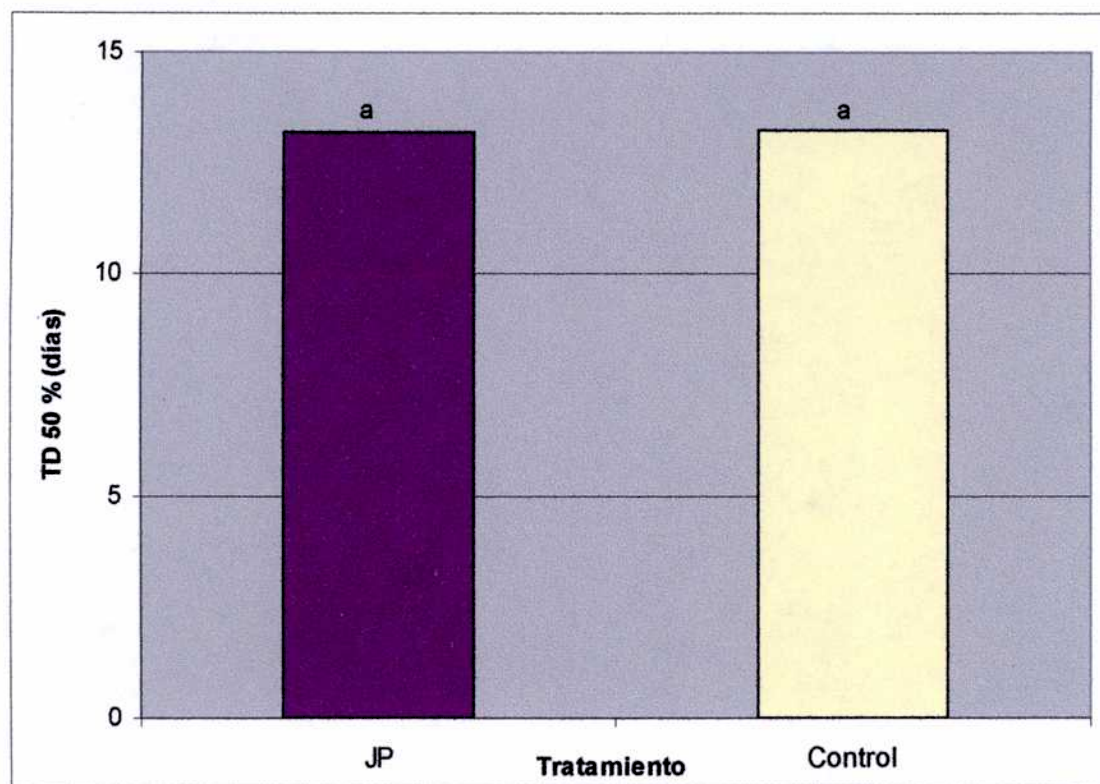


Figura N° 6.43: Tiempo de desarrollo 50% (días) desde larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas con jaborosalactona P (JP) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

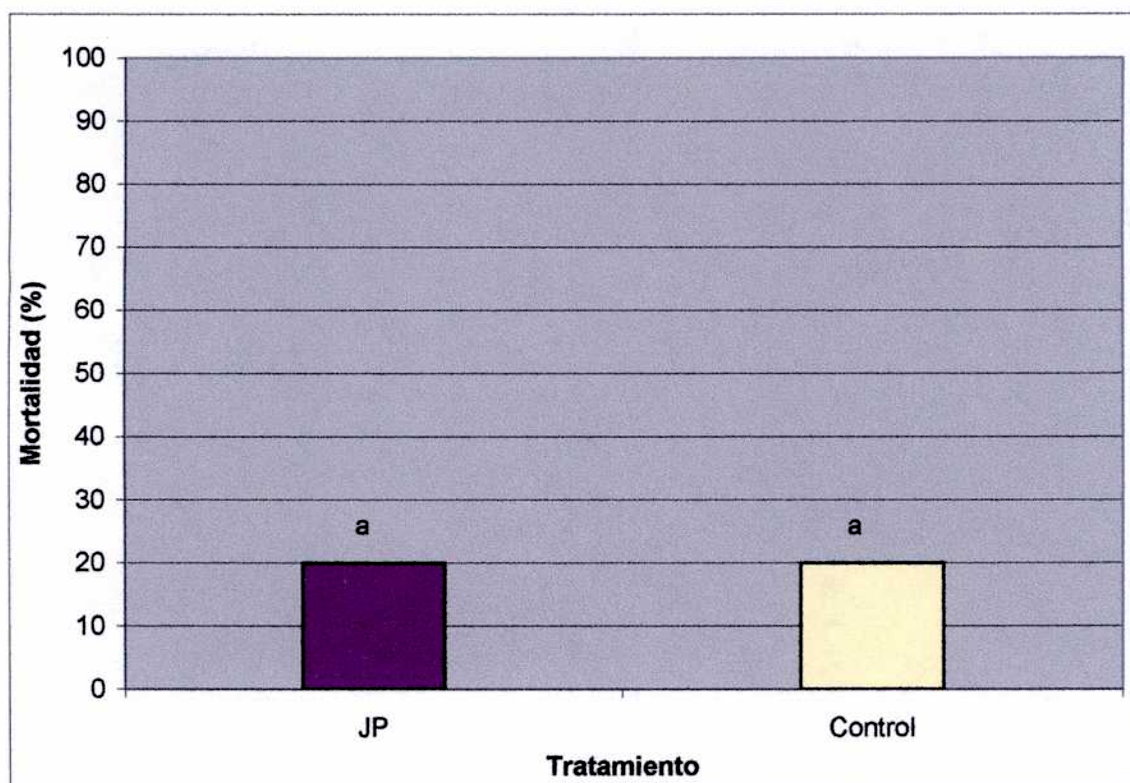


Figura N° 6.44: Mortalidad (%) de larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas con jaborosalactona P (JP) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

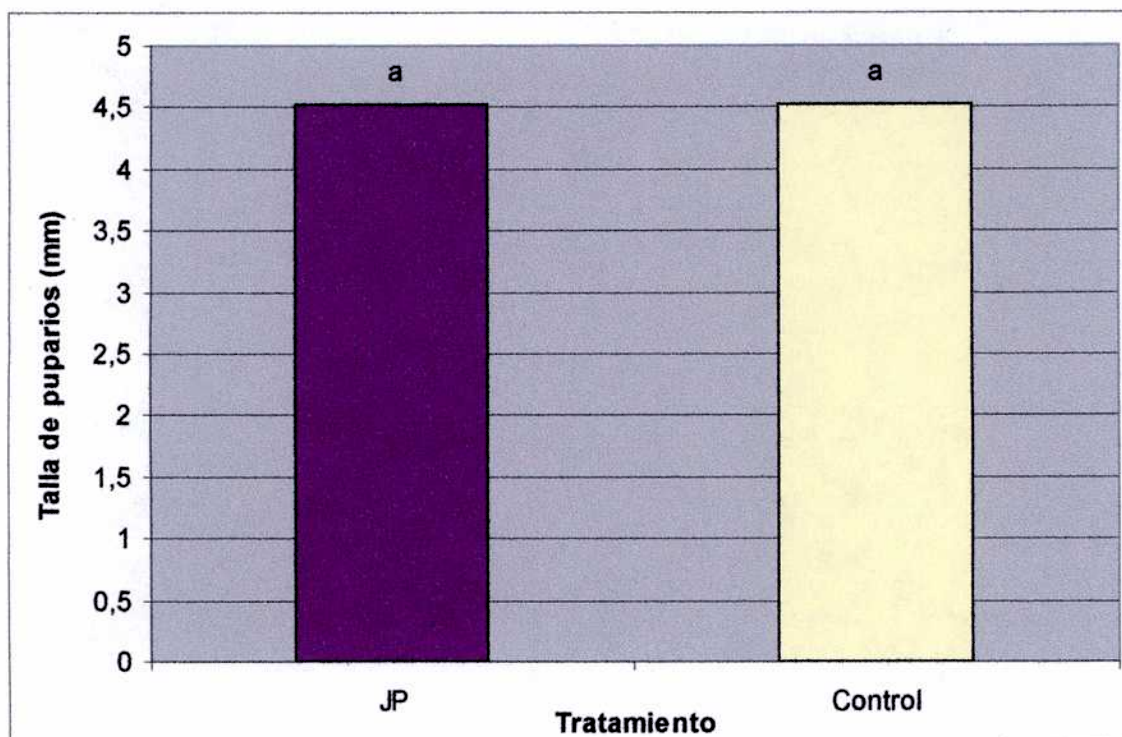


Figura N° 6.45: Talla de puparios (mm) de larvas de segundo estadio de *C. capitata* tratadas desde el segundo estadio con jaborosalactona P (JP) por técnica de aplicación tópica. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

TABLA N° 6.2: Porcentajes de demora calculados según fórmulas 1 y 2 * y mortalidad obtenida por los withanólidos que presentaron actividad biológica sobre el desarrollo de *Ceratitis capitata*

WITHANÓLIDO	DEMORA EN EL DESARROLLO (%)				MORTALIDAD (%)	
	DIETA DE LARVAS		APLIC. TOPICA		DIETA DE LARVAS	BEBEDORES DE ADULTOS
	TP	TD	TP	TD		
SA	96,64	46,05			47,5	70
SC	57,46					72,5
SG	58,02	20,78			37,5	75
SAH	27,61	11,69				
SAHR	117,16	29			77,5	
SAO	8,02	5,43				
SAREO	14,74					
SAREOA	13,25	2,65				
SB 500 ppm	-	-	-	-	100 - 95	82,5
	-	-	-	-	100	-
	250 ppm	156,53	62,21	-	18,41	-
	100 ppm	65,42	45,28	-	11,91	-
	50 ppm	32,08	19,70	-	9,51	-
PHYSALIS	25 ppm					
	35.000 ppm	-	-	-	100	92,5
	10.000 ppm	-	-	-	100	72,5
	1.000 ppm	182,06	72,40	-	87,5	-

*** (1) % de demora: $\frac{(\text{TP 50 tratado} - \text{TP50 Control}) \times 100}{\text{TD50 Control}}$ =**

(2) % de demora: $\frac{(\text{TD 50 tratado} - \text{TD50 Control}) \times 100}{\text{TD50 Control}}$ =

6.3- *Anticarsia gemmatalis*

Bioensayo N°1: Efectos biológicos de salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) incorporados en dieta para larvas sobre el desarrollo de *A. gemmatalis*.

Los salpicrólidos naturales fueron incorporados en solución alcohólica a la dieta de Greene et al. (1976) colocada en cajas de Petri. Se realizaron observaciones diarias hasta alcanzar el estado adulto con el fin de registrar el estado de desarrollo de las larvas así como su supervivencia. Dichos datos fueron procesados por el método Probit para la obtención de TP 50% y del TD 50%.

Los resultados obtenidos por medio del método Probit se hallan representados en las Figuras N° 6.46 y 6.47, donde se observa la ausencia de valores para el salpicrólido A (SA), lo que se debe a que este compuesto produjo una mortalidad de 100% de las larvas, no permitiendo el cálculo de los mencionados parámetros. Tanto el salpicrólido C (SC) como el G (SG), produjeron demoras significativas en el desarrollo de las larvas de *A. gemmatalis* (Figuras N° 6.46 y 6.47).

Las larvas presentaron diferencias significativas en su talla con respecto al control a partir de los dos días de transcurrido el bioensayo para el salpicrólido C (SC), mientras que el compuesto G (SG) lo fue a partir del sexto día (Figura N° 6.48), presentando a los 12 días sólo diferencias significativas con respecto al control el tratamiento con el salpicrólido G (SG).

Se hallaron diferencias significativas en la talla de las crisálidas obtenidas de larvas alimentadas con dieta tratada con los salpicrólidos C (SC)

y G (SG) (Figura N° 6.49) presentando algunas pupas deformaciones (12, 5 y 37,5 % para los salpicrólicos C y G, respectivamente).

En la Figura N° 6.50 se grafica la mortalidad de larvas de *A. gemmatilis* registrada a lo largo del bioensayo, obteniéndose en todos los tratamientos diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto del control.

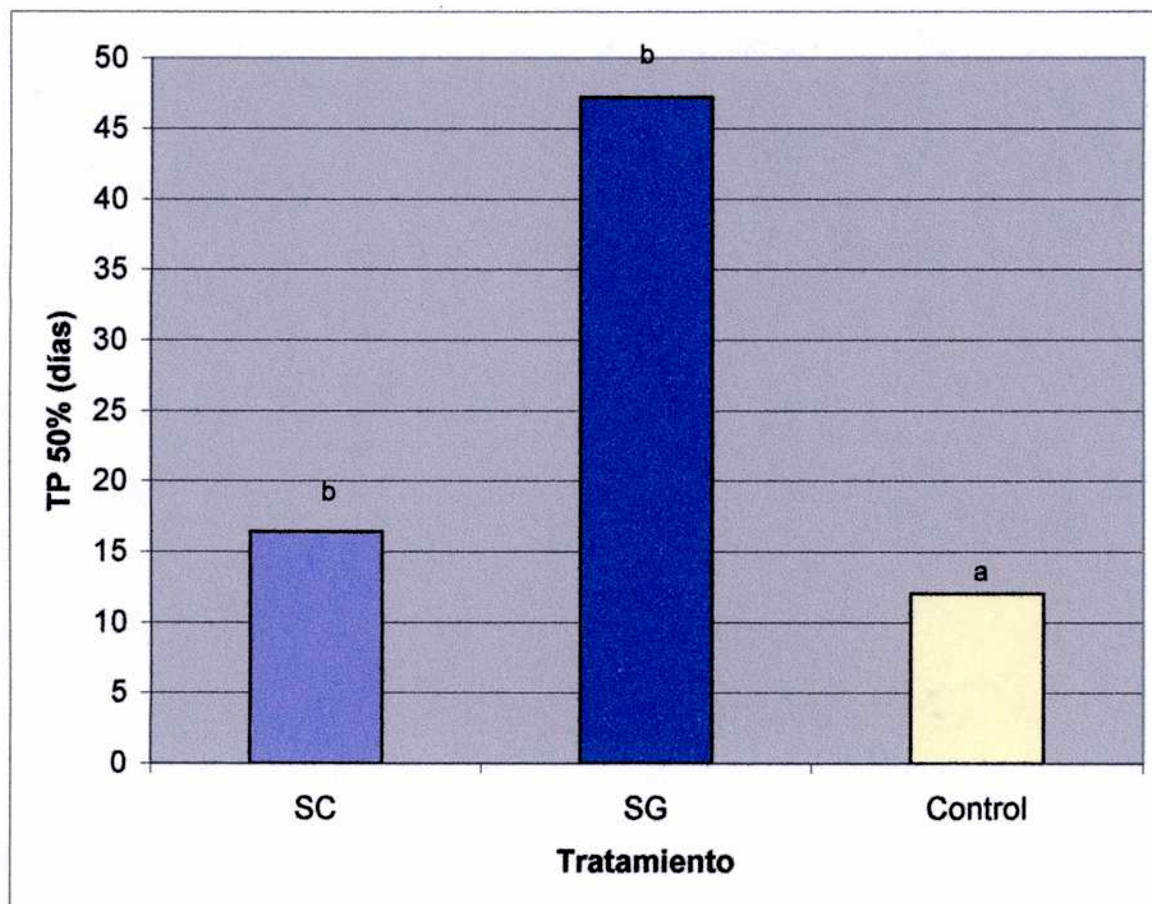


Figura N° 6.46: Tiempo de pupación 50 % (días) de larvas de *A. gemmatalis* alimentadas con dieta artificial de Greene et al. (1976) conteniendo los salpicrólidos naturales C (SC) y G (SG). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

