ECUUNCA
EDITORIAL CIENTÍFICA UNIVERSITARIA · UNIVERSIDAD NACIONAL DE CATAMARCA

CODINOA
Consejo de Decanos de Ingeniería del NOA

# INVESTIGACIONES EN FACULTADES DE INGENIERÍA DEL NOA

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
Ing. Néstor René Ledesma

Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías

Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE INGENIERIA

Universidad Nacional de Tucumán
facet
Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología

Facultad de Agronomía y Agroindustrias
Universidad Nacional de Santiago del Estero

FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY

Revista N° 7 - Año 2021 - ISSN: 1853-6662

INVESTIGACIONES EN FACULTADES
DE INGENIERIA DEL NOA
ISSN: 1853-6662

PROPIEDAD:

Esta publicación es propiedad del Consejo de Decanos de Ingeniería del NOA (CODINOA)

PUBLICACIÓN Y COMPAGINACIÓN:

Secretaría de Investigación y Posgrado - Editorial Científica Universitaria - Universidad Nacional de Catamarca - Av. Belgrano N° 300 Edif. Pab. Variante I - 2do. Piso - Predio Universitario. C. P. 4700 - San Fernando del Valle de Catamarca - Catamarca - República Argentina.

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN:

María Noelia Ariza (Editorial Científica Universitaria)

# Bioinsumos a partir de extractos de plantas aromáticas

Comelli, Nieves C. [1,2]; Lencina, Sibila I. [1,2], Denett, Gabriel O.[1,2]; Rodríguez, María R.[1,3]; Ortiz, Erlinda V.[3,4]; Romero, Mirta E.[2]; Bistoni, Silvia[2] y Duchowicz, Pablo R.[5]

*(1) Centro de Investigaciones y Transferencia de Catamarca (CITCA) – Universidad Nacional de Catamarca – CONICET. Prado Nº 366. (4700) Catamarca.*
*nccomelli@agrarias.unca.edu.ar*
*(2) Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. Avda. Belgrano y Mtro. Quiroga. (4700) Catamarca.*
*(3) Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de Catamarca-CONICET. Maximio Victoria 55 (4700) Catamarca.*
*(4) Instituto de Monitoreo y Control de la Degradación Geoambiental (IMCoDeG) – Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional de Catamarca. Maximio Victoria 55 (4700) Catamarca.*
*(5) Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), CONICET, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Diag. 113 y 64, C.C. 16, Sucursal 4, 1900 La Plata.*

RESUMEN

El uso de materiales derivados de plantas es esencial para la economía y el bienestar de las sociedades contemporáneas. Factores promotores de esta tendencia son: limitada disponibilidad de recursos naturales no renovables para la sostenibilidad de la industria en general, sustentabilidad de la agricultura, la economía rural, nuevas legislaciones y acuerdos internacionales que exigen el uso de materias primas renovables en la industria. Catamarca, por sus condiciones edafoclimáticas, presenta una amplia diversidad de plantas aromáticas y reúne condiciones privilegiadas para un cultivo de calidad y la producción de materiales derivados. Interesados en posicionar a las plantas aromáticas con atributos de utilidad para la sostenibilidad de los sistemas agrícolas provinciales y en desarrollar conocimiento para su aprovechamiento como bioinsumos, en este trabajo se revisa las bases moleculares de sus usos como productos antimicrobianos e insecticidas. Además, se reporta la experiencia de desarrollo de formulaciones a base de extractos de *Cuminum cyminum* L., *Mentha piperita* L. y *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke como sistemas de liberación gradual de principios activos y ensayadas como insecticidas de los coleópteros *Carpophilus dimidiatus* (Fabricius) (Nitidulidae) y *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Silvanidae) que infestan la nuez en áreas rurales de postcosecha en la provincia.

ABSTRACT

The use of plant-derived materials is essential to the economy and well-being of contemporary societies. Promoting factors of this trend are: limited availability of non-renewable natural resources for the sustainability of the industry in general, sustainability of agriculture, the rural economy, new legislation and international agreements that require the use of renewable raw materials in the industry. Catamarca, due to its edaphoclimatic conditions, presents a wide diversity of aromatic plants and meets privileged conditions for quality cultivation and the production of derived materials. Interested in positioning aromatic plants with useful attributes for the sustainability of provincial agricultural systems and in developing knowledge for their use as bio-inputs, this work reviews the molecular bases of their uses as antimicrobial and insecticidal products. In addition, the experience of developing formulations based on extracts of *Cuminum cyminum* L., *Mentha piperita* L. and *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke as gradual release systems of active principles and tested as insecticides of the coleopterans *Carpophilus dimidiatus* (Fabricius) (Nitidulidae) y *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Silvanidae) that infest walnuts in rural postharvest areas in the province.

