

# Estudio y desarrollo de estrategias basadas en semioquímicos y nanocarriers para el control de insectos plaga urbana

Mariano Cáceres<sup>1</sup>, Laura Mugas<sup>1</sup>, Eliana M. Cuello<sup>1</sup>,  
María E. Ortiz Blanche<sup>1</sup>, Pablo L. Santo Orihuela<sup>1,2</sup>,  
Claudia V. Vassena<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> División de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (DIPEIN) - DEIBIOTOX - CITEDEF - UNIDEF - CONICET, MINDEF, San Juan Bautista de La Salle 4397 (1603), Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Cátedra de Química Analítica Instrumental - Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad de Buenos Aires, Junín 954 (1113), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Instituto de Ingeniería e Investigaciones Ambientales - Universidad Nacional de San Martín, Campus Miguelete, 25 de Mayo y Francia (1650), San Martín, Buenos Aires, Argentina, [mcaceres@citedef.gob.ar](mailto:mcaceres@citedef.gob.ar)

**Abstract.** El control de insectos plaga urbana y vectores de enfermedades, consiste principalmente en el uso de insecticidas piretroides. Sin embargo, el uso recurrente y a menudo irracional de estos insecticidas puede conducir al desarrollo de resistencia en la plaga que se quiere controlar. En las últimas décadas, se ha registrado un incremento en las infestaciones de chinches de cama *Cimex lectularius* en todo el mundo, un fenómeno que está asociado con niveles altos de resistencia a insecticidas y a la falta de alternativas para su monitoreo y control. Asimismo, existen focos de resistencia a insecticidas de la vinchuca *Triatoma infestans*, vector de la enfermedad de Chagas, en el Norte argentino. Por ello, nuestro grupo de trabajo estudia la resistencia en chinches de cama y vinchucas colectadas en Argentina. Además, evaluamos compuestos repelentes/attractantes, y desarrollamos nanomateriales que permitan utilizar compuestos bioactivos para el manejo de estos insectos plaga.

**Palabras clave:** Ecología química, Chinches de cama, insectos

## 1. Introducción.

El control de insectos plaga tradicionalmente ha sido realizado mediante la aplicación de insecticidas sintéticos. Sin embargo, desde la prohibición del DDT y las posteriores restricciones de diferentes ingredientes activos (i.a.), debido a sus efectos negativos en la salud y el ambiente, las opciones disponibles para la lucha contra los insectos de importancia sanitaria y de ambientes urbanos son limitadas [1,2]. Actualmente, la aplicación de insecticidas piretroides constituye la estrategia más utilizada para el control químico de insectos de importancia sanitaria y urbana como la chinche de cama *Cimex lectularius*, una plaga reemergente en todo el mundo [3,4]. Los piretroides son los insecticidas de uso común para el control de esta plaga debido a su alta eficacia, baja toxicidad en mamíferos y elevada residualidad. Sin embargo, el uso intensivo de insecticidas ejerce una presión selectiva de aquellos individuos resistentes en las poblaciones de insectos, lo cual puede ser heredado en las sucesivas generaciones. En consecuencia, numerosas especies de insectos han desarrollado resistencia a insecticidas y las fallas de control asociadas dificultan el manejo de las infestaciones, e incrementan los riesgos en la salud humana [4].

Por lo tanto, el desafío actual consiste en desarrollar estrategias de control alternativas a los insecticidas sintéticos para lograr un manejo integral de las plagas. En este sentido, el uso de semioquímicos cobra relevancia dado que constituyen una herramienta con bajo impacto ambiental debido a su alta selectividad, y porque contribuyen con el manejo de la resistencia, permitiendo reducir las aplicaciones de insecticidas, y la disminución de la presión de selección [4,5]. Cabe destacar que los semioquímicos son compuestos volátiles y no volátiles que los organismos producen y regulan una amplia variedad de comportamientos de manera intra e interespecífica. En los insectos hematófagos, los comportamientos de búsqueda y orientación hacia el alimento, así como también la cópula o alarma, son regulados por semioquímicos volátiles que ellos, o sus hospedadores producen [5]. Asimismo, los aceites esenciales (AE), o sus componentes individuales, extraídos de las plantas tienen la capacidad de inhibir o interrumpir la actividad y comportamientos de los insectos.