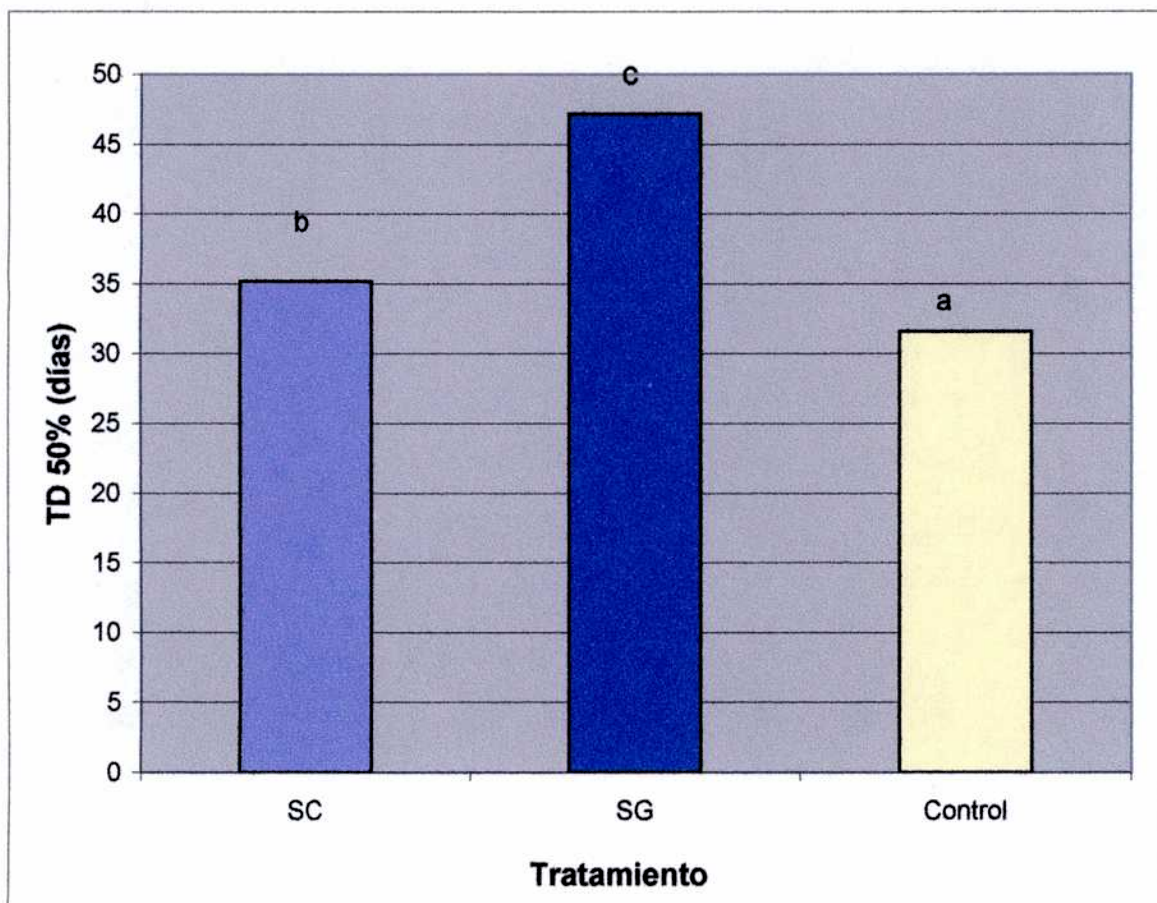


Figura N° 6.47: Tiempo de desarrollo 50 % (días) de larvas de *A. gemmatalis* alimentadas con dieta artificial Greene et al. (1976) conteniendo los salpicrólidos naturales C (SC) y G (SG). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

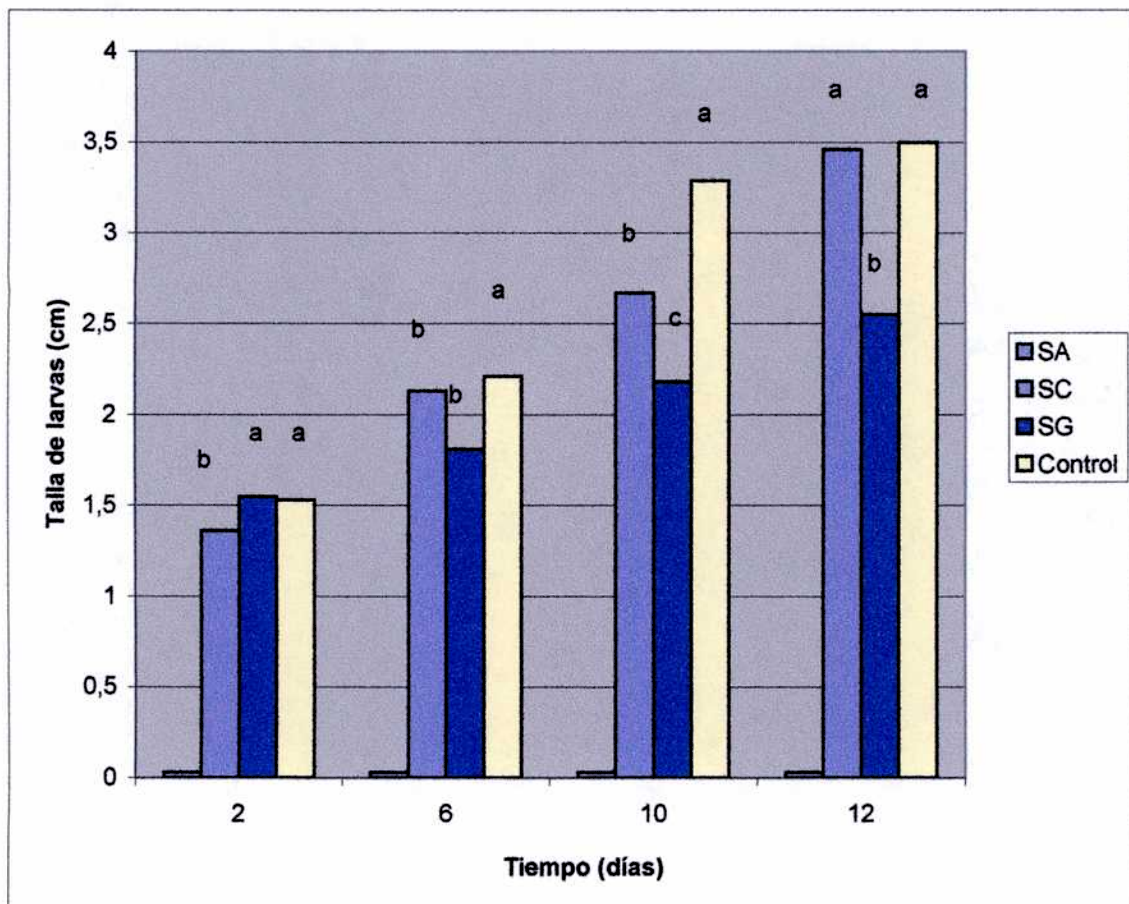


Figura N° 6.48: Talla de larvas de *A. gemmatilis* (cm) registrada en las observaciones realizadas los días 2, 6, 10 y 12 durante el ensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) incorporados en dieta artificial de Greene et al. (1976). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

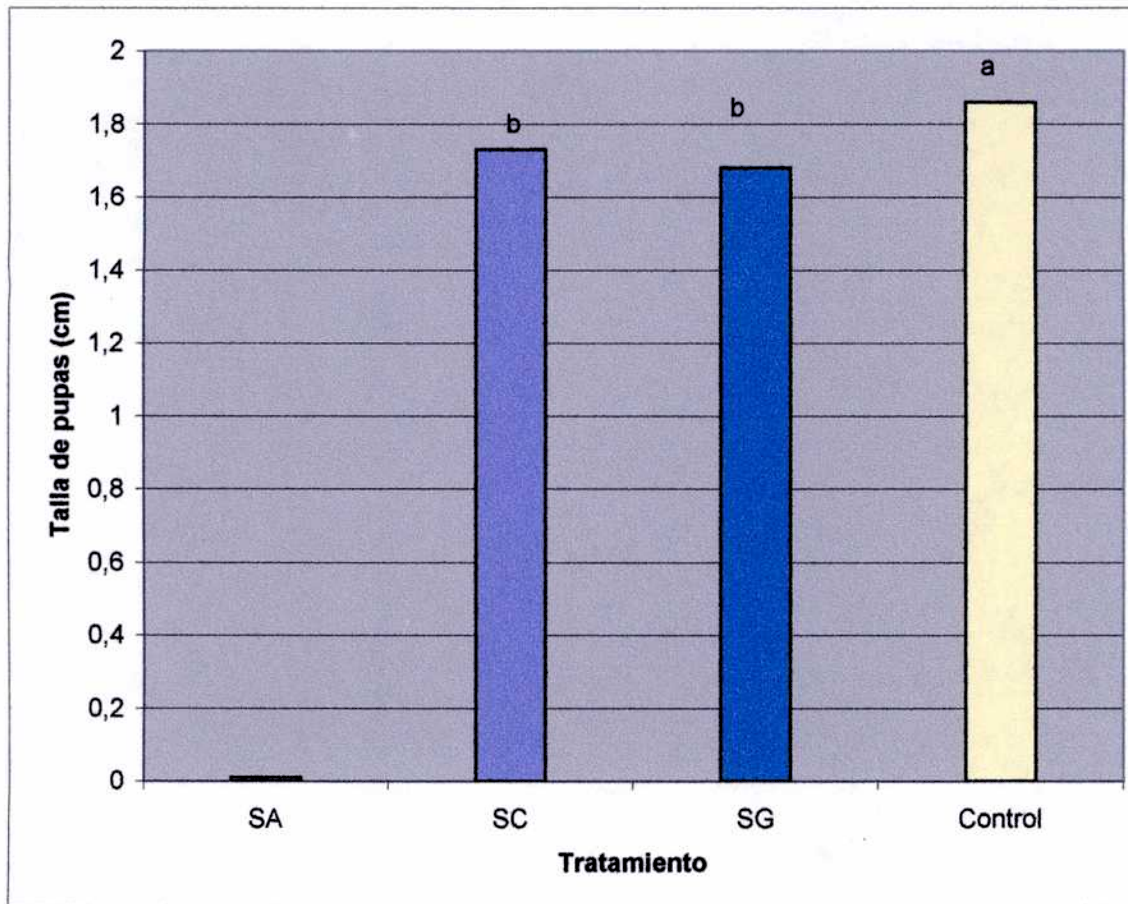


Figura N° 6.49: Talla media de pupas (cm) provenientes de larvas de *A. gemmatalis* alimentadas con dieta tratada con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

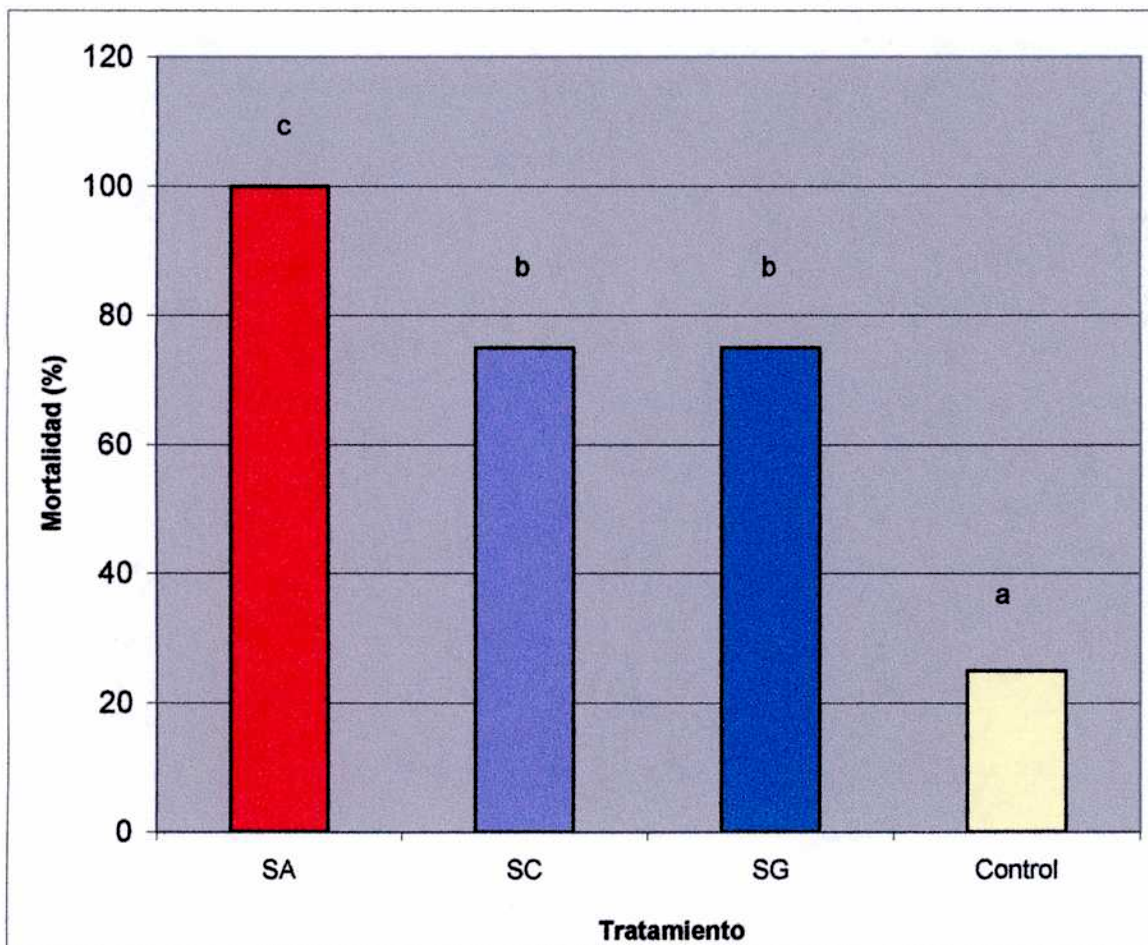


Figura N° 6.50: Mortalidad (%) de larvas de *A. gemmatalis* registrada en bioensayo con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) incorporados en dieta artificial de Greene et al. (1976). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Bioensayo N°2: Efectos biológicos de salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG), y jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10) sobre el desarrollo de larvas de *A. gemmatalis* alimentadas con discos foliares de soja.

Los compuestos fueron incorporados en solución alcohólica a una concentración de 500 ppm sobre discos de soja de 2 cm². Se colocaba tres larvas de quinto estadio por unidad muestral en el centro de la arena experimental. Diariamente eran observadas con el fin de determinar el estado de desarrollo de los individuos, midiéndose su longitud y registrándose al mismo tiempo la mortalidad y la ingesta. Al alcanzar el estado pupal se midió la longitud de las crisálidas.

Las diferencias de ingesta entre tratamientos a las 24 hs (Figura N° 6.51), talla de pupas (Figuras N° 6.52 y 6.53) y los datos de mortalidad (Figura N° 6.54) obtenidos fueron analizados por medio de ANOVA y test de comparaciones múltiples de Tuckey ($p \leq 0,05$).

Se calculó el índice antialimentario mediante la fórmula $(1 - T/C) \times 100$ (Vaccarini y Bonetto, 1999) siendo T y C las áreas consumidas en discos tratados y control respectivamente.

En la Figura N° 6.51 se observa que el área foliar consumida por las larvas conteniendo los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG), fue significativamente menor que la de los individuos control. Al calcularse los índices de Vaccarini para dichos compuestos (Figura N° 6.52), los valores obtenidos en el caso de los salpicrólidos fueron significativamente mayores, lo que indica una gran actividad antialimentaria de estos compuestos, no así en el caso de las jaborosalactonas ensayadas.

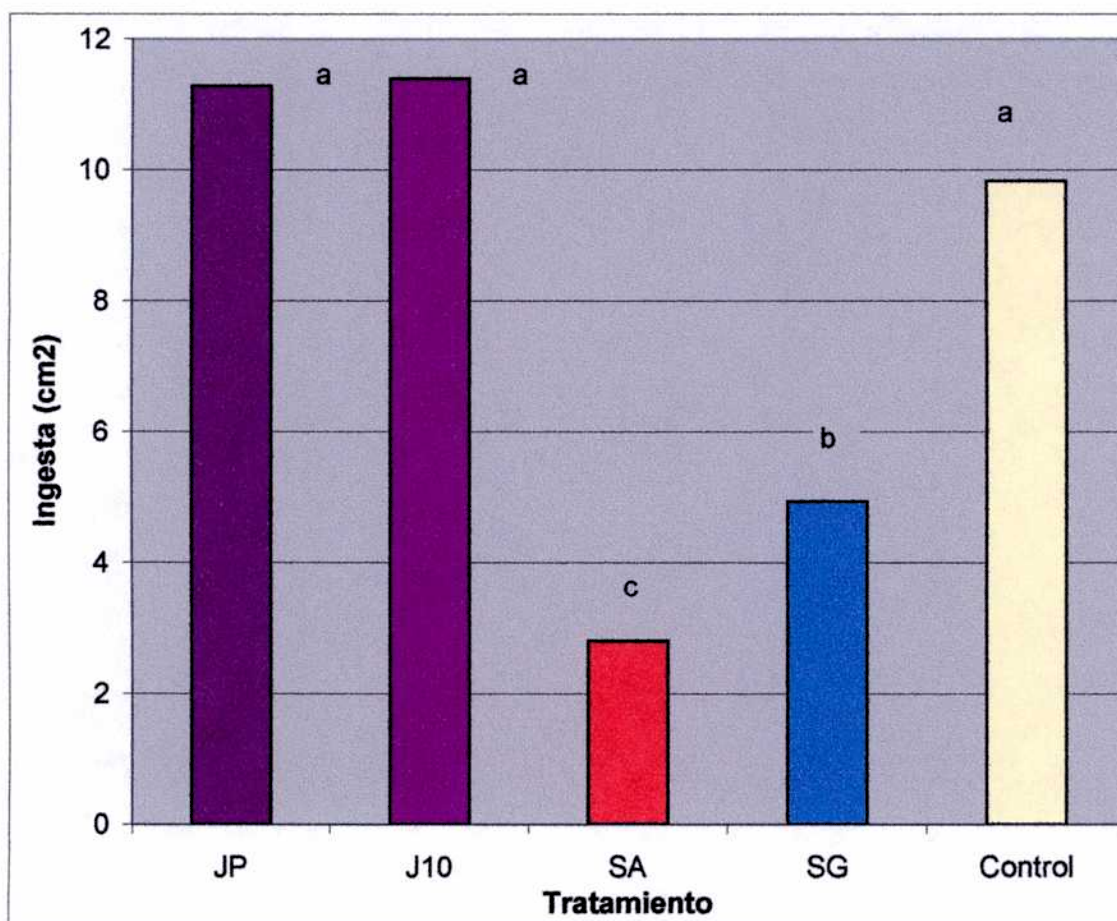


Figura N° 6.51: Area foliar de discos de soja impregnados con los salpicrólicos A (SA) y G (SG), y las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10), consumida por larvas de 5° estadio de *A. gemmatalis*. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