Palabras claves: Bioinsumos-Plantas aromáticas-*Carpophilus dimidiatus*-*Oryzaephilus surinamensis*

Keywords: Bio-inputs-Aromatic plants-*Carpophilus dimidiatus*-*Oryzaephilus surinamensis*.

## 1. INTRODUCCION

Las plantas aromáticas son especies vegetales de las que se puede obtener, por algún proceso fisicoquímico, sustancias volátiles de olor y/o sabor determinado como expresa Bandoni (2003). En la actualidad, los extractos de estas especies (i.e. aceites esenciales, concretos, extractos crudos o purificados, resinoides, etc.) son de interés social e industrial según Christaki (2012). La agroindustria de esencias y sabores, la producción orgánicas y el mercado de los alimentos/suplementos dietarios, reposiciona su cultivo e industrialización con oportunidades frente a las siguientes demandas de desarrollo agrícola: i) multifuncionalidad y diversificación de los sistemas agrícolas, ii) la integración de prácticas agrícolas con sistemas productivos de bienes y servicios, iii) uso de nueva generación de sustancias para la nutrición, la salud humana y animal, el control y la protección de plagas y enfermedades de los cultivos, en el cuidado y remediación de problemas ambientales, etc. Carrubba (2009). En la producción agrícola, se denomina bioinsumos a formulaciones elaboradas a partir de productos biológicos derivados de micro y/o macro organismos (bacterias, hongos, artrópodos, extractos de plantas entre otros) destinados a ser aplicados como insumos en la producción agroalimentaria, agroindustrial, agroenergética y en el saneamiento ambiental según Lagler (2017). En este contexto, sustancias derivadas de plantas aromáticas, formadas principalmente por metabolitos secundarios, se definen seguros por su compatibilidad con los sistemas fisiológicos humanos y animales e intervención modificando la funcionalidad de sus órganos/sistemas con repercusión en el cuidado de su salud y bienestar (Makkar, 2007). Desde esta perspectiva, en este trabajo se revisa los aspectos relacionados con las oportunidades de uso de extractos de plantas aromáticas en la producción de bioinsumos y se presenta la experiencia de elaboración de prototipos repelentes e insecticidas para el control de los coleópteros *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* como sistemas de liberación gradual de principios activos.

## 2. PLANTAS AROMÁTICAS DE IMPORTANCIA COMERCIAL.

### *2.1 Principios Activos*

Actualmente se conocen aproximadamente 3000 especies de plantas aromáticas, 300 de los cuales son comercialmente importantes por sus aplicaciones basadas en las propiedades organolépticas (aromatizantes, correctores del sabor), terapéuticas y estética. Sus principios activos son terpenos hidrocarbonados y derivados oxigenados (terpenoides), alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, ácidos, éteres, ésteres, alcaloides, glucósidos, taninos, saponinas y nutrientes esenciales (vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos, fibras, lípidos, antibióticos) según Máthé (2014). Por sus propiedades organolépticas y biológicas, sus aceites esenciales y extractos son requeridos para productos medicinales, cosméticos, preparados herbales y compuestos intermediarios de síntesis. En la literatura internacional, muchas de las sustancias presentes en las plantas aromáticas pueden proteger a células, órganos y sistemas biológicos del daño causado por el estrés oxidativo (actividad antioxidantes y antisépticas), reducir el riesgo de cáncer o enfermedades cardiovasculares, se pueden usar en el tratamiento de enfermedades respiratorias y trastornos estomacales o inflamatorios como antimicrobianos y poseen atributos de utilidad en el control de plagas, enfermedades y arvenses según Christaki (2012) y Arraiza (2017)

### *2.2 Extractos de plantas aromáticas*

Los aceites esenciales, según Bandoni (2003) u Baser (2010), son mezclas liquidas concentradas de compuestos olorosos, volátiles, derivados del metabolismo secundario de especies de las familias Apiaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Hypericaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Leguminosae, Liliaceae, Malvaceae, Myrtaceae, Oleaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae y Zingiberaceae. Se encuentran en cavidades, ductos secretores o en pelos glandulares de hojas, tallos, corteza, flores, raíces y/o frutas como líquidos de naturaleza lipofílica y viscosa o enlazado con carbohidratos en forma de glicósidos. Cuando los compuestos volátiles no están libres, estos son liberados previa hidrólisis del enlace glicosídico y reacción enzimática que ocurre durante el corte, almacenamiento y/o secado de la planta aromática. El conocimiento de esta particularidad es importante para seleccionar la técnica de extracción para la esencia, pues la hidrólisis previa de tales glicósidos favorecerá el buen rendimiento del aceite esencial.