Actualmente, las estrategias de control y monitoreo basadas en semioquímicos para el manejo de estas especies son escasas. Algunos diseños de trampas con cebos atractantes (CO<sub>2</sub>, calor, feromonas) están disponibles comercialmente [5], aunque su eficacia es limitada dado que no controlan la liberación de i.a., y requieren su frecuente reposición. De manera similar, se ha demostrado que componentes fenólicos de los AE tienen acción insecticida, antialimentaria o repelente. Sin embargo, su formulación es limitada debido a su alta volatilidad, baja solubilidad en agua y porque son química y térmicamente poco estables [5].

Con el objetivo de desarrollar y diseñar estrategias innovadoras para el control de plagas, en este trabajo se presentan los resultados obtenidos de la evaluación de compuestos repelentes y atractantes en chinches de cama.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Insectos.

Utilizamos cinco colonias de chinches de cama para los ensayos de comportamiento. La colonia Harold Harlan (HH-S) es la cepa susceptible que se ha mantenido en laboratorio sin exposición a insecticidas desde hace más de cuatro décadas. Las colonias recolectadas en campo se iniciaron con especímenes obtenidos de infestaciones en hoteles de diferentes ciudades argentinas [4]. Los insectos se mantienen en cría en el insectario del CIPEIN a  $25 \pm 1,5$  °C,  $40 \pm 15\%$  de humedad relativa (HR) y 12:12 h (L:O). Se recolectaron ninfas de IV y V estadios y se alimentaron *ad libitum* para garantizar la muda. Posteriormente (7-10 días), se utilizaron ninfas recién mudadas del 5° estadio, o machos y hembras (1:1) para evaluar repelencia o atractantes, respectivamente.

### 2.2. Ensayos de repelencia.

Los experimentos se realizaron con ninfas V de HH-S y cuatro cepas resistentes a insecticidas. La arena experimental consistió en un papel de filtro circular (110 mm) dividido en dos zonas con áreas iguales (35 y 26 cm<sup>2</sup>): un círculo interior y un anillo exterior. Se utilizaron N,N-Dietil-meta-toluamida (DEET) 97%, etil 3-[acetil(butil)amino]propanoato (IR3535) 99% y  $\delta$ -dodecalactona 97,5% (grado técnico, Sigma-Aldrich). Se utilizó acetona como solvente y se aplicó sola en los tratamientos de control. La zona exterior de la arena se impregnó con 0,5 ml de solución repelente (1,40 mg/cm<sup>2</sup>). Se colocaron cinco ninfas en el centro de la arena y se registraron las posiciones individuales cada cinco minutos durante 1 hora. Calculamos un Índice de Repelencia para cada cepa y p.a.:  $[(Nc - Nt)/Nc] \times 100$ , donde Nc es el número de individuos en la zona exterior en la arena de control, y Nt es el número de individuos en la zona exterior en el papel tratado. Se realizaron tres réplicas para cada tratamiento.

### 2.3. Ensayos de atractantes cuticulares.

Para la extracción de compuestos cuticulares, se analizaron por separado especímenes machos y hembras. Una muestra consistió de 8 o 16 insectos que se sumergieron en 150  $\mu$ L de solvente hexano durante 5 minutos para extraer los lípidos totales. El volumen de hexano se redujo bajo corriente de nitrógeno para muestra concentrar la muestra. Luego se resuspendió en 40  $\mu$ L de solvente y se aplicó a un trozo de papel de filtro (3,75 cm<sup>2</sup>), mientras que otro trozo de papel se impregnó con 40  $\mu$ L de solvente, y se colocaron en las zonas tratada y control, respectivamente. Se evaluó el comportamiento individual (macho o hembra) en presencia de los extractos cuticulares de machos y hembras. La arena consistió en un papel de filtro circular (90 mm) dividido en dos áreas iguales: un área de control (solvente) y el área tratada (extracto). Se ubicó un individuo experimental en el centro de la arena y se aclimató durante 10 minutos. Luego, se registró su movimiento durante 15 minutos con una cámara web. Los registros de video se analizaron con el software Ethovision XT 10.0. Se obtuvo el tiempo que el individuo pasó en cada sector (control/tratado) y se utilizó para estimar un Índice de Preferencia (IP):  $IP = Nt / (Nt + Nc)$ , donde Nt es el tiempo en el área con el estímulo y Nc es el tiempo en el área de control. El índice asume valores entre 0 y 1, donde 0 indica que los insectos permanecieron más tiempo en la zona sin estímulo y 1 significa que los insectos prefirieron la zona tratada.