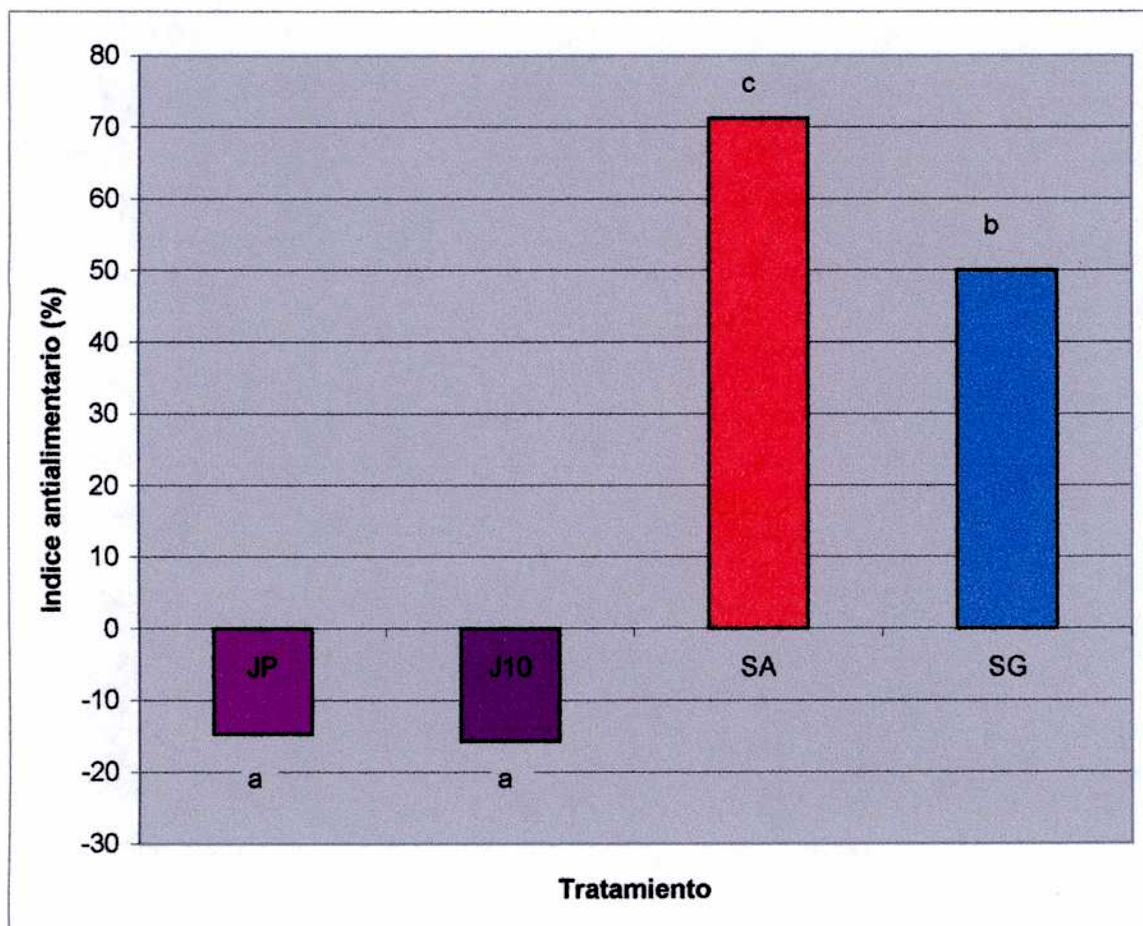


Figura N° 6.52: Índices antialimentarios (%) obtenidos en ensayo de discos foliares con los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) y las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

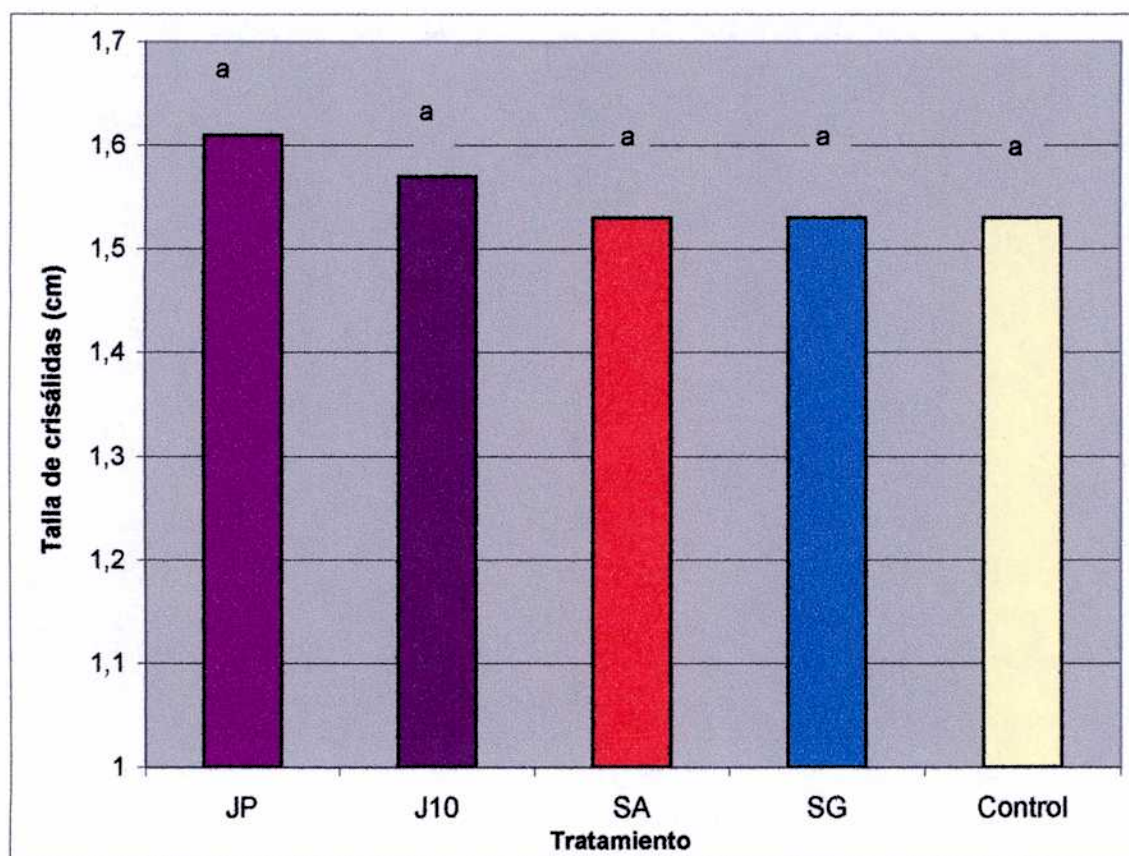


Figura N° 6.53: Longitud de crisálidas (cm) de *A. gemmatilis* registradas en ensayo de discos foliares impregnados con los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG) y las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

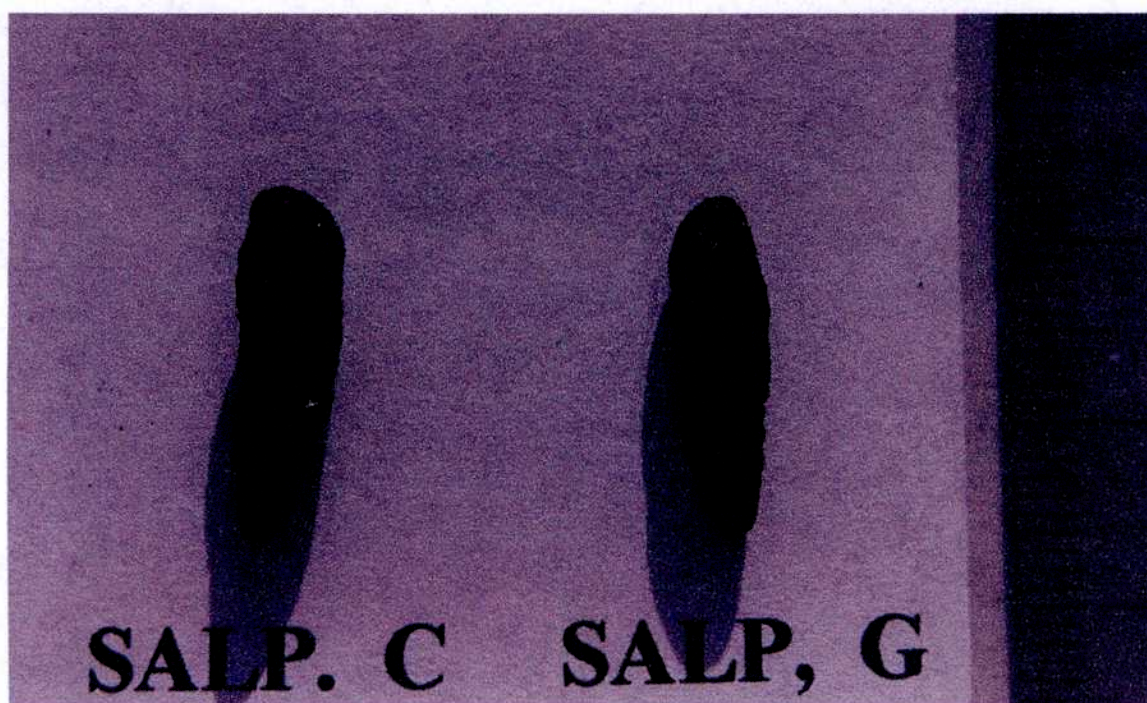


Figura N° 6.54: Pupas obtenidas de larvas de *A. gemmatalis* alimentadas con dieta artificial Greene et al. (1976) impregnada con salpicrólidos C (SC) y G (SG).

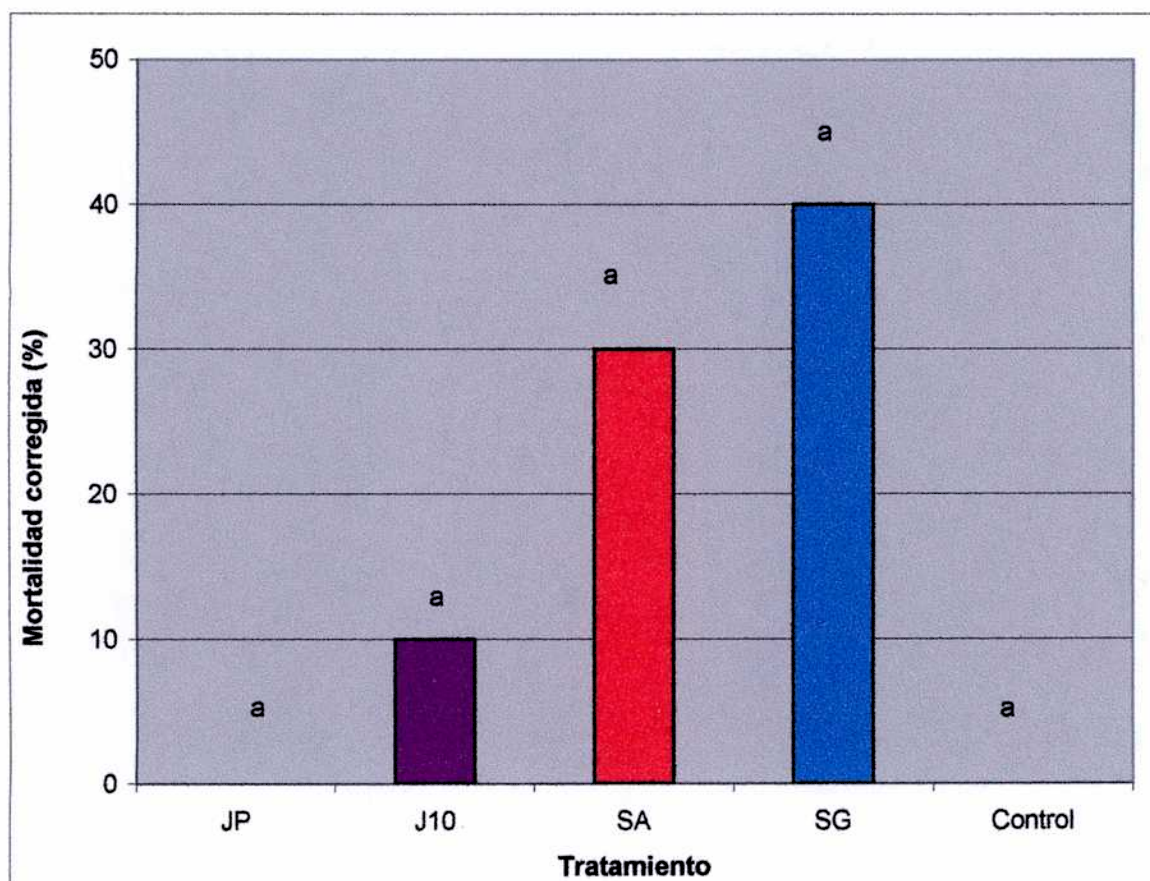


Figura N° 6.55: Mortalidad corregida (%) de individuos de *A. gemmatalis* obtenida en ensayo de discos foliares impregnados con los salpicrólidos naturales A (SA) y G (SG), y las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10). Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

TABLA N° 6.3: Porcentajes de demora calculados según formulas 1 y 2 * y mortalidad producida por los withanólidos que presentaron actividad biológica en el desarrollo de *Anticarsia gemmatalis* .

WITHANOLIDO	DEMORA EN EL DESARROLLO (%) (DIETA DE LARVAS)		MORTALIDAD (%) (DIETA DE LARVAS)
	TP 50%	TD 50%	
SA	-	-	100
SC	36,07	11,27	75
SG	56,22	49,36	75

* (1) % de demora: $\frac{(\text{TP 50 tratado} - \text{TP50 Control})}{\text{TD50 Control}} \times 100 =$

(2) % de demora: $\frac{(\text{TD 50 tratado} - \text{TD50 Control})}{\text{TD50 Control}} \times 100 =$

6.4- *Diabrotica speciosa*

Bioensayo N°1: Efectos biológicos de salpicrólidos naturales A, C, G y B incorporados en discos foliares de soja sobre adultos.

Con el fin de estudiar los posibles efectos biológicos que pudieran causar los salpicrólidos naturales A, C y G y el análogo derivado por síntesis química salpicrólido B (SB) sobre individuos adultos de *D. speciosa*, estos fueron incorporados en soluciones alcohólicas sobre discos foliares de 2 cm² a una concentración de 500 ppm. Los discos fueron dispuestos en 6 unidades por caja de Petri incorporándose posteriormente tres adultos en el centro de cada una de ellas.

La superficie foliar consumida fue medida durante tres días consecutivos determinándose al mismo tiempo la mortalidad de los individuos. Al analizar los datos de superficie foliar consumida a las 24 y 48 hs (Figura N° 6.56) no se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Lo mismo ocurrió con los datos de mortalidad (Figura N° 6.57) por método ANOVA y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$) no hallándose diferencias entre los tratamientos.