Los aceites esenciales se pueden obtener por destilación usando agua como agente de extracción (hidrodestilación, destilación por arrastre con vapor, destilación previa maceración con agua, etc.). Sin embargo, en los últimos años se promueve la aplicación de tecnologías extractivas verdes, tales como la extracción asistida por microondas, por ultrasonido y con fl uido supercrítico, para la obtención de mezclas volátiles según Handa (2009). Con ellas es posible manejar un amplio espectro de extractos con diferentes respuestas biológicas.

Los aceites esenciales están formados principalmente

por terpenos hidrocarbonados, derivados oxigenados (mono, sequi, di y triterpenoides) y fenilpropanoides; compuestos provenientes de las vías metabólicas del acetato, del ácido mevalónico y la vía del metileritritol-4-fosfato ó Deoxi-D-xilulosa-5-fosfato según Talapatra (2015). Sobre la composición química de los aceites esenciales, su clasificación en función del contenido presente en cada esencia es importante para determinar sus características organolépticas, calidad y/o sus efectos fisiológicos. Así, se refiere como fracción de compuestos mayoritarios, aquellos que están presentes en la mezcla en una proporción mayor al 1 %, y como minoritarios a las sustancias en concentración menor al 1%. Sobre la importancia de la fracción minoritaria, cabe destacar que en muchos casos las notas olfativas características de un aceite esencial, las aplicaciones industriales o sus efectos fisiológicos están determinadas por sus componentes minoritarios (jazmín, petit grain, rosa, mandarina, naranja, etc.) según Bandoni (2003). Luego, la bioactividad o utilidad de una determinada mezcla aromática es el resultado de la interacción de todos sus constituyentes; compuestos en mayor y menor proporción. Otros constituyentes de tejidos vegetales de plantas aromáticas se obtienen preparando extractos usando solventes de tipo no polar o de polaridad intermedia (éter de petróleo, benceno, cloroformo, éter etílico, etc.) como lo indica Ringuelet (2013). Luego, las muestras son tratadas con solventes de tipo polar (alcoholes como etanol, metanol) y finalmente con agua. Los extractos así obtenidos se denominan: i) extracto etéreo; ii) extracto alcohólico y iii) extracto acuoso. En el extracto etéreo se encuentran los compuestos químicos lipofílicos (materia grasa, esteroles, carotenoides, alcaloides, clorofila, vitaminas liposolubles, aceites esenciales), y en los otros dos extractos, los compuestos hidrofílicos (fenoles, glúcidos simples, glicósidos, alcaloides, vitaminas hidrosolubles, taninos, flavonoides). La identificación de los componentes fitoquímicos de las plantas aromáticas se puede realizar por medio de diversas metodologías analíticas según Baser (2010) y Zhang (2018). Entre las tecnologías disponibles, los métodos cromatográficos son los más relevantes y las técnicas básicas de separación incluyen cromatografía en papel, cromatografía en capa fina, cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Frente al espectro de alternativas analíticas, las decisiones sobre cual metodología utilizar, dependerá, entre otros factores, de las propiedades de solubilidad y volatilidad de los compuestos presentes en los extractos.

### *2.3 Bioactividad y mecanismos de acción de extractos de plantas aromáticas*

#### *2.3.1* Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de derivados de plantas aromáticas no se atribuye solamente a un mecanismo o blanco especifico. La hidrofobicidad de los aceites esenciales facilita la acumulación de sus componentes en la bicapa lipídica de la membrana celular perturbando la permeabilidad y la funcionalidad de sus estructuras celulares, la interrupción del homeostasis celular con inhibición del crecimiento, alteran el quorum sensing bacteriano, intervienen perturbando el sistema celular de síntesis de proteínas y provocan la muerte celular según Burt (2007) y Christaki (2012). Los metabolitos secundarios en aceites esenciales identificados como antimicrobianos naturales y usados para evitar el deterioro de los alimentos y aumentar su vida útil (bioconservantes) son los compuestos fenólicos, Cinamaldehído, Carvacrol, Timol y Eugenol, principalmente.
Aceites esenciales de *Allium sativum*, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Laurus nobilis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus*, *Ocimum basilicum*, *Curcuma longa* y *Vanilla planifolia*, demostraron actividad de interferencia inhibiendo el quorum sensing de bacterias fitopatógenas y microorganismos patógenos contra el ser humano a muy bajas concentraciones (Szabó, 2010) y Dessaux, 2018). Compuestos presentes en el aceite de *Cinnamomum verum* mostraron efecto inhibitorio en la reproducción de *Bacillus cereus* al interferir en el sistema celular de síntesis de proteínas. Moléculas como Eugenol, Cinamaldehído y Carvacrol, inhiben las enzimas que producen ATP reduciendo los niveles intracelulares del nucleótido. Aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Brassica nigra*, reducen significativamente el pH dentro de las células bacterianas, e interfieren en procesos celulares cruciales (transcripción de ADN, síntesis de proteínas y actividad enzimática) provocando la coagulación del material proteico en el citoplasma

#### *2.3.2* Actividad Insecticida

En interacción con los sistemas fisiológicos de los insectos como tóxicos de contacto, por respiración y por ingesta, los derivados de las plantas aromáticas funcionan a través de múltiples modos de acción como repelentes, insecticidas, antialimentarios, inhibidores del crecimiento y fecundidad, antixenóticos, etc. Como neurotóxicos, los extractos funcionan bloqueando neurotransmisores tales como Acetilcolina, L-glutamato, Ácido γ-aminobutírico, Dopamina, Serotonina, Norepinefrina y Octopamina alterando el metabolismo, la frecuencia cardiaca,

el movimiento y comportamiento del insecto. La carencia de algunos de los receptores mencionados en vertebrados define la acción selectiva de tales derivados sin perturbar el comportamiento y la salud de humanos y otros vertebrados según Moharramipour (2014), Pavela (2016), Regnault-Roger (2012) y Vacante (2018).

Los efectos repelentes, insecticidas, antialimentarios, ovicidas, de inhibición del crecimiento y de oviposición de los aceites esenciales fueron determinados sobre una amplia variedad de insectos (moscas, mosquitos, hormigas, cucarachas, chinches, piojos, polillas, insectos plagas de postcosecha e insectos hematófagos) según Campolo (2018). Los ingredientes activos de los aceites esenciales con propiedades insecticidas son Citronellal, Citronellol, acetato de citronelilo, Terpinen-4-ol, 1,8-Cineol, Limoneno, Carvona, p-Cimeno, α-Terpineol, □-Terpineno, Cuminaldehido, α-Geraniol, Borneol, Mentol, Tuyanol, Terpinen-7-al, Linalool, α-Terpinil acetato, Lippifoli-1(6)-en-5-ona, trans-Anetol, cis-β-Ocimeno, cis-Tagetona, trans-Ocimenona, Verbenona, Alcanfor, Guaiacol, Felandral, entre otros; según Moharramipour (2014), Hikal (2017) y Comelli (2018).

Metabolitos secundarios con actividad citotóxica y efectos controladores contra ácaros, roedores, nematodos, e insectos de los aceites esenciales de ajo (*Allium* sativum), aji (*Capsicum frutescens*), higuerilla (*Ricinus communis*), neem (*Azadirachta indica*) y paraíso (*Melia azedarach*) ha sido aprovechada para la formulación de insecticidas comerciales -firma EcoSMART según Isman (2011)). La presencia de los compuestos Acido Gárlico, Aliina, Alicina, Capsaicina, Ricina, Ricinina y Azadiractina, considerados estrategia defensiva en dichas plantas, proporciona a sus extractos propiedades biocidas de interés para la producción de bioinsumos micro y nanoparticulados.