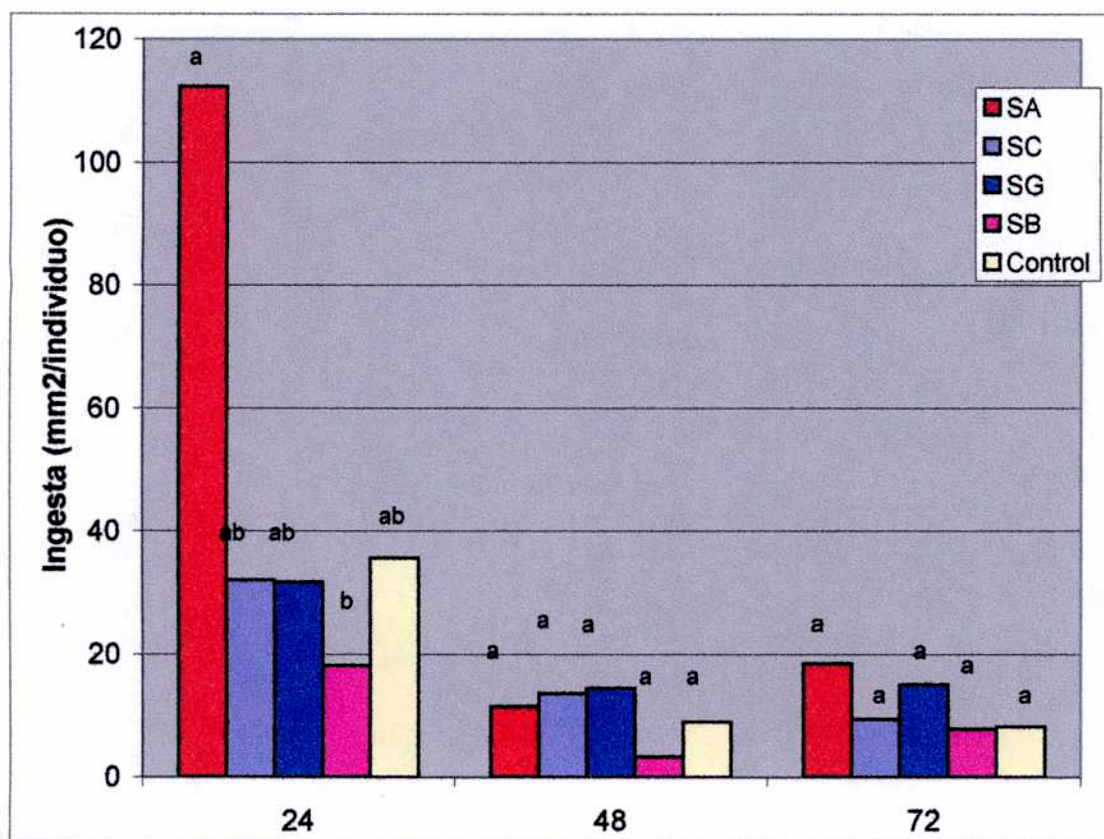


Figura N° 6.56: Area foliar consumida (mm²) por adultos de *D. speciosa* alimentados con discos foliares impregnados con los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) y el salpicrólido B (SB), derivado por síntesis del salpicrólido A. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

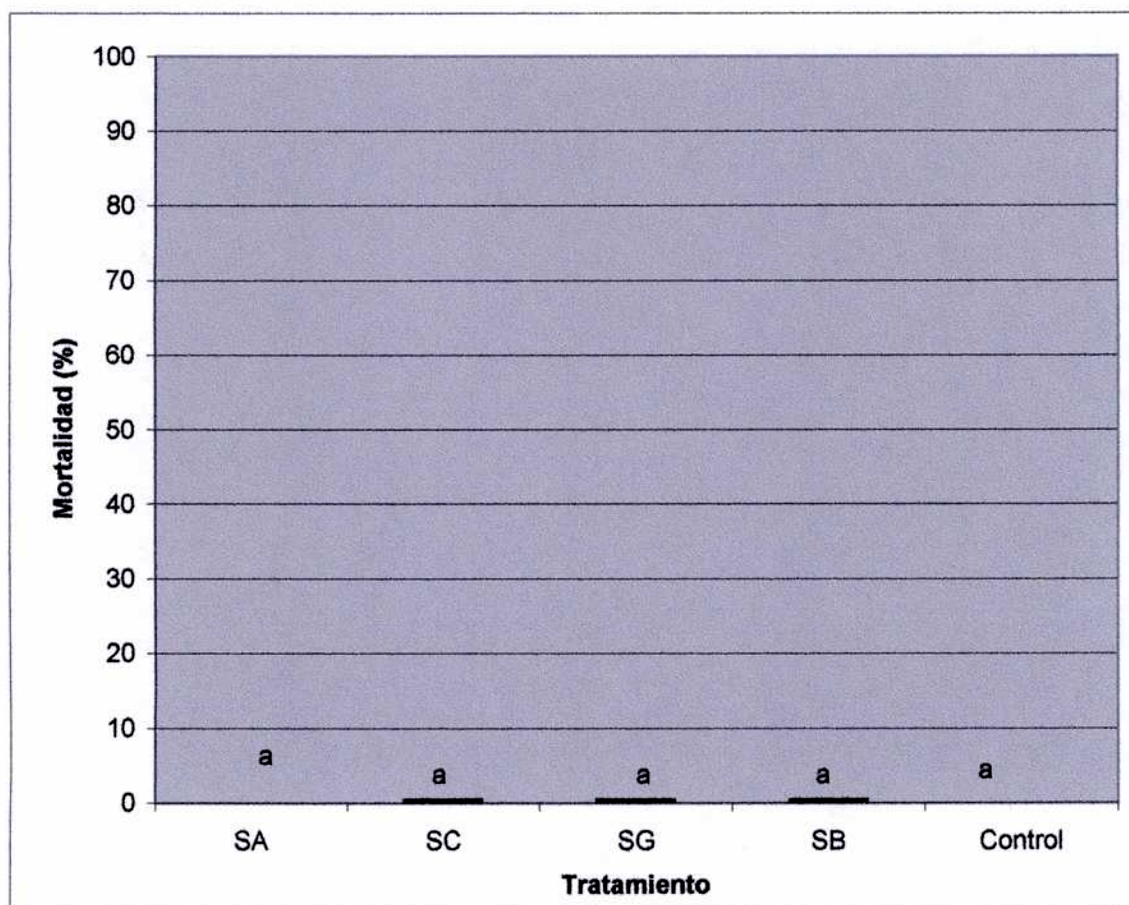


Figura N° 6.57: Porcentaje de mortalidad de adultos de *D. speciosa* alimentados con discos foliares impregnados con salpicrólidos naturales A (SA), C (SC), G (SG) y el salpicrólido B (SB), derivado síntesis del salpicrólido A. Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

6.5- *Lema bilineata*

Bioensayo N°1: Preferencia alimentaria hacia tres Solanaceae (Solanoideae): posibles defensas químicas

En observaciones de campo previas a este bioensayo se registró que en cultivos aledaños de *Physalis peruviana* y *Solanum gilo*, tanto *P. peruviana* como la maleza *S. organifolia* constituían una fuente de alimento apropiada para el coleóptero *L. bilineata*, mientras que *S. gilo* no presentaba daños. Estas observaciones llevaron a analizar la ingesta de *L. bilineata* en condiciones estandarizadas sobre las tres Solanoideae mencionadas, interpretando los resultados de preferencia alimentaria a la luz de su constitución química.

La preferencia alimentaria se evaluó de modo directo, a través de la ingesta, e indirectamente, por medio de la permanencia sobre el alimento, parámetro que en los insectos fitófagos está directamente relacionado con el consumo de alimento. En todos los bioensayos las condiciones de cría fueron de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 5\%$ H. R. y fotoperíodo de 14 hs de luz. En ambos ensayos se empleó la metodología descrita por Kubo (1991).

El área foliar consumida fue medida durante tres días, calcando los discos foliares ofrecidos el día anterior sobre papel milimetrado, contabilizándose la superficie ingerida. De ese modo se obtuvo la ingesta realizada a las 24, 48 y 72 hs. Esta metodología básica se utilizó ofreciendo el alimento de dos modos distintos: elección simple (Figura N° 6.58) y múltiple (Figura N° 6.59).

En la Figura N° 6.58 se observa que a las 24 hs no se hallaron diferencias significativas de ingesta entre las tres especies de Solanaceae, debido al escaso consumo que realizaron las larvas en los tres tratamientos. A las 48 hs el consumo fue mayor en las larvas que se alimentaban con *P. peruviana* solamente; sin embargo no se halló diferencia significativa entre dicho consumo y el de *S. organifolia*, ni entre *S. organifolia* y *S. gilo*. Sólo a las 72 hs se observaron diferencias significativas entre las especies *P. peruviana* y *S. organifolia* con *S. gilo*.

En el ensayo de elección múltiple (Figura N° 6.59) las larvas consumieron tanto *P. peruviana* como *S. organifolia*, pero no *S. gilo*, no hallándose diferencias significativas entre el consumo de *P. peruviana* y *S. organifolia* en ninguno de los tres momentos de observación.

Los ensayos de permanencia (Figuras N° 6.60 y 6.61) indicaron que a las 25 hs todas las larvas se orientaron hacia *S. organifolia*, permaneciendo sobre los discos de esta especie hasta la finalización del segmento horario A. Recién a las 73 hs de iniciado el ensayo (Figura N° 6.61), una hora después del cambio por otros frescos, se registró un cambio de conducta en la elección, ya que 10 % o más de los individuos eligieron los discos de *P. peruviana*, situación que se mantuvo hasta la finalización de las observaciones a las 75 hs. Posiblemente, esta mayor rapidez para reconocer a *P. peruviana* como alimento adecuado pudiera deberse al “aprendizaje” efectuado durante el transcurso del ensayo (Frazier y Chyb, 1995).

El hecho de que *S. gilo* no haya sido seleccionada como fuente de alimento en ensayos de elección simple (Figura N° 6.58) ni en ensayos de elección múltiple (Figuras N° 6.59, 6.60 y 6.61) indicaría que esta especie vegetal presenta defensas que actúan como barrera antialimentaria contra *Lema bilineata*. Las especies del género *Solanum* sintetizan glucoalcaloides

como metabolitos secundarios, compuestos que juegan un importante rol en la protección del tejido foliar del ataque por enfermedades y plagas (Vallin et al.,1996).

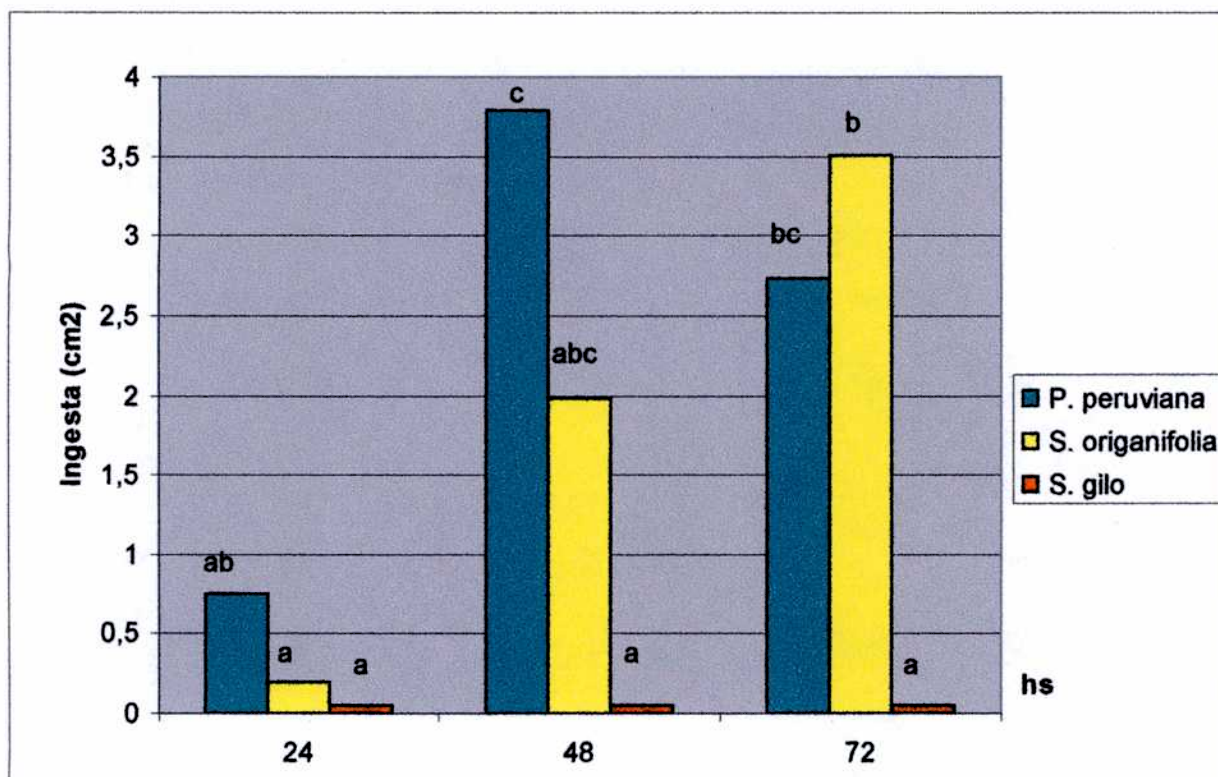


Figura N° 6.58: Ingesta en ensayo de elección simple de *L. bilineata* con tres especies de Solanaceae.

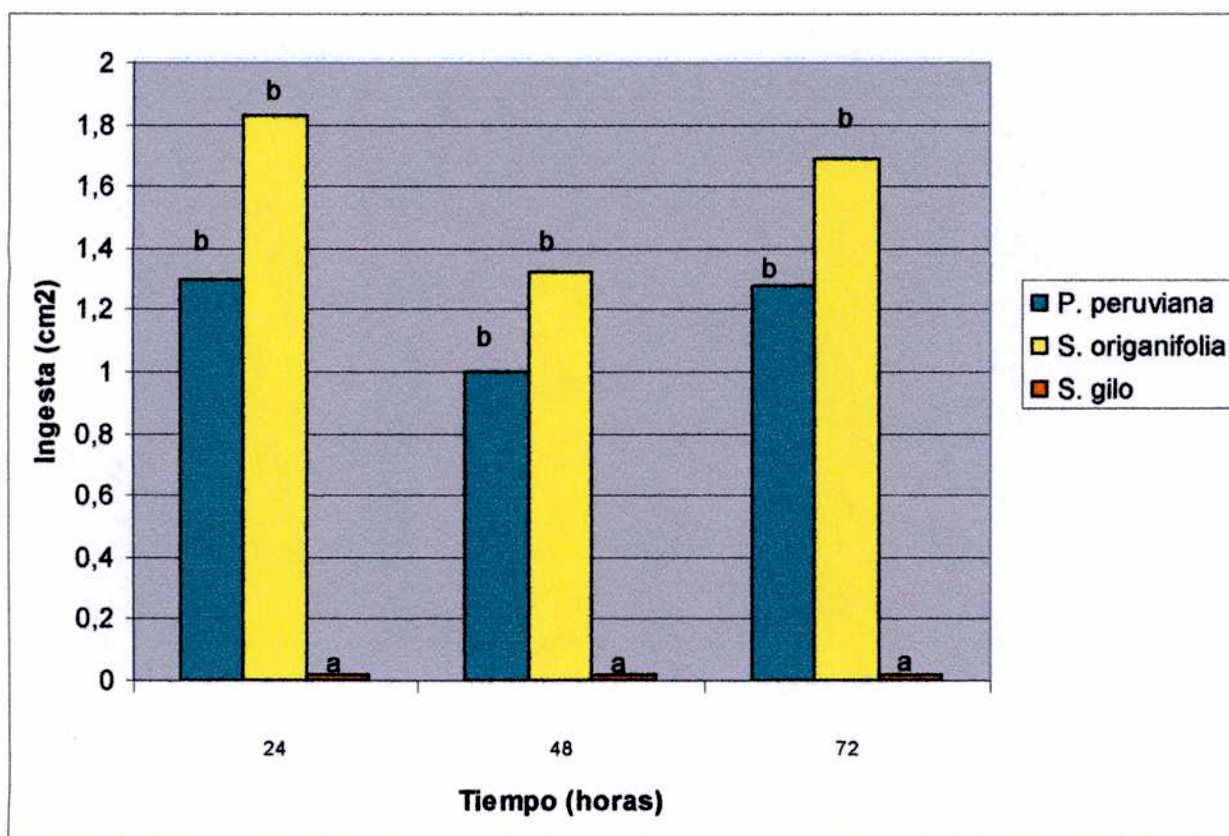


Figura N° 6.59: Ingesta en ensayo de elección múltiple de *L. bilineata* con tres especies de Solanaceae

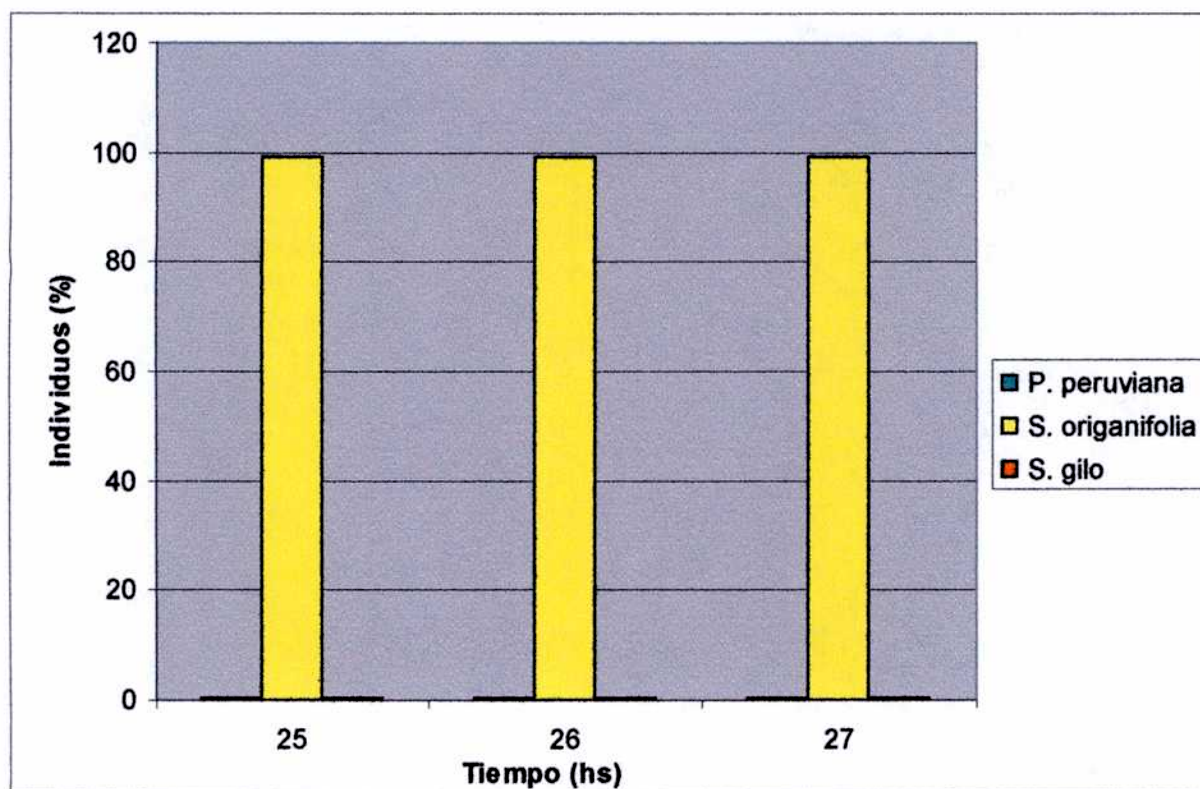


Figura N° 6.60: Permanencia de *L. bilineata* en tres especies de Solanaceae en el segmento horario A (25, 26 y 27 hs, a partir del inicio del experimento).