2.3.3 Nanotecnología. Sistemas de liberación micro y nanoparticulados para extractos de plantas aromáticas

La Nanotecnología es una actividad multidisciplinaria dirigida a la ingeniería y manipulación de objetos hasta 100 nanómetros en tamaños según Prasad (2014). El diseño de nuevas herramientas moleculares (nanopartículas) como sistemas que permiten el transporte y suministro con precisión de muy pequeñas cantidades de sustancias bioactivas, pueden ser utilizadas en la preparación de nuevas formulaciones como antimicrobianos y biocidas de insectos según Athanassiou (2018). Usando polímeros biodegradables de bajo costo como quitosano, alginato o polietilenglicol, un nanoproducto presenta alta penetrabilidad en células y núcleos de objetivos a controlar, por su gran área de superficie especifica. Luego, nanoemulsiones, nanoencapsulados, y nanocajas han demostrado potencial aplicación para mantener y, en ocasiones, aumentar la actividad biológica de productos naturales insecticidas según Bhatia (2016).

Particularmente, las propiedades de estabilidad, permeabilidad, cristalinidad, solubilidad y biodegradabilidad de nanomateriales poliméricos derivados del Polietilenglicol (PEG); un transportador de principios activo en la industria farmacéutica, lo muestran buen candidato para el desarrollo de formulaciones nanopesticidas según Werding González (2014). Dicha matriz polimérica encapsula principios activos reduciendo su reactividad con el ambiente (i.e. agua, luz, oxígeno), controla su difusión o transferencia al medio ambiente, y promueve una distribución uniforme de los principios activos en los productos finales cuando se utilizan en baja concentración.

### 2.4 *Formulaciones insecticidas a base de aceites esenciales para el control de coleópteros que infestan la nuez en postcosecha*

La producción de nuez en Catamarca presenta problemas fitosanitarios que no encuentran paliativos desde los enfoques convencionales de manejo de plagas. Los coleópteros *Carpophilus dimidiatus (Fabricius)* (Nitidulidae) y *Oryzaephilus surinamensis (L.)* (Silvanidae) son responsables del deterioro de la nuez en sistemas rurales tradicionales de almacenamiento en la provincia de Catamarca. Aceites esenciales de plantas aromáticas, que crecen en zonas aledañas a las áreas tradicionales de nogalicultura en la provincia de Catamarca, poseen actividad insecticida sobre coleópteros de la familia Nitidulidae y Silvanidae (Comelli, 2018).

Interesados en desarrollar pesticidas naturales basados en aceites esenciales capaces de controlar coleópteros de la familia Nitidulidae y Silvanidae, aquí presentamos resultados de la efectividad repelente e insecticida de los aceites esenciales de *C. cyminum* (comino), *M. piperita* (Menta) y *A. polystachya* (te de burro) y la acción repelente e insecticida de formulados a base de PEG de masa molecular 6000 como sistema microestructurado de liberación gradual de principios activos presentes en los aceites en estudio.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo, los aceites esenciales fueron obtenidos por destilación de una suspensión acuosa del material vegetal aromático, la cual, durante la extracción, se lleva a ebullición y los vapores generados -agua y aceites esenciales- son condensados y colectados en un embudo de decantación (hidrodestilación). Las formulaciones de PEG6000 con los distintos aceites esenciales (PEG-AEs) fueron preparadas usando 5g de PEG 6000 y 625 µL de aceite esencial según método de dispersión por fusión y cristalización indicado en Werding González (2014).

La actividad repelente e insecticida de los aceites esenciales se determinó usando el método de microatmósfera exponiendo insectos a superficies tratadas con soluciones de aceites esenciales a dosis de 0.02-1.6 µl/cm$^2$ disueltos en acetona según Tapondjou (2005). El diseño experimental empleado para la evaluación biocida de *C. cyminum*, *M. piperita* y *A. polystachya*, contra los insectos *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* se resumen en Tablas 1S de material suplementario. La eficacia insecticida de las formulaciones de PEG-AEs se evaluó con olfatómetros de 2 vías según Dal Bello (2006). Estos dispositivos fueron construidos en nuestro laboratorio usando dos envases de vidrio hexagonales de 330 mL de capacidad los cuales son conectados mediante un tubo plástico de 30 x 1 cm de diámetro en los que se abrió una pequeña ventana de 1 x 1 cm para el ingreso de insectos. Para los ensayos, dentro de cada recipiente se colocó 5 g nuez, 0,18 g de nanopartículas cargadas con volátiles conteniendo la concentración de aceite equivalente a la dosis de ensayo 0.6 µl/cm$^2$ y 20 insectos adultos entre 7 y 14 días de edad.

## 4. RESULTADOS

Actualmente, las plantas aromáticas de *C. cyminum*, *M. piperita y A. polystachya* se comercializan como productos naturales con mínimo valor agregado (material vegetal fresco, hierbas y especias deshidratadas entera, triturada o pulverizada, solas o en mezclas). Datos de CG-MS de sus aceites esenciales revelan que poseen compuestos activos tales como Limoneno, Carvona, 1,8-Cineol, Mentona, Mentol, β-pineno, p-Cimeno, γ-Terpineno, Cuminaldehido, α-Terpinen-7-al, y γ-Terpinen-7-al, aprovechables como repelentes e insecticidas de los insectos *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* segun Comelli (2018).

Datos de bioactividad reunidos para los aceites esenciales en estudio se presentan en las Tablas 1 y 2. Cada dato de bioactividad representa el valor promedio de cinco réplicas y 3 repeticiones ensayadas en oscuridad a 27 ± 5 °C de temperatura y 60-80% de humedad relativa. Para ensayos de repelencia se efectuó el recuento de individuos en la zona de tratamiento a las 2 y 4 horas de efectuados los tratamientos. Por su parte, el porcentaje de mortalidad se registró cada 24 horas durante 5 días.

Tabla 1: Actividad repelente (PR) de los aceites esenciales de *C. cyminum, M. piperita.* y *A. polystachya* contra *C. dimidiatus* y *O. surinamensis*

| Aceites esenciales | Dosis | Ensayo Repelencia *C. dimidiatus* | Ensayo Repelencia *O. surinamensis* |
|---|---|---|---|
| *C. cyminum* | 0,6 | 88,9 | 82,0 |
| | 0,4 | 77,0 | 94,0 |
| | 0,2 | 62,0 | 96,0 |
| | 0,1 | 72,0 | 92,0 |
| | 0,05 | 73,8 | 80,0 |
| Promedio PR | | 74,74 | 88,80 |
| *M. piperita* | 0,6 | 94,0 | 42,1 |
| | 0,4 | 80,7 | 56,3 |
| | 0,2 | 48,7 | 68,1 |
| | 0,1 | 52,7 | 44,0 |
| | 0,05 | 41,3 | 28,0 |
| Promedio PR | | 63,48 | 47,70 |
| *A. polystachya* | 0,6 | 76,4 | 45,7 |
| | 0,4 | 68,7 | 47,5 |
| | 0,2 | 72,0 | 50,0 |
| | 0,1 | 66,7 | 60,0 |
| | 0,05 | 56,3 | 48,4 |
| Promedio PR | | 68,02 | 50,32 |

Tabla 2: Actividad insecticida de los aceites esenciales de *C. cyminum, M. piperita* y *A. polystachya* contra *C. dimidiatus* y *O. surinamensis*

| Aceites esenciales | Dosis | Ensayo Toxicidad *C. dimidiatus* | Ensayo Toxicidad *O. surinamensis* |
|---|---|---|---|
| *C. cyminum* | 1,6 | 100 | 100 |
| | 0,8 | 100 | 100 |
| | 0,4 | 100 | 100 |
| | 0,2 | 100 | 100 |
| Promedio PM | | 100 | 100 |
| *M. piperita* | 1,6 | 97,23 | 86,6 |
| | 0,8 | 88,90 | 63,8 |
| | 0,4 | 58,07 | 66,5 |
| | 0,2 | 41,00 | 49,5 |
| Promedio PM | | 71.3 | 66.6 |
| *A. polystachya* | 1,6 | 100 | 100 |
| | 0,8 | 100 | 100 |
| | 0,4 | 100 | 100 |
| | 0,2 | 78,55 | 100 |
| Promedio PM | | 94,60 | 100 |

Según nuestros resultados, los aceites esenciales ensayados mostraron actividad repelente e insecticida

en el rango entre 47,70 y 88.80 % contra las especies de coleópteros en estudio.Variaciones en datos de actividad repelente con los tratamientos revelan la tendencia general de intensificación de los efectos biocidas con el aumento de la dosis de aceites esencial ensayada. Así, a dosis de 0,6 y 1.6 µl/cm$^2$ mayores efecto de bioactividad se observa. Luego, pruebas de significación estadística aplicadas para comparar datos de bioactividad promedio de los aceites esenciales contra *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* evidencian que se debe aceptar la hipotesis estadistica nula, es decir, no existe diferencias significativas entre tratamientos y comportamiento de insectos en atmósferas con *C. cyminum, M. piperita* y *A. polystachya*. (*Razón-F con valor-P*≥ 0,05 en Tablas 2S.A-B, Material suplementario).