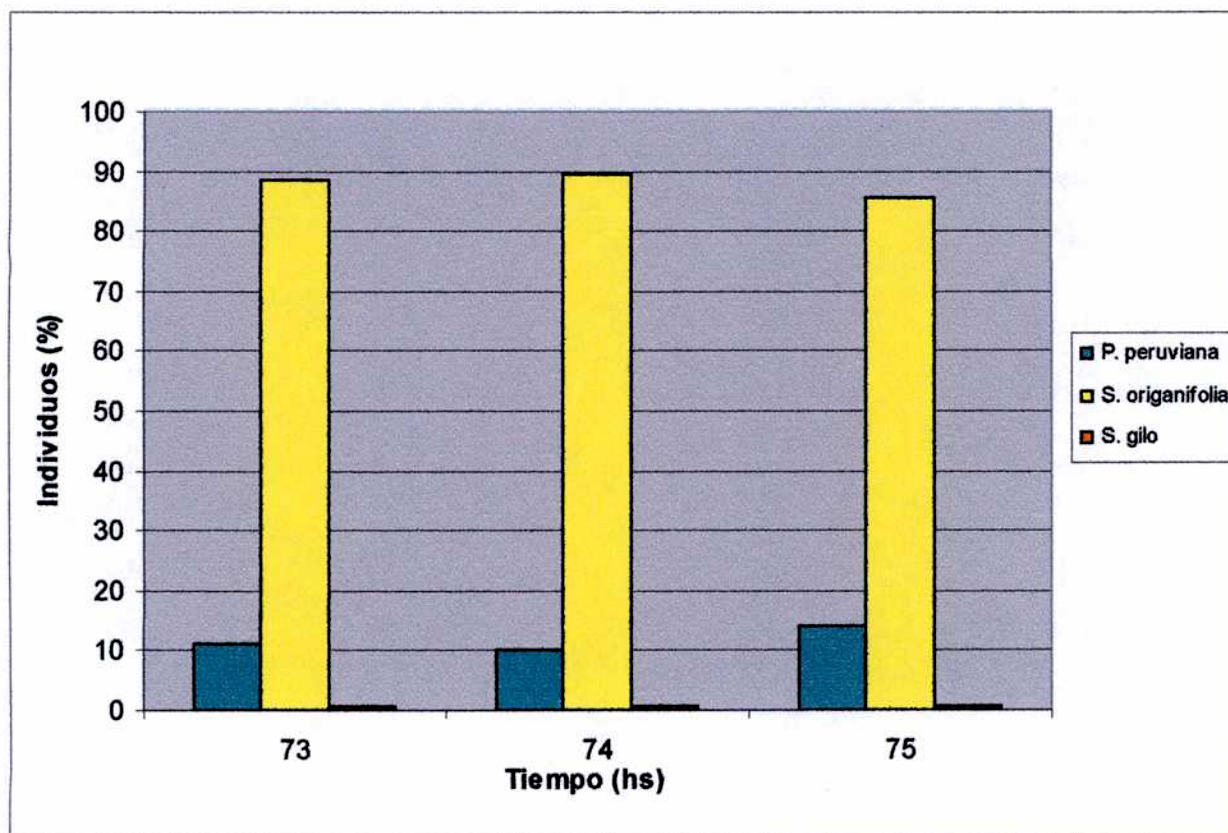


Figura N° 6.61: Permanencia de *L. bilineata* en tres especies de Solanaceae en el segmento horario B (73, 74 y 75 hs, a partir del inicio del experimento).

7- DISCUSION

7.1- Bioensayos con *Nicandra physaloides*

Ninguno de los withanólidos evaluados en este trabajo de Tesis sobre *Tribolium castaneum* produjo efectos letales, registrándose con algunos de ellos efectos subletales que consistieron principalmente en demoras en el desarrollo (Figuras N° 6.12 y 6.13), hallándose sólo en el caso de la nicandrenona (N) alteraciones morfológicas en el estado de pupa.

Las mayores demoras en el desarrollo de larvas de *T. castaneum* hasta el estado pupal fueron producidas por la nicandrenona (N) (Tabla N° 6.1), cuya actividad antiherbívora fue determinada por primera vez al ser evaluada contra el lepidóptero *Manduca sexta* (Nalbandov et al., 1964). Ascher, Nemmy et al. (1980) hallaron actividad antialimentaria de este compuesto al evaluarlo sobre *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera), pero no sobre los lepidópteros *Spodoptera littoralis* y *Heliothis virescens*.

Los resultados hallados con nicandrenona (N) sobre el desarrollo de larvas de *T. castaneum* pueden ser analizados comparando su estructura química con la del salpicrólido A (SA), withanólido mayoritario de *Salpichroa origanifolia*, y la del withaferoxólido, extraído de la solanácea *Datura ferox* (Figura N° 5.5), compuestos que también causaron demoras en el desarrollo del coleóptero al ser incorporados en alimento a 500 ppm (Mareggiani, Picollo, Veleiro et al., 2002). Los anillos sustituidos C y D de la estructura policíclica y la cadena lateral de la nicandrenona (N) resultan

idénticos a los del salpicrólido A, mientras que los anillos A y B resultan idénticos a los del withaferoxólido (Figura N° 5.5),.

7.2- Bioensayos con *Jaborosa odonelliana*

Al evaluarse dos de los withanólidos mayoritarios extraídos de *J. odonelliana* sobre larvas de *T. castaneum*, se halló que la jaborosalactona P (JP) produjo las mayores demoras en el desarrollo al ser incorporada a una concentración de 500 ppm en alimento (Tabla N° 6.1), lo cual no ocurrió en el caso de la jaborosalactona 10 (J10) (Figura N° 6.16 y 6.17).

Sin embargo, la jaborosalactona P (JP) no causó efectos negativos sobre el desarrollo de larvas de quinto estadio de *T. castaneum* al ser aplicada por la técnica de aplicación tópica (Figura N°6.19), ni al ser incorporada sobre los últimos urotergitos de larvas de segundo estadio de la “mosca de los frutos”, *Ceratitis capitata* (Figuras N° 6.42 y 6.43), sugiriendo estos resultados que no existiría acción por contacto en el caso de este withanólido.

Las jaborosalactonas P (JP) y 10 (J10), al ser evaluadas sobre larvas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas con discos foliares de soja tratados, no causaron efectos sobre su desarrollo, ni acción antialimentaria, lo cual puede evidenciarse en los valores negativos de los índices obtenidos (Figura N° 6.52).

De lo expuesto se deduce que la jaborosalactona P (JP) sólo presenta actividad antialimentaria sobre larvas de *T. castaneum* al ser incorporado en dieta artificial.

7.3- Bioensayos con *Salpichroa origanifolia*

De los salpicrólidos evaluados en este trabajo de Tesis (salpicrólidos A, C, G y B y varios análogos sintéticos de los mismos), el salpicrólido A (SA), al ser incorporado en la dieta de *Tribolium castaneum*, produjo leves efectos subletales ya que las demoras producidas en el desarrollo fueron manifestadas sólo hasta el estado pupal (Figuras N° 6.1 y 6.2).

Sin embargo, al ser aplicado tópicamente sobre larvas de quinto estadio produjo diferencias significativas en el desarrollo hasta el estado adulto (Figuras N° 6.9 y 6.10), lo que indicaría un posible efecto por contacto.

El mismo compuesto, al ser evaluado sobre larvas de *Ceratitis capitata* indicó un importante porcentaje de demora en el desarrollo (Figuras N° 6.21 y 6.22) (Tabla N° 6.2), registrándose además una elevada mortalidad de individuos (Figura N° 6.23 y Tabla N° 6.2), efecto que también produjo al ser incorporado en bebederos de adultos (Figura N° 6.33 y Tabla N° 6.2).

Sobre larvas de segundo estadio del lepidóptero *Anticarsia gemmatilis* produjo 100 % de mortalidad en 24 horas (Figura N° 6.50 y Tabla N° 6.3), mientras que sobre larvas de quinto estadio alimentadas con discos foliares de soja impregnados con una solución alcohólica del compuesto se obtuvo un

elevado índice antialimentario (Figura N° 6.52). Sin embargo, siguiendo idéntica metodología con adultos del coleóptero *Diabrotica speciosa*, el área foliar consumida no difirió significativamente del control (Figura N° 6.56).

En experiencias anteriores, Mareggiani (1999) halló que el salpicrólido natural A (SA) aplicado en alimento, produjo una demora significativa en el desarrollo de *T. castaneum* tanto a 500 como a 2000 ppm, además de elevada mortalidad y fallas en la emergencia de adultos. Se calculó un porcentaje de demora de aparición de adultos de 20 % con respecto al tratamiento control a la menor concentración, y de 86% en el caso de la mayor concentración.

Por técnica de actometría, tanto al ser aplicado sobre alimento a 2000 ppm como en papel a 14.000 ppm, y por el método de barrera a una concentración de 60.000 ppm, el salpicrólido A (SA) mostró efecto repelente sólo a elevadas concentraciones (Mareggiani, 1999). En *Musca domestica*, el salpicrólido natural A (SA) produjo 100% de mortalidad a una concentración de 2.000 ppm, impidiendo la formación de los puparios, mientras que a 500 ppm se determinaron fallas en el pasaje de pupa a adulto. Sin embargo, al ser evaluado sobre adultos de *M. domestica* incorporado en la dieta, no produjo efectos letales. Su actividad antialimentaria fue deducida al analizar los datos de tiempo de desarrollo 50% y de mortalidad de larvas de mosca doméstica criadas en un medio de bajo valor nutritivo. Estas no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de demora de desarrollo obtenido con el salpicrólido A (SA), así como en la talla de puparios y adultos de individuos tratados (Mareggiani, Picollo, Zerba et al., 2000).

Baldoni (1997) al evaluar la actividad del salpicrólido A (SA) sobre *Tenebrio molitor* paralelamente a otros compuestos (azadirachtina, jaborosalactona 2, el trechonólido A, α y β ecdisona y withaferina A) en forma de emulsiones incorporadas en rodajas de zanahoria (*Daucus carota*), observó que el salpicrólido A (SA) produjo un porcentaje de inhibición alimentaria similar al obtenido con la azadirachtina, antialimentario de reconocida acción, y con la jaborosalactona 2.

Sobre la base de los resultados mencionados se concluye que el salpicrólido A (SA) presenta actividad antialimentaria sobre la mayoría de las especies insectiles sobre las que fue evaluado, sugiriendo que además podría tratarse de un producto tóxico “per-se” debido a los efectos letales observados sobre larvas de *A. gemmatilis* y larvas y adultos de *C. capitata* (este trabajo de Tesis) y sobre larvas de *M. domestica* (Mareggiani, Picollo, Zerba et al., 2000) y de *T. castaneum* (Mareggiani, Picollo, Veleiro et al., 2002). Todos estos resultados lo convierten en un producto interesante para ser tenido en cuenta en futuras investigaciones, ya que reúne algunas de las características que resultarían deseables como compuesto antialimentario a ser empleado en el control de plagas: eficacia a bajas concentraciones, efectividad selectiva sobre un amplio espectro de especies de importancia agrícola, y diversos modos de acción (Ascher, 1992).

El salpicrólido natural C (SC), al ser incorporado a 500 ppm en la dieta de *T. castaneum*, no produjo efectos biológicos, coincidiendo con lo expresado por Mareggiani (1999) quien halló actividad biológica de este compuesto sobre el mencionado coleóptero y sobre *M. domestica* sólo a 2000 ppm, ocasionando, en este último caso, 100% de mortalidad.

En *C. capitata* sólo se observó demora en el desarrollo de larvas (Figuras N° 6.21 y 6.22, Tabla N° 6.2) no registrándose mortalidad significativa al ser incorporado en dieta artificial a 500 ppm (Figura N° 6.23), pero sí produjo elevada mortalidad al ser incorporado en solución acuosa en bebederos de adultos (Figura N° 33 y Tabla N° 6.2).

Este compuesto produjo demoras en el desarrollo de larvas de segundo estadio de *A. gemmatalis* al ser incorporado en la dieta artificial a 500 ppm (Figuras N° 6.46 y 6.47; Tabla N° 6.3), presentando además las crisálidas diferencias significativas de tamaño (Figura N° 6.49) y elevada mortalidad (Figura N° 50; Tabla N° 6.3).

En el caso de *D. speciosa* no se registraron diferencias significativas en el área consumida por adultos al ser incorporado en solución alcohólica sobre discos foliares de soja (Figura N° 6.56).

Por lo expuesto el salpicrólido C (SC) sólo presentaría actividad sobre larvas y adultos de los dípteros mencionados, principalmente a elevadas concentraciones, y sobre larvas del lepidóptero *A. gemmatalis*.

Al evaluarse la efectividad del salpicrólido G (SG) sobre larvas de *C. capitata* mediante su incorporación en dieta artificial, se observaron demoras en el desarrollo y mortalidad significativa (Figuras 6.21, 6.22 y 6.23; Tabla N° 6.2) mientras que al ser incorporado en solución acuosa en bebederos de adultos resultó ser altamente tóxico (Figura N° 6.33; Tabla N° 6.2).

En larvas de *A. gemmatilis*, al ser incorporado en dieta artificial causó significativas demoras en el desarrollo (Figuras N° 6.46 y 6.47; Tabla N° 6.3), observándose además diferencias significativas en la talla de larvas y de crisálidas (Figuras N° 6.48 y 6.49), e importante mortalidad (Figura N° 6.50; Tabla N° 6.3), mientras que al ser incorporado sobre discos foliares se obtuvo un elevado índice antialimentario (Figura N° 6.52).

Al ser evaluado sobre adultos de *D. speciosa* mediante su incorporación sobre discos foliares, no causó efectos biológicos significativos (Figuras N° 6.56 y 6.57).

Estos resultados coinciden con los de Mareggiani, Picollo, Zerba et al. (2000) y Mareggiani, Picollo, Veleiro et al. (2002). quienes observaron que el salpicrólido G (SG) produjo importantes demoras en el desarrollo de *T. castaneum* tanto a 500 como a 2.000 ppm, así como fallas en la emergencia, mientras que en *M. domestica* fue el compuesto más efectivo a 2000 ppm inhibiendo 100% del desarrollo.

De los resultados obtenidos con salpicrólidos naturales tanto en este trabajo de Tesis como en trabajos anteriores, se desprende que los salpicrólidos mayoritarios A (SA) y G (SG) resultan interesantes para continuar con estudios acerca de su actividad biológica y su posible uso como insecticida.

Como ya fue expuesto en la introducción de este trabajo de Tesis existe una correlación entre la concentración a la que estos compuestos se encuentran presentes estacionalmente en la planta con el incremento

poblacional de especie perjudiciales (Mareggiani, 2000). El total del contenido de withanólidos de *S. origanifolia* en una base de peso fresco, va desde 500 ppm (en invierno) a más de 3000 (en verano), tanto en hojas como en tallos, representando el salpicrólido A (SA) 85% del total, y de 450 ppm en frutos.

La concentración en que se hallan los salpicrólidos naturales en *S. origanifolia*, a pesar de que pueda resultar suficiente como defensa química natural, resulta baja para su obtención en cantidades suficientes para una aplicación masiva, la cual se agrava por la variación estacional que presentan (Veleiro, Burton et al., 1994). Es por ello que, teniendo como objetivo la búsqueda de nuevas sustancias insecticidas y la dilucidación de las estructuras químicas que pudieren causar tales efectos biológicos, se obtuvieron análogos sintéticos de ellos, siendo evaluada la actividad de algunos en este trabajo de Tesis.