Respecto de la eficacia repelente e insecticida de las formulaciones de PEG 6000 con aceites esenciales de *C. cyminum*, *M. piperita* y *A. polystachya*, (Tabla 3), estas muestran repelencia y mortalidad estadísticamente significativa entre 70 y 100% sin diferencias de susceptibilidad entre las plagas en tratamientos (*Razón-F con valor-P*≥ 0,05 en Tablas 2S.C-D, Material suplementario). Estos resultados indican la presencia cuali y cuantitativa de los constituyentes activos de los aceites en PEG-AEs, su responsabilidad en los efectos repelente e insecticida observados y en la reproducibilidad de las tendencias observadas en las repeticiones y réplicas del diseño experimental implementado.

De la experiencia adquirida, nuevas líneas de trabajo proyectan la evaluación de la dosis de actividad subletal y letal de las formulaciones reportadas, la efectividad de las dosis a escala semicampo y campo en condiciones de postcosecha y el efecto biocida sobre otros insectos plagas hortícolas y enemigos naturales.

Además, investigaciones sobre las propiedades fisicoquímicas de las PEG-AEs tales como: i) cambio en la concentración del principio activo en la formulación con la humedad y la temperatura usando espectrofotometría UV-Vis, ii) morfología y tamaño de las partículas de las nuevas formulaciones con microscopía electrónica y, iii) análisis CG-EM para evaluar diferencia en abundancia de los componentes volatiles entre el aceite libre y el encapsulado generará información que permitirá evaluar la posibilidad de incorporar las formulaciones PEG-AEs en programas de manejo para el control en postcosecha de *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* en los sistemas nogaleros de la provincia de Catamarca.

Tabla 3: Actividad repelente e insecticida de PEG-AEs contra *C. dimidiatus* y *O. surinamensis*

| PEG-AEs | Repelencia | Toxicidad | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Dosis | C. dimidiatus | *O. surinamensis* | *C. dimidiatus* | *O. surinamensis* |
| **C. cyminum** | 0,6 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| **M. piperita** | | 80,0 | 90,0 | 70,0 | 90,0 |
| **A. polystachya** | | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

## 5. CONCLUSIONES

Frente al interés mundial por la valoración y consumo de productos naturales no tradicionales; en este trabajo, la investigación documental realizada revisa: i) las bases moleculares del uso de extractos de plantas aromáticas como materia prima en la elaboración de productos antimicrobianos e insecticidas y, ii) las oportunidades que los sistemas micro y nanoparticulados ofrecen a la liberación controlada de moléculas aromáticas funcionales. Sobre lo último, nosotros reportamos la experiencia de desarrollo de formulaciones de PEG6000 a base de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilacion de *C. cyminum*, *M. piperita y A. polystachya*. Tales volátiles fueron identificados como repelentes e insecticidas de *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* por estar formados por los principios activos Limoneno, Carvona, 1,8-Cineol, Mentona, Mentol, β-pineno, p-Cimeno, γ-Terpineno, Cuminaldehido, α-Terpinen-7-al, y γ-Terpinen-7-al procedentes de *C. cyminum*., *M. piperita* y *A. polystachya*. Para el desarrollo de formulaciones insecticidas naturales, los aceites esenciales seleccionados fueron encapsulados por método de fusión-dispersión en PEG6000. La eficacia repelente/insecticida de las formulaciones PEG-AEs en el rango 70-100% permite proyectar más estudios para avalar su incorporación como sistema de control alternativo en programas de manejo de *C. dimidiatus* y *O. surinamensis* en los sistemas nogaleros de la provincia de Catamarca

## 6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen financiamiento al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), a la Secretaria de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional de Catamarca

y al Consejo Federal de Ciencia y Tecnología (COFECyT).

## 7. REFERENCIAS


Arraiza, M.P., C. Calderón-Guerrero, S.C. Guillén, M.A. Sarmiento. *Medicinal and Aromatic Plants. The Basics of Industrial Application*, Bentham Science Publishers, Dubahi, 2017.

Athanassiou, C. G., N.G. Kavallieratos, G. Benelli, D. Losic, P. Usha Rani, N. Desneux. Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives, *Journal* of *Pest Science,* 91: 1–15, 2018.

Bandoni, A.L. *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamerica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores.* CYTED. Ciencia y Tecnologia para el desarrollo, Buenos Aires, Argentina, 2003.

Baser, K.H.C., G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications, CRC Press. Taylor & Francis Group United States of America, 2010.

Bhatia, S. *Natural polymer drug delivery systems: Nanoparticles, plants, and algae*, Springer. Switzerland, 2016.

Burt, S. A., *Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food*, Utrecht University, Netherlands, 2007.

Campolo, O., G. Giunti, A. Russo, V. Palmeri, L. Zappalá, Essential Oils in Stored Product Insect Pest Control. *Journal of Food Quality,* 2018.

Carrubba, A., C. Catalano, Essential Oil Crops for Sustainable Agriculture – A Review. In *Sustainable Agriculture Reviews: Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms,* Lichtfouse, E., Springer Science+Business Media, 2009.

Comelli, N. C., O. E. Romero, P. A. Diez, C. F. Marinho, P. Schliserman, A. Carrizo, E. V. Ortiz, P. R. Duchowicz, QSAR Study of Biologically Active Essential Oils against Beetles Infesting the Walnut in Catamarca, Argentina, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 66, 48, 12855-12865, 2018.

Christaki, E., E. Bonos, I. Giannenas, P. Florou-Paneri, Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agriculture*, 2, 228-243, 2012.

Dal Bello, G., S. Padín, Olfatometro simple para evaluar la actividad biologica de aleloquimicos vegetales en Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae), *Agrociencia*, 2, 23-26, 2006.

Dessaux, Y., D. Faure, Quorum Sensing and Quorum Quenching in Agrobacterium: A Go/No Go System?, *Genes*, 9, 210, 2-11, 2018.

Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo, D. D. Rakesh, *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.* International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy, 2009.

Hikal, W. M., R. S. Baeshen and H. A. H. Said-Al Ahl. "Botanical insecticide as simple extractives for pest control." Cogent Biology 3: 1-16, 2017.

Isman, M. B., S. Miresmailli, C. Machial, Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochem. Rev*,10, 197–204, 2011.

Lagler, J. C. Bioinsumos: Distintas percepciones haciendo foco en la fertilización biológica, *Agronomía & Ambiente,* Revista de la facultad de Agronomia UBA 37, 73-89, 2017.

Makkar, H. P. S., P. Siddhuraju, K. Becker, *Plant Secondary Metabolites,* Humana Press Inc. Springer Science+Business Media, Totowa, New Jersey, 2007.

Máthé, A. *Medicinal and Aromatic Plants of the World. Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects.* Springer Science+Business Media, Netherlands, 2014.

Moharramipour, S., M. Negahban, Plant Essential Oils and Pest Management., in *Basic and Applied Aspects of Biopesticides*, Ed. Sahayaraj, K, Springer, India, 2014.

Pavela, R., G. Benelli, Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*, 21, 1000-1007, 2016.

Prasad, R., V. Kumar, K. S. Prasad, Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*, 13, 6, 705-713, 2014.

Regnault-Roger, C., C. Vincent, J.T. Arnason, *Essential oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World,* Annual Review of Entomology, 57, 405-424, 2012.

Ringuelet, J., S. Viña, *Productos Naturales Vegetales.* Edulp (Editorial Universidad de la Plata), La Plata, Buenos Aires, Argentina, 2013.

Szabó, M. Á., G. Z. Varga, J. Hohmann, Z. Schelz, E. Szegedi, L. Amaral, J. Molnár, Inhibition of Quorum-sensing Signals by Essential Oils, *Phytotherapy Research,* 24, 782–786, 2010.

Talapatra, S. K., B. Talapatra, *Chemistry of Plant Natural Products. Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology, and Medicine*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2015.

Tapondjou, A. L., C. Adlerb, D. A. Fontem, H. Bouda, C. Reichmuth, Bioactivities of cymol and essential oils of Cupressus sempervirens and Eucalyptus saligna against Sitophilus zeamais Motschulsky and Tribolium confusum du Val." *Journal of Stored Products Research*, 41, 91–102, 2005.

Vacante, V., S. Kreiter, *Handbook of Pest Management in Organic Farming.* CABI, London, UK, 2018.

Werdin González, J. O., M. M. Gutiérrez, A.

A. Ferrero, B. Fernández Band, Essential oils nanoformulations for stored-product pest control – Characterization and biological properties, *Chemosphere*, 100, 130–138, 2014.

Zhang, Q.W., L.G. Lin, W.C.Ye, Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review, *Chinese Medicine*, 13, 20, 2-26, 2018.