Mareggiani, Picollo, Zerba et al. (2000) y Mareggiani, Picollo, Veleiro et al. (2002) ya evaluaron algunos compuestos derivados por síntesis de los salpicrólidos A (SA) y G (SG) sobre el desarrollo de *Tribolium castaneum* y *Musca domestica*. En el caso del coleóptero, la reducción del doble enlace 2-3 del salpicrólido A (SAH) produjo una significativa demora en el desarrollo, mientras que la acetilación del hemiacetal en la cadena lateral (SAA) u oxidación de la lactona (SA lactona) redujo el efecto observado drásticamente, no difiriendo significativamente del control. Tampoco redujo la actividad antialimentaria la reducción de la doble ligadura 2,3 del salpicrólido A (SAH) en *Musca domestica*. La oxidación de la cadena lateral a una lactona (SA lactona) eliminó la actividad biológica, mientras que la acetilación del hemiacetal (SAA) no resultó en disminución significativa de actividad, como

ocurrió en el caso del coleóptero. La acetilación del salpicrólido G (SGA) tampoco redujo la actividad biológica, pero este compuesto resultó menos tóxico.

En este trabajo de Tesis, al evaluarse los derivados sintéticos del salpicrólido A (SA) sobre *T. castaneum*, se obtuvo que la oxidación del hidroxilo en C-6 en el anillo B (SAO) y la ruptura del 5,6 epóxido en el salpicrólido A (SA) seguida por una reacomodación (SAREO y SAREOA) produjeron leves efectos subletales manifestados como demoras en el desarrollo (Figuras N° 6.1 y 6.2; Tabla N° 6.1), mientras que la acetilación del hidroxilo en C-6 del salpicrólido C (SCA) no produjo ningún efecto biológico en esta especie (Figuras N° 6.5, 6.6, 6.7 y 6.8).

Al evaluarse varios salpicrólidos derivados por síntesis sobre *C. capitata*, se halló que la oxidación del hidroxilo en C-6 (SAO) y ruptura del epóxido 5,6 del salpicrólido A, seguido por un reacomodamiento (SAREO y SAREOA) resultó en una pérdida del efecto inhibidor. A pesar de que la reducción de la doble ligadura 2,3 (SAH) tuvo pequeño efecto, el análogo reducido en el anillo A (SAHR) mostró la mayor demora entre los análogos sintéticos ensayados. La reducción del carbonilo en C-1 dió lugar al salpicrólido B (SB). Si bien este compuesto fue aislado de *S. origanifolia* como componente minoritario, se preparó por síntesis para poder tener cantidades suficientes para las evaluaciones de actividad. El salpicrólido B (SB) produjo la mayor mortalidad antes de que la pupariación pudiera ocurrir, no permitiendo el cálculo del tiempo de desarrollo 50% (Figuras N° 6.21 y 6.22; Tabla N° 6.2).

En la etapa final del bioensayo se contabilizó el número de individuos en estado adulto para calcular mortalidad. La reducción del carbonilo en C-1 incrementó la toxicidad, como se evidencia al comparar los efectos letales causados por el salpicrólido A (SA) y los compuestos SB y SAHR (Figura N° 6.23). El salpicrólido B resultó ser el compuesto más activo, registrándose la mayor mortalidad (95%) en el estado larval (Figura 6.23) y fallas significativas ($p \leq 0,05$) en la emergencia de adultos, además de la elevada mortalidad que causó al ser incorporado en los bebederos de adultos (Figura N° 6.33; Tabla N° 6.2).

Debido a la toxicidad exhibida por el salpicrólido B (SB) y teniéndose en cuenta que este compuesto es natural y puede ser obtenido por síntesis a partir del salpicrólido A (SA), resultó interesante calcular la concentración requerida por este compuesto para producir la mortalidad de 50% de la población larval (CE 50%).

Las mayores concentraciones (250 y 500 ppm) produjeron casi 100% de mortalidad antes de que ocurriera la pupariación, no permitiendo por lo tanto el cálculo del tiempo de pupariación 50%. Se obtuvieron demoras en el desarrollo establecidas como una superposición de los límites fiduciales, no sólo a 100 y 50 ppm sino también a la menor concentración hallada (25 ppm) (Figuras N° 6.25 y 6.26).

Además se hallaron diferencias significativas en la mortalidad a todas las concentraciones halladas (25- 500) (Figura N° 6.27). La concentración efectiva 50 fue de 83 ppm (75-94), resultando menor que las determinadas para los salpicrólicos naturales evaluados sobre *Musca domestica*: 290 (249-

335) en el caso del salpicrólido A; 310 (264-363) para el salpicrólido C y 203 (168-244) para el salpicrólido G (SG) (Mareggiani, Picollo, Zerba et al, 2000).

Por lo expuesto, se concluye que el salpicrólido B (SB) resulta interesante para continuar con estudios acerca de su bioactividad.

Estos resultados coinciden con lo observado por Elliger et al. (1994) en que la inhibición de crecimiento observada en larvas de *Helicoverpa zea* expuestas a withanólidos y esteroides relacionados aislados de *Physalis peruviana*, exhibió mayor actividad con la reducción del sistema 2-en-1-ona en comparación con el 4 β -hydroxywithanólido E, withanólido mayoritario aislado de esta planta.

7.4- Bioensayos con *Physalis peruviana*

Los resultados obtenidos en bioensayos con extractos crudos de *P. peruviana* sobre el desarrollo de larvas de *C. capitata* en este Trabajo de Tesis no resultan llamativos, dado que las concentraciones ensayadas fueron muy superiores a las señaladas por Elliger et al. (1994) y Baumann & Meier (1993) como causantes de actividad antiherbívora. A todas las concentraciones ensayadas la mortalidad difirió significativamente del control, siendo a las más altas (35.000 y 10.000 ppm) de 100%, mientras que a 1.000 ppm la duración del desarrollo larval fue significativamente menor (Figura N° 6.35 y 6.36; Tabla N° 6.2) y se halló diferencia significativa en el tamaño de los puparios (Figura N° 6.39).

Al incorporarse el extracto crudo de *P. peruviana* en bebederos de adultos de *C. capitata* se obtuvo mortalidad significativa a elevadas concentraciones (10.000 y 35.000 ppm) (Tabla N° 6.2), pero no a la menor concentración ensayada (1000 ppm) (Figura N° 6.40). Wigglesworth (1972) señala que en los insectos holometábolos las transformaciones más profundas referidas a histólisis, histogénesis y bionecrosis ocurren durante el estado larval y pupal, siendo el estado adulto el menos sensible a compuestos que alteran el desarrollo. Sólo los extractos crudos de compuestos muy efectivos como los obtenidos de neem (*Azadirachta indica*) han mostrado efectividad sobre insectos adultos. En ensayos de laboratorio con distintas soluciones de neem incorporadas en dieta para adultos se mostró que este compuesto reduce significativamente la fecundidad interfiriendo con la oogénesis y ligeramente la longevidad (Di Ilio et al., 1999). La aplicación tópica de extractos acuosos clorofórmicos y diclorometánicos de frutos de *Melia azedarach* 10% sobre adultos de *C. capitata* provocaron 15, 5 y 0 % de mortalidad respectivamente (Silva, 1990). En ensayos con distintas formulaciones con diversos aceites esenciales sobre adultos de *C. capitata* se obtuvo poca actividad con los correspondientes a *Rosmarinus officinalis* y *Salvia officinalis*, especies ricas en monoterpenos, mientras que los de *Cinnamomum zeylanicum* y *Thymus* sp. mostraron marcados efectos tóxicos (90% de mortalidad en 72 horas). La disección y evaluación microscópica de las moscas muertas reveló anomalías en la región intestinal (Passino et al., 1999).

Por lo expuesto, los extractos de *P. peruviana* constituirían una importante fuente de insecticidas naturales a tener en cuenta. Además esta solanácea es considerada de fácil cultivo, y sus frutos comestibles son ricos en vitaminas A, C y flavonoides (Cerri et al., 1998), por lo que su cultivo podría

tener doble propósito: la producción de frutos y el empleo de hojas como fuente de extractos, contribuyendo de ese modo a la diversificación de la producción (Pascual Villalobos, 1996).

7.5- Estudios de especificidad alimentaria realizados con *Lema bilineata*

Sin embargo, no todas las especies insectiles tienen el mismo comportamiento de selección frente a fuentes de alimento conteniendo withanólidos. En ensayos de preferencia realizados con *Lema bilineata* en esta Tesis se observaron diferencias en la elección del alimento, prefiriendo en todos los casos a *Salpichroa organifolia* y a *Physalis peruviana* en relación con *Solanum gilo*, hecho que resulta llamativo teniendo en cuenta el alto contenido en withanólidos de las dos primeras especies. Se deduce que la ausencia de permanencia y de ingestión de *S. gilo* por *Lema bilineata* obedecería a una interacción planta- insecto de alta especificidad, ya que otros insectos como los lepidópteros *Ecpantheria indecisa* W. y *Agrotis ipsilon* (Huf.), constituyen especies plaga de *S. gilo* (Picanco et al., 1997). El hecho de que *S. gilo* no haya sido seleccionada como fuente de alimento en ensayos de elección simple (Figura N° 6.58) ni en ensayos de elección múltiple (Figura N° 6.59) indicaría que esta especie vegetal presenta defensas que actúan como barrera antialimentaria contra *L. bilineata*, posiblemente glucoalcaloides, compuestos presentes en las especies del género *Solanum*, los cuales juegan un importante rol en la protección del tejido foliar del ataque por enfermedades y plagas (Vallin et al., 1996). Díaz et al. (1999) mostraron por el

método de centrifugación filogenética que larvas de *L. bilineata* no se alimentan de *S. tuberosum*, mencionada como hospedero por Torres (1950).

Tal como surge de lo expuesto, el espectro de actividad de los semioquímicos se estudia para cada interacción withanólido-insecto, ya que varía con el compuesto y con la especie blanco o “target”. La Nicalbina A resultó inactiva contra *Spodoptera littoralis* pero muy efectiva contra *Epilachna varivestis* y *Spodoptera frugiperda*, mientras que el withanólido E es un eficaz antialimentario para *S. littoralis* pero resulta poco eficaz sobre *E. varivestis* (Ascher et al., 1987). Este tipo de respuesta diferencial según la especie resultaría de gran importancia para llevar a cabo un manejo integrado de plagas de bajo impacto ambiental, donde se emplearían compuestos de elevada selectividad.

Los withanólidos cuya actividad como alomonas queda probada en esta Tesis, pueden ser empleados en el control de plagas teniendo en cuenta su distinto modo de acción: como repelente, fagodisuasivo, disuasivo de oviposición y regulador de crecimiento (Warthen y Morgan, 1990). Elliger et al. (1994) señalan que *P. peruviana* provee una fuente de resistencia importante que podría ser transferida por hibridación intergenética a otras especies de plantas. Esta utilización de los metabolitos secundarios en la manipulación genética tradicional y en la ingeniería genética ya está en vigencia (Sharma et al., 2000).

El empleo de compuestos que producen un alargamiento de la fase larval, en campo, presentará como ventaja la de dejar al insecto por más tiempo propenso a la acción de parasitoides, predadores y entomopatógenos,

provocando una mayor competencia por el alimento. Los adultos que emerjan de estas larvas presentarían asincronía con la población normal y consecuentemente la cópula será dificultada, si cuando ocurre tenderá a la consanguinidad por el cruzamiento entre individuos de la misma generación. También se vería disminuido el número de generaciones del insecto en el ciclo agrícola (Tanzubil & Mc Caffery, 1990).

Podemos concluir que los resultados aquí expuestos son promisorios para varios withanólidos ensayados, si bien su modo de acción no está completamente esclarecido.

En estudios realizados para evaluar la actividad de withanólidos aislados de *Lochroma gesnerioides* (Solanaceae) como agonista o antagonista de ecdisteroides en cultivos celulares de *Drosophila melanogaster* (Diptera) (Dinan et al., 1996), se vió que algunos de los withanólidos antagonizan significativamente la acción de la 20-hidroxiecdisona, indicando de ese modo una posible función biológica de los withanólidos como antagonistas de la acción de los ecdisteroides en los insectos fitófagos. Sin embargo, en pruebas in vitro, el salpicrórido A (SA) no mostró dicha actividad (Dinan, comunicación personal).

Futuras investigaciones deberán centrarse en el modo preciso de acción de estos compuestos, y en otros estudios de efectividad que complementen lo ya analizado hasta el presente, tanto en la etapa de laboratorio como en las posteriores etapas: de semicampo y campo, así como estudios que abarquen los aspectos ecotoxicológicos que incluyan su biodegradabilidad y efectos sobre enemigos naturales.

8- CONCLUSIONES

Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae)

- Los withanólidos análogos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA), salpicrólido A reordenado (SAREO), salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA), salpicrólido A oxidado (SAO) y el salpicrólido natural A (SA), causaron leves efectos biológicos sobre *Tribolium castaneum*, que se manifestaron como demoras en el desarrollo al ser incorporados en alimento a 500 ppm.
- El salpicrólido natural C (SC) y su derivado por síntesis acetilado (SCA), al ser incorporados en alimento a 500 ppm no produjeron efectos biológicos sobre *T. castaneum*.
- Al ser incorporados en solución acetónica, los salpicrólidos naturales A (SA) y C (SC), mediante técnica de aplicación tópica sobre larvas de 5° estadio de *T. castaneum*, sólo el salpicrólido A (SA) produjo demoras en la aparición de los adultos.
- La nicandrenona (N), al ser incorporada en alimento a 500 ppm fue el compuesto que causó las mayores demoras hasta el estado pupal de larvas neonatas de *T. castaneum*, dando lugar además a pupas deformes.
- Al ser incorporados en alimento, los withanólidos jaborosalactona P (JP) y jaborosalactona 10 (J10), a 500

ppm en alimento, la jaborosalactona P produjo las mayores demoras en el desarrollo de larvas de *T. castaneum*, mientras que la jaborosalactona 10 no causó efectos biológicos registrables sobre el coleóptero.

- La incorporación de jaborosalactona P (JP), jaborosalactona 10 (J10), y del salpicrólido B (SB) en solución acetónica mediante técnica de aplicación tópica de larvas de 5º estadio, no causó efectos biológicos sobre su desarrollo.

***Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**

- Los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC) y G (SG) causaron demoras en el desarrollo de larvas neonatas al ser incorporados en dieta artificial a 500 ppm, siendo los salpicrólidos A (SA) y G (SG) los compuestos más efectivos, ya que produjeron además importantes efectos letales.
- Los withanólidos análogos derivados por síntesis del salpicrólido A (SA): el salpicrólido A hidrogenado (SAH), salpicrólido A hidrogenado reducido (SAHR), salpicrólido A oxidado (SAO), salpicrólido A reordenado (SAREO) y salpicrólido A reordenado acetilado (SAREOA), produjeron demoras en el desarrollo de *C. capitata* al ser incorporados en dieta artificial a 500 ppm, siendo el salpicrólido A

hidrogenado reducido (SAHR) el causante de las mayores demoras.

- Tanto el salpicrólido hidrogenado reducido (SAHR) como el salpicrólido A reducido (SB) produjeron importantes efectos letales, siendo este último compuesto el más efectivo.
- Concentraciones de 500 y 250 ppm del salpicrólido B (SB), al ser incorporadas en dieta artificial, produjeron mortalidad total de larvas; a menores concentraciones (100, 50 y 25 ppm) también se obtuvo mortalidad significativa ($p \leq 0,05$) y demoras en el desarrollo.
- La concentración efectiva media del salpicrólido B (SB), al ser incorporado en dieta de larvas, resultó de 83 ppm (75-94 ppm).
- La aplicación tópica del salpicrólido B (SB) sobre larvas de segundo estadio no causó efectos biológicos observables sobre *C. capitata*.
- Los salpicrólicos naturales A (SA), C (SC), G (SG) y B (SB), al ser incorporados en bebederos de adultos, causaron efectos letales, siendo los compuestos más efectivos los salpicrólicos G (SG) y B (SB).
- Los extractos crudos de *Physalis peruviana* (PH), al ser incorporados a tres concentraciones (35.000, 10.000 y 1.000 ppm) en dieta artificial, produjeron efectos letales significativos a las mayores concentraciones, y efectos

subletales en el caso de la menor concentración, que se manifestaron como demora en el desarrollo y disminución significativa del tamaño de los puparios ($p \leq 0,05$).

- Los extractos crudos de *Physalis peruviana* (PH), al ser incorporados a tres concentraciones (35.000, 10.000 y 1.000 ppm) en bebederos de adultos, causaron mortalidad significativa a las dos concentraciones más elevadas.
- La Jaborosalactona P (JP), al ser incorporada sobre larvas de segundo estadio en solución alcohólica por técnica de aplicación tópica, no produjo efectos biológicos observables sobre *C. capitata*.

***Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)**

- El salpicrólido natural A (SA) causó 100% de mortalidad al ser incorporado en dieta artificial para larvas a 500 ppm, mientras que los salpicrólidos C (SC) y G (SG) produjeron demoras en el desarrollo y disminución significativa en el tamaño de las pupas ($p \leq 0,05$).
- Al incorporarse los salpicrólidos A (SA), G (SG), en solución alcohólica a 500 ppm sobre discos foliares de soja, mostraron actividad antialimentaria a través de los índices calculados, pero las jaborosolactonas P (JP) y 10 (J10) no lo hicieron.

***Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)**

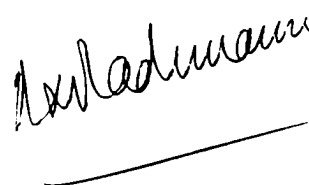
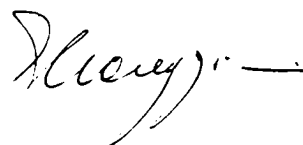
- No se obtuvieron efectos biológicos con los salpicrólidos naturales A (SA), C (SC), G (SG) y B (SB), al ser incorporados sobre discos foliares de soja y ofrecidos a adultos de ***D. speciosa***.

***Lema bilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae)**

- A través de ensayos de elección simple y múltiple, se observó que esta especie se alimenta de las solanáceas ***Physalis peruviana*** y ***Salpichroa organifolia***, ambas especies con elevado contenido de withanólidos, pero no de ***Solanum gilo***, mostrando que la interacción metabolito secundario-insecto es específica, característica deseable en nuevas sustancias insecticidas.



Ing. Agr. SILVINA G. BADO
JEFA DE TRABAJOS PRACTICOS
CAT. ZOOLOGÍA AGRÍCOLA FAUBA



8- BIBLIOGRAFIA

- **ANDREWS, K & J. QUESADA** (1989). Manejo de plagas insectiles. Honduras, Esc. Agr. El Zamorano. 623 pp.
- **ALTIERI, M.A & D.L. LETORUNEAU** (1982). Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop Protection* 1: 405-430.
- **ALZOGARAY, R.A. & E.N. ZERBA** (1993) Temperature effect on insecticidal activity of pyrethroids on *Triatoma infestans*. *Comp. biochem Physiol.* 104 (3): 485-488
- **ASCHER, K.R.S.** (1992) Antifeedants: an overview. *The Philipp. Ent.* 8 (5):1117-1123.
- **ASCHER K.R.S., M. ELIYAHU, E. GLOTTER, A. GOLDMAN, I. KIRSON, A. ABRAHAM, M. JACOBSON & H. SCHMUTTERER** (1987) The antifeedant effect of some new withanolides on three insect species, *Spodoptera littoralis*, *Epilachna varivestis* and *Tribollum castaneum*. *Phytoparasitica* 15 (1):15-29.
- **ASCHER, K.R.S., N.E. NEMNY, M. ELIYAHU, I. KIRSON, A. ABRAHAM & E. GLOTTER** (1980). Insect antifeedant properties of withanolides and related steroids from Solanaceae. *Experientia* 36:998-999.
- **BADO S.G., A.M. CERRI, A.M. FOLCIA & F. VILELLA** (2004). Fauna insectil asociada a cultivos de dos especies de *Physalis* (Solanaceae) en Argentina. *Enviado Rev. Boletín Sanidad Vegetal*.

- **BADO S.G., A.M. CERRI & F. VILELLA** (1999). Relevamiento de especies insectiles en un cultivo de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae) en Buenos Aires. Resúm. X Jorn. Fitosanit. Arg. 258 pp.
- **BADO S.G., A.M. CERRI, F. VILELLA & A. MOLINA** (2000). Aspectos morfológicos, biológicos y de ingesta de *Lema bilineata* G. (Coleoptera: Chrysomelidae) en un cultivo de *Physalis peruviana* L. Bol. San. Veg. Revista Plagas 26 (1): 5-10 (España).
- **BALDONI, H.** (1997). Estudio de la relación estructura-actividad antialimentaria de productos naturales y derivados. Tesis para optar al grado de Doctor en Bioquímica. Univ. Nac. S. Luis. 182 pp.
- **BAUMANN. T. & C. MEIER** (1993). Chemical defence by withanolides during fruit development in *Physalis peruviana*. Phytochemistry 33 (2): 317-321.
- **BLUM, M.S.** (1981). Chemical defences of Arthropods. Acad. Press. USA, 562 pp.
- **BOCACCIO, G.L., S. A. DE LICASTRO, M. I. PICOLLO, E. WOOD, E. ZERBA, L.A. QUESADA ALLUE, A. RABOSSI, P. WAPPNER** (1994). La mosca del mediterráneo. Guía de Laboratorio. Ed. Luis Quesada- Allué. Publicación del Laboratorio de Bioquímica del Desarrollo I.I.B. Fundación Campomar. Buenos Aires, Argentina. Con el auspicio y apoyo técnico de Y. P. F. S. A. 72 pp
- **BONNEMAISON, L.** (1965). Enemigos Animales de las Plantas Cultivadas y Forestales. Edic. de Occidente, S. A. Vilassar de Mar. Barcelona. España Vol. 3, 436 pp.
- **BOWERS, W.S.** (1993). Phytochemical contributions to pest management. In Lumsden, R., Vaughn, J. Eds. Pest Management:

Biologically based technologies. Beltsville Symposium XVIII, Amer. Chem. Soc. Agric. Res. Service. U.S. Dep. Agric. Maryland. 252-257 pp.

- **BUDIA F., E. VIÑUELA & P. DEL ESTAL** (1988). Estudios preliminares de los efectos de la ciromacina sobre *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Bol. San. Veg. Plagas, 14: 141-147.
- **BUSUINE, J. R.** (1971). A critical review of the techniques for testing insecticides. London. Commonwealth Agric. Bureaux. 345 pp.
- **CABRERA, A.L.** (1983). Flora de la provincia de Jujuy. Parte VIII. Colección científica Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación INTA. 505 pp.
- **CABRERA WALSH, G. J.** (2001). Laboratory rearing and vital statistics of *Diabrotica speciosa* and *Diabrotica viridula* (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms. Rev. Soc. Entom. Argent., 60 (1-4): 239-248.
- **CARPINELLA, M. C., M. T. DEFAGO, G. VALLADARES & S. M. PALACIOS** (2003). Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. J. Agric. Food Chem. 51:369-374.
- **CASADIO, A.** (1994). Toxicidad y resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Tribolium castaneum* de la República Argentina. Tesis para optar al título de Doctora en Ciencias Biológicas. Fac. de Ccias E. y Nat. UBA. 68 pp.
- **CASADIO, A. A & E. N. ZERBA.** (1996). Desarrollo poblacional de *T. castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae) en distintas dietas

- y su influencia sobre la toxicidad y resistencia a Malatión. Bol. San. Veg. Plagas 22: 511-520.
- **CERRI, A. M., J. J. VALLA & F. VILELLA** (1998). Producción potencial de frutos de “cape gooseberry” (*Physalis peruviana*). XXI Congreso Argentino Fisiología. Mar del Plata. pp: 112-113.
 - **CHAPMAN, R.F** (1969). The insects: structure and function. The English Universities Press Ltd. 919 pp.
 - **CIRIGLIANO, A. M., A.S. VELEIRO, J.C. OBERTI Y G. BURTON** (1999) Nuevos withanolidos espiránicos de *Jaborosa odonellana*. XII- SINAQO. Dr Eduardo Guerreiro. 12-13 pp.
 - **CRESPO, D., R. LECUONA, B. DIAZ & S. STOCK** (1996). Cría de Insectos en laboratorio. En: Lecuona, R. (ed.). Microorganismos patógenos empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga. Cap. XV. 183-188 pp.
 - **DEFAGÓ DE PECCHIONI, M. T., N. CABRERA, S. M. LAGUZZI & C.R. NOVARA** (2000). Aspectos morfológicos y poblacionales de *Diabrotica speciosa speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) en condiciones de Laboratorio. An. Soc. Entomol. Brasil. 29 (2) 285-294.
 - **DEFAGÓ, M. T., G. R. VALLADARES & S. PALACIOS** (1995). Efectos de extractos de *Mella azedarach* sobre “vaquita del olmo” (Coleoptera: Chrysomelidae). III Congr. Arg. Entom. 101 pp.
 - **DIAZ, C.A., J. ORMEÑO & J.E. ARAYA** (1999). Especificidad de *Lema bilineata* G. hacia *Datura* spp. mediante centrifugación filogenética. Bol. San. Veg. Plagas 25 (3): 259-264.

- **DICKE, M. & M.W. SABELIS** (1988). Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather origin of compounds? *Functional Ecology* 2: 131-139.
- **DI ILIO, V., M. CRISTOFARO, D. MARCHINI, P. NOBILI & R. DALLAI** (1999). Effects of a neem compound on the fecundity and longevity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 92 (1): 78-81.
- **DINAN, I., P. WHITING, D. ALONSO & I. KAPETANIDIS** (1996). Certain withanolides from *Lochroma gesnerioides* antagonize ecdysteroid action in a *Drosophila melanogaster* cell line. *Entomol. Exp. Appl.* 80: 415-420.
- **DOUSSOULIN, E & R. CHAVEZ** (2002). La biotecnología y su potencial en la agricultura moderna. *IDESIA (Chile)* 20 (1):61-72.
- **ELLIGER, C., W. F. HADDAON, L. HARDEN, A. C. WAISS JR. & R.Y. WONG** (1994). Insect inhibitory steroidal saccharide esters from *Physalis peruviana*. *J. Nat. Prod* (3):348-356.
- **ELLIGER, C. A. & A. C. WAISS Jr** (1989) *In* Insecticides of Plant Origin (Aranason, J. T., Philogene, B.J.R. and Morand, P. eds), p.188-205. American Chemical Society, Washington, DC.
- **FINNEY, D. J.** (1971). Probit analysis (3rd eds.). Cambridge Univ. Press. New York. 333 pp
- **FRAZIER, J.L & S. CHYB** (1995). Use of feeding inhibitors in insect control. Chapter 13: 364-381. *In* Chapman and Gerrit de Boer (eds.). Regulatory mechanisms in insect feeding.

- **FRUTOS, E.** (1996). Análisis de Probit y de correspondencia. *En* Lecuona, R. (ed.) Microorganismos patógenos empleados en el control Microbiano de Insectos Plagas, pp: 189-194.
- **GASSEN, D. N** (1984). Insetos associados a cultura do trigo no Brasil. EMBRAPA-CNPT, Circular Técnica, 3, Passo Fundo, Brasil.
- **GIMENEZ, R., M. C. MOYA, A. DELLA PENNA** (2002). Guía Curso “Manejo Integrado de Plagas forestales” Impreso CEABA. Facultad de Agronomía, UBA. 114 pp.
- **GRAINGE, M. & S. AHMED** (1988). Handbook of plants with pest-control properties. Eds. John Wiley & Sons, Inc. USA, 470 pp.
- **GREENE, G. L., N. C. LEPLA & W. A. DICKERSON** (1976) Velvetbean caterpillar. A rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entom. 69, 447-448.
- **HALL, F.R & J.J. MENN** (1999). Biopesticides: use and delivery. New Jersey, Humen Press. 626 pp.
- **HABORNE, J. B.** (1993). Advances in chemical ecology. Nat. Prod. Reports 10:327-350.
- **HERNANDEZ ESCALONA, M., V.R. FUENTES FIALLO, M.M HERNANDEZ, R. AVILES PACHECO, E.T. PERERA AJA** (1999). Plaguicidas naturales de origen botánico. La Habana, CIDISAV. 105 pp.
- **HOFFMANN-CAMPO C. L., OLIVEIRA, E. B., DE E MOSCARDI F.** (1985). Criação massal da lagarta de soja (*Anticarsia gemmatilis*) EMBRAPA-CNPSO, Documentos 10, 23 pp.

- **HOUSEMAN, J. G, F. CAMPOS, N. M R. THIE, J. PHILOGENE, J. ATKINSON, P. MORAND, & J.T. ARNASON (1992).** Effect of maize- derived compounds DIMBOA an MBOA on growth and digestive processes of European corn borer. *J. Econ. Entomol.* 85:669-674.
- **HUNZIKER, A. T. (1967).** Estudios sobre Solanaceae IV. Una especie nueva y dos notas críticas. *Kurtziana* 4:131-138
- **INTA-FAO (1979).** Conferencia del Curso de Perfeccionamiento en Control Integrado de plagas. EERA-INTA Pergamino (Bs. As.) Rep. Arg
- **JERMY, T. (1990).** Prospects of antifeedant approach to pest control, a critical review. *J. Chem. Ecol.* 16:3151-3166.
- **KUBO, I. (1991).** Methods in plant biochemistry. Vol 6, Cap. 7, 179-193.
- **LAGUNES TEJEDA, A Y J. A. VILLANUEVA JIMENEZ (1994).** Toxicología y manejo de insecticidas. Col. Postgraduados Cs. Agrícolas. México. 264 pp.
- **LARSON, R.O. (1989).** Commercialization of neem. *In Focus on biochemical Pesticides. Vol I. The neem Tree*, Jacobson M. ed. CRC Press, Boca Raton. FL:155-168.
- **LAW, J.H. & F.E. REGNIER (1971).** Pheromones. *Annual Rev. Biochem.* 40:533-548.

- **LEWIS, A.C & H.F. VAN EMDEM (1986).** Assays for insect feeding. *In:* Miller, J. R and T. A. Miller (eds). *Insect/Plant Interactions*. Springer-Verlag, New York, p. 95-119.
- **LITCHFIELD, J.T & F. WILCOXON (1949).** A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Exp. Ther.* 96:99-110
- **MAREGGIANI, G. (1999).** Efecto biológico de withanólidos de *Salpichroa organifolia* y *Datura ferox* (Solanaceae) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) y *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Tesis para optar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas- Fac. de Ccias E. y Nat. UBA. 172 pp.
- **MAREGGIANI, G. (2001).** Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal: Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 60: 22-30.
- **MAREGGIANI, G., S. LEIKACH Y P. LANER (1998).** Toxicidad de extractos que contienen metabolitos secundarios de distintos órganos de *Melia azedarach* al nematodo del nudo de la raíz. *Rvta. Asoc. Latin. Fitopat.* 33 (2):122-126.
- **MAREGGIANI, G., M.I. PICOLLO, A.S. VELEIRO, M.C. TETTAMANZI, M.O.V. BENEDETTI-DOCTOROVICH, G. BURTON & E. ZERBA (2002).** Response of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Salpichroa organifolia* withanolides. *J. Agric. Food Chem.* 50, 104-107
- **MAREGGIANI, G., M.I. PICOLLO, E. ZERBA, G. BURTON, M.C. TETTAMANZI, M.O.V. BENEDETTI-DOCTOROVICH &**

- A. S. VELEIRO** (2000). Antifeedant activity of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Musca domestica*. J. Nat. Prod. 63 (8): 1113:1116.
- **METCALF, R.L & W.H. LUCKMANN** (1994). Introducción al Manejo de plagas de insectos. Noriega eds. México. 710 pp.
 - **METCALF, R.L & E.R. METACALF** (1992). Plant kairomones in insect ecology and control. London, Chapman & Hall. 168 pp.
 - **MILANEZ, J. M. & J. R. P. PARRA** (2000). Biología e exigencias térmicas de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em laboratorio. An. Soc. Entomol. Brasil 29 (1):23-9.
 - **MONTEAGUDO, E. S., OBERTI J. C., GROS E. G. & BURTON G.** (1990). A spiranic withanolide from *Jaborosa odonelliana*. Phytochem. 29: 933.
 - **NALBANDOV, O., R.T. YAMAMOTO & G.S. FRAENKEL** (1964). Nicandrenone, a new compound with insecticidal properties isolated from *Nicandra physaloides*. J. Agric. Food. Chem. 12 (55).
 - **NASCA, A.J., A.L. TERÁN., R.V. FERNÁNDEZ & A.J. PASQUALIMI** (1981). Animales perjudiciales y benéficos a los cítricos en el Noroeste argentino. Centro de Investigaciones sobre Regulaciones de Poblaciones de Organismos Nocivos (CIRPON). S. M. de Tucumán. Argentina. 253 pp.
 - **NORMAN, G. & D. STREINER** (1996). Bioestadística. Mosby/Doyma Libros S.A. Madrid. España. 260 pp.
 - **NOVO, R.J., A. VIGLIANCO & M. NASSETTA** (1998). Efecto antialimentario de extractos de cuatro plantas sobre *Anticarsia*

- gemmatalis* Hub. (Lepidoptera: Noctuidae). Bol. San. Veg. Plagas, 24:525-530.
- **ORREGO ARAVENA, R.** (1974). Insectos de la Pampa (Coleópteros). Biblioteca Pampeana, 126 pp.
 - **PARODI L. R. & M. J. DIMITRI** (1987). Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Ed. Acme., tomo II, 1161 pp.
 - **PASCUAL VILLALOBOS, M J.** (1996). Plaguicidas naturales de origen vegetal. Estado actual de la investigación. Madrid 35 pp.
 - **PASSINO, G.S., E. BAZZONI, M. D. L. MORETTI & R. PROTA,** (1999). Effects of essential oil formulations on *Ceratitidis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) adult flies. J. Appl. Entomol. 123 (3):145-149.
 - **PICANCO, M., V.W.D. CASALLI, G.L.D. LEITE Y I.R. OLIVEIRA** (1997). Lepidopteros asociados ao jiloeiro. Hort. Bras. 15 (2):112-114.
 - **PICOLLO, M.I.** (1997). Guía de Trabajos Prácticos “Ensayo biológico”. Maestría en Control de Plagas y su Impacto Ambiental. Universidad Nacional de San Martín CITEFA. 24 pp
 - **RAY, A. B. & M. GUPTA** (1994). Withaesteroides, a growing group of naturally occurring steroidal lactones. Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 63: 1-106.
 - **RIZZO, H Y E. SAINI** (1996). Insectos perjudiciales al cultivo de la soja en Argentina y sus principales enemigos naturales. INTA- Dow Elanco. 44 pp.

- **ROBERTSON, J.L. & H.K. PREISLER** (1992). Pesticide bioassays with arthropods. CRC Press. USA. 127 p.
- **SAINI, E.** (2001). Insectos y ácaros perjudiciales al cultivo de soja y sus enemigos naturales. Agroediciones. Publicación INTA-IMYZA N°4. 90 pp.
- **SAXENA, R.C, Z.R. KHAN & N.B. BAJET** (1987). Reduction of Tungro virus transmission by *Nephotettix virescens* (Homoptera: Cicadellidae) in neem cake-treated rice seedlings. J. Econ. Entomol. 80:1079-1082.
- **SCHOONHOVEN, L. M.** (1972). Some aspects of host selection and feeding in phytofagous insects. En J. G. Rodríguez., ed., Insect and mite nutrition, North Holland, Amsterdam. 702 pp. 557-566 pp.
- **SERANTES, H. E. & A. M. DE HARO** (1980) Insectos y ácaros del grano almacenado. Biología-Daños- control. Talleres Gráficos “Nuestra acción”. Argentina. 35 pp.
- **SHARMA, H.C., K. K. SHARMA, N. SEETHARAMA & R. ORTIZ** (2000). Prospects for using transgenic resistance to insects in crop improvement. J. of Biotechnology 3 (2):76-95.
- **SHIN-FOON, C.** (1983). The active principles and insecticidal properties of some chinese plants with reference to Meliaceae. In Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants: Proceed. 2nd. Intern. Neem Confer., Germany. pp:255-261.
- **SILVA, A. C.** (1990). Efeitos insecticida, deterrente e supressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitidis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis*

- (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae), em laboratório. Lavras, 1990. 129 pp. (Mestrado- Escola Superior de Agricultura de Larvas).
- **SING, P. & R. F. MOORE** (eds) (1985). Handbook of rearing. Vol I. elsevier. Amsterdam. 514 pp.
 - **SMITH, E. C & R. C. WHITMAN** (2003). Guía de campo de la NPMA para plagas estructurales. s/ n° pp.
 - **STADLER, T., M.I. PICOLLO Y E. N. ZERBA** (1990). Factores ecofisiológicos relacionados con la susceptibilidad a insecticidas y la resistencia a malatión en *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Bol. San. Veg. Plagas, 16:743-754.
 - **STERN V.M., R.F. SMITH, V.D. BOSCH & K.S. HAGEN** (1959). The integrated control concept. Hilgardia 29:81-101.
 - **TANZUBIL, P.B. & A.R. McCAFFERY** (1990). Effects of azadirachtin and aqueous seed extracts on survival, growth and development of African armyworm, *Spodoptera exempta*. Crop Protection, Guilford, 9 (5):383-6,.
 - **TERÁN, H. R** (1977). Comportamiento alimentario y su correlación con la reproducción en hembras de *Ceratitls capitata* (Wied.) (Diptera: Tripetidae). Rev. Agronómica NOA., 14: 17-34.
 - **TETTAMANZI, M.C., A.S. VELEIRO, J.C. OBERTI & G. BURTON** (1996). Ring D aromatic ergostane derivatives from *Salpichroa organifolia*. Phytochemistry 43:461.
 - **TETTAMANZI, M.C., VELEIRO A.S., J. C. OBERTI & G. BURTON** (1998). New hydroxylated withanolides from *Salpichroa organifolia*. J. Nat. Prod. 61 (3):338-342.

- **THOMPSON, J. N.** (1988). Coevolution and alternative hypothesis on insect/plant interactions. *Ecology* 69 (4): 893- 895.
- **THORSTEINSON, A. J.** (1960). Host plant selection by phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 5:193-218.
- **TOMASSINI, T.C.B., N.S. BARBI, I. M. RIBEIRO & D.C.D XAVIER** (2000) Gênero *Physalis*. Uma revisão sobre vitasteroides. *Quím. Nova* 23 (1) 47:57.
- **TORRES, B.** (1950). Insectos perjudiciales y útiles al cultivo de la papa en la Argentina. Boletín Ministerio de Agricultura y Ganadería (Argentina) 17, pp:11.
- **VACCARINI, C. E & G. M. BONETTO** (1999). Evaluación de la actividad de withanólidos de *Jaborosa integrifolia*. XII- SINAQO. Dr E. Guerrero. 125-126 pp.
- **VALLADARES, G., M.T. DEFAGO, S. PALACIOS & M.C. CARPINELLA** (1997). Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entom.* 90 (3): 747-750
- **VALLADARES, G.R., E. HERRERO, M.T. DEFAGO, D. CORRAL, D. FERREYRA & S. PALACIOS** (1995). *Melia azedarach*: una fuente de insecticidas naturales? III Congreso Arg. Entomol. Resúm. 100 pp.
- **VALLIN, K., G.P. SAVAGE, A.J. CONNER, K.E. HELENAS & C. BRANZELL** (1996). Glycoalkaloides in a somatic hybrid between *Solanum brevidens* and cultivated potato. *Proc. Nutr. Soc. New Zealand* 21: 130-136.

- **VARGAS, R. I.** (1989). Mass production of tephritid fruit flies. *In* A.S. Robinson and G. Hooper (eds.), World crop pests, fruit flies, their biology, natural enemies and control, vol.3A. Elsevier, Amsterdam. 141-151 pp.
- **VELEIRO, A.S., G. BURTON, G. BONETTO, R.R. GIL & J. OBERTI** (1994). New withanolides from *Salpichroa organifolia*. *J. Nat. Prod.* 57 (12):1741-1745.
- **VELEIRO, A.S., J. C. OBERTI & G. BURTON** (1992). A Ring-D aromatic withanolide from *Salpichroa organifolia*. *Phytochem.* 31: 935-937.
- **VELEIRO, A.S., J. C. OBERTI & G. BURTON** (2004). Chemistry and bioactivity of withanolides from southamerican Solanaceae. *In* Studies in Natural Products Chemistry, in press.
- **VELEIRO, A. S., C. E. TROCCA, G. BURTON & J. C. OBERTI** (1992). A phenolic withanolide from *Jaborosa leucotricha*. *Phytochem.* 31: 2250
- **VIGIANI, A. R.** (1990) Hacia el control integrado de plagas. Editorial Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires. Argentina. 124 pp.
- **WARTHEN, J. D. & E. D. MORGAN** (1990). Insect feeding deterrents. *In* Morgan, ED; Mandava, NV. Eds. CRC Handbook of natural pesticides. Insect attractants and repellents. Florida, CRC Press. 23-134 pp.
- **WIGGLESWORTH, V. B.** (1972). The principles of insect physiology. Chapman & Hall., London. (7 th. Ed.) 827 pp.

10- PUBLICACIONES, PRESENTACIONES A CONGRESOS Y OTRAS ACTIVIDADES EFECTUADAS EN EL MARCO DE ESTA TESIS

TRABAJOS CIENTIFICOS PUBLICADOS

En Revistas extranjeras:

- Bado, S. G, Mareggiani G., Amiano N. , Burton G. & Veleiro A. S. (2004). Lethal and Sublethal effects of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Ceratitis capitata*. Journal of Agricultural Food and Chemistry 52, 2875-2878
- Bado, S.G. & Mareggiani, G. (2002). Withanolides from *Jaborosa odonelliana* (Solanaceae): bioactivity against agricultural Pests Revista Latinoamericana de Química 29 (3) 145:150
- Bado, S. G., Mareggiani, G y Vilella, F (2001). Preferencia alimentaria de *Lema bilineata* G. (Coleoptera: Chrysomelidae) sobre tres Solanáceas: posibles defensas químicas. Boletín Sanidad Vegetal. Revista Plagas 27 (2): 19-25 (España)

En Revistas Nacionales:

- Mareggiani, G., Bado, S. G., M. I. Picollo y Zerba, E. (2000) Actividad antiherbívoro de withanólidos aislados de tres especies de Solanaceae. Revista Acta Toxicológica Argentina 8 (2): 69-71.

COMUNICACIONES EN CONGRESOS

Internacionales:

- Veleiro, A., Amiano, N., Mareggiani, G., Bado, S. G. y Burton, G. (2002) Analogues of natural feeding deterrents, synthesis and insecticidal activity of modified withanolides- 23rd IUPAC- Int. Symposium on the chemistry of Natural Products- Florence- Italy- Florence Expo Congress.
- Bado, S. G., Cirigliano, Veleiro, A., Oberti J., Burton, G. y Mareggiani, G. (2001). Efectos biológicos de semioquímicos extraídos de *Jaborosa odonelliana* (Solanaceae) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Resúm. XXIII Congreso Chileno de Entomología, Temuco.
- Mareggiani, G., Bado, S. G., Veleiro, A., Amiano, N. y Burton, G. (2000). Actividad antihervibora de infoquímicos de Solanáceas sobre larvas de lepidópteros. Resúm. XXII Congreso Chileno de Entomología, Valdivia. S/pp..
- Bado, S. G., Mareggiani, G y Picollo, M. I., Zerba, E. y Vilella, F. (2000) Insect development delay produced by withanolides from Solanaceae. Abstracts XXI International Entomol. Congress. Brasil. Foz do Iguaçu.

Nacionales:

- Bado, S. G. Cirigliano, A., Mareggiani, G. y Vilella F. (2004)- *Physalis peruviana* L. (Solanaceae): actividad sobre mosca de los frutos. VIII Simposio Argentino y XI Simp. Latinoamericano de Farmacobotánica (2-6 agosto, Bs.As.).
- Bado S. G., Cirigliano, A., Veleiro, A., Burton, G. y Mareggiani, G. (2002)- Evaluación de la actividad antialimentaria del metabolito secundario

jaborosalactona P mediante dos metodologías diferentes. XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Río Cuarto (Córdoba).

- Bado, S. G. (2001) Efecto de metabolitos secundarios extraídos de la Subfamilia Solanoideae sobre dos plagas de interés agrícola: *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). XIV Jornadas de Becarios de Investigación. Primera comunicación. Facultad de Agronomía. Area Ciencias Tecnológicas, agropecuarias, ambiente y hábitat. Exposición oral.
- Bado, S. G. (2001). Efectos biológicos de withanólidos extraídos de Solanaceae (Subfamilia: Solanoideae) sobre plagas de interés agrícola. Jornada Nacional de Planes y Estrategias de Control de Plagas. Universidad de Morón. 24 de julio. Libro de Resúm. s/pp. (con exposición oral).
- Bado, S. G., Cirigliano, A., Veleiro A., Burton, G. y Mareggiani, G. (2001). Efectos biológicos de semioquímicos sintéticos extraídos de *Salpichroa organifolia* (Solanaceae) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Resúm IX Congreso Argentino de Entomología, Bs. As.
- Mareggiani G. S., Pelicano A E., Alvarez, C., Bado, S. G., Caffarini, P., Collavino, M., Folcia, A. M., Franzetti, D. y Zamuner, N. (2001) Semioquímicos con actividad insecticida: su impacto en la cadena trófica en cultivos hortícolas. Resúm. Jornada Nacional de Planes y Estrategias de Control de Plagas, Universidad de Morón. S/ pp..
- Bado, S. G. (2000) Efectos biológicos de withanólidos extraídos de Solanaceae (Subfamilia: Solanoideae) sobre plagas de interés agrícola. IV Jornadas de Trabajos en realización sobre plagas vegetales. Universidad de Morón. Resúmenes pp: 35.
- Veleiro, A. S, Amiano, N. O., Mareggiani, G., Bado, S. G. y Burton, G. (2000). Análogos sintéticos de antialimentarios naturales: derivados del salpichrólido A con

modificaciones en los anillos A y B. Resúm. XXIII Congreso Argentino de Química.

PARTICIPACION EN PLANES DE INVESTIGACION RELACIONADOS CON EL TEMA DE ESTA TESIS

- 2001-2003. Integrante del **Plan UBACYT G049** “Semioquímicos con actividad insecticida: su impacto en la cadena trófica en cultivos hortícolas.” Directora: Dra. Graciela Mareggiani
- 2001-2003. Integrante del **Plan UBACYT G063** “Incorporación de nuevas alternativas productivas y tecnológicas en el ambiente pampeano”. Director: Ing. Agr. Fernando Vilella
- 2000. Integrante del **Plan Anual UBACYT G014**. “Efecto de terpenoides y withanólidos sobre dos plagas de interés agrícola: *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae)” Directora: Dra. Graciela Mareggiani.
- 1998-1999. Integrante del **Plan Joven de Investigación: FAUBA** (Expte. 194.411/96) “Manejo de plagas en la producción orgánica de tomate: su incidencia sobre la producción de metabolitos secundarios”. Directora: Ing. Agr. Ana María Folcia
- 1998-2000. Integrante del **Plan UBACYT TG 34** “Tecnologías alternativas para el Manejo de Plagas en una producción hortícola sustentable” Director: Ing. Agr. Horacio F. Rizzo
- 1998-2000. Integrante del **plan UBACYT AG 47** “Incorporación de nuevas alternativas productivas y tecnológicas, en el sector agrícola argentino”. Director: Ing. Agr. Fernando Vilella

DOCENCIA VINCULADA A ESTA TESIS

- Docente participante en el Curso de Intensificación y Perfeccionamiento “Plantas Insecticidas”: rol de sus metabolitos secundarios en el mecanismo defensivo contra insectos y nematodos” Directora: Dra. Graciela Mareggiani, correspondiente al Bloque de Intensificación de Zoología Agrícola: “Plagas: su rol en la agricultura moderna” (Expte: 116.232/01) (1,5 créditos).
- Docente participante en el Curso de Intensificación y Perfeccionamiento “Bioecología de plagas animales y malezas”. Directores: Dra G. Mareggiani correspondiente al Bloque de Intensificación de Zoología Agrícola: “Plagas: su rol en la agricultura moderna” (Expte: 116.232/01) (3 créditos).

FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

- Codirectora del Trabajo de Intensificación de la alumna Ivanna Colamarino (Carrera Ing. Agronómica) “Estudio de la actividad biológica de extractos de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae) sobre *Ceratitis capitata* W. (Diptera: Tephritidae)”
- Directora del Trabajo de intensificación de la alumna María Alejandra Linares Figueroa (Carrera Ing. Agronómica) “Determinación de la actividad insecticida de extractos naturales obtenidos de *Solanum gilo* R. (Solanaceae) sobre *Ceratitis capitata* W. (Diptera: Tephritidae)”
- 2003- Directora del Trabajo de intensificación de la alumna Flavia Vázquez (Carrera Ing. Agronómica) “Estudio de la actividad biológica de extractos de *Jaborosa lacineata* (Solanaceae) sobre *Ceratitis capitata* W. ((Diptera: Tephritidae)”
- Entrenamiento de las Tec. Floric. y Jard. María Julia Pannunzio y Delfina Tripiccio en la cría de la mosca de los frutos *C. capitata*.

- Directora del Trabajo de intensificación (Tesina de Grado) del alumno Matías Sesin (Carrera Ing. Agronómica) “Efectos biológicos de extractos de *Ricinus communis* y *Eucalyptus* sp. sobre el desarrollo de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).”
- Directora del Trabajo de intensificación (Tesina de Grado) de la alumna Lorena Balda (Carrera Ing. Agronómica) “Efectos biológicos de extractos de *Melia azedarach* y *Trichilia* sp. sobre el desarrollo de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).”

BECA DE DOCTORADO UBA

TEMA : “Efecto de los metabolitos de *Jaborosa odonelliana* y *Salpichroa origanifolia* (Solanaceae) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)” (Expte: N° 9801/98 anexo 1. Resoluciones N° 2630 y 2629).

Directora: Dra Ing. Agr. Graciela S. Mareggiani

- Período inicial: Septiembre 1999- Agosto 2001.
- En base al informe de actividades realizadas durante el primer período, obtención de la renovación por dos años más (Septiembre 2001- agosto 2003). Resol (CS) N° 688/01 - Expte 20890701
- **Evaluación final:** Satisfactorio