### 2.2. Análisis estadístico.

Los datos de Repelencia se analizaron mediante ANOVA factorial, y la prueba de Tukey permitió detectar diferencias entre las colonias para cada repelente con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . También se realizó un ANOVA factorial para determinar la preferencia de chinches adultos hacia los diferentes extractos cuticulares de ambos sexos. Se analizaron las variables comportamentales con un análisis componentes principales (ACP) para determinar las variables que determinan el comportamiento de estos insectos y buscar patrones entre las mismas. Las diferencias entre la respuesta comportamental de machos y hembras ante la presencia de extractos cuticulares de ambos sexos se evaluaron utilizando la prueba LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico Infostat y R studio.

## 3. Resultados

En todas las colonias de chinches, el IR3535 causó una repelencia significativamente menor que la DEET y la  $\delta$ -dodecalactona ( $F = 17,6$ ;  $p = 0,0001$ ) (Figura 1). Además, el efecto repelente de IR3535, DEET y  $\delta$ -dodecalactona fue significativamente diferente entre colonias ( $F = 4,35$ ;  $p = 0,0006$ ). Las colonias resistentes a insecticidas presentaron una repelencia reducida en comparación con las susceptibles, en promedio fue de  $0,15 \pm 0,2$  en las colonias Barracas, Pergamino y Tigre y de  $0,25 \pm 0,2$  en la colonia Retiro (media  $\pm$  DE). Mientras que la repelencia de DEET y  $\delta$ -dodecalactona en la cepa susceptible fue de  $0,95 \pm 0,12$ , y fue mayor que la repelencia observada en las colonias restantes (Figura 1B y 1C, respectivamente).

El estudio de las variables comportamentales muestra una alta correlación entre las variables de movimiento. El ACP agrupa las variables según la variabilidad que estas explican; el componente 1 del ACP explicó un 65% de la variabilidad observada en los bioensayos (Figura 2A). La velocidad y alta movilidad

describen mayormente el comportamiento observado. El comportamiento de chinches de cama adultas en presencia de extractos cuticulares fue significativamente diferente según la composición del extracto ( $F=9,25$ ,  $P=0,0003$ ). Las hembras tuvieron una preferencia significativa por el área con estímulos extraídos de 16 machos/hembras (Figura 2B). De manera similar, los individuos de ambos sexos respondieron con una preferencia significativa por el área tratada en el control positivo (tratamiento con extracto de heces).

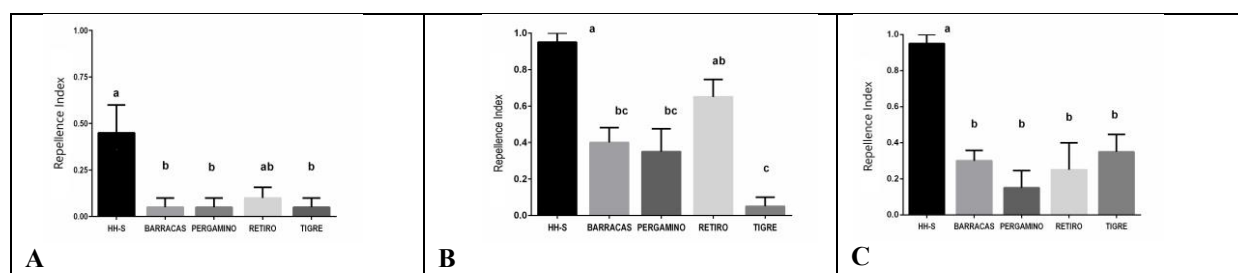


Fig. 1. Evaluación del efecto repelente de IR3535 (A),  $\delta$ -dodecalactona (B) y DEET (C). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las colonias de chinches de cama para cada i.a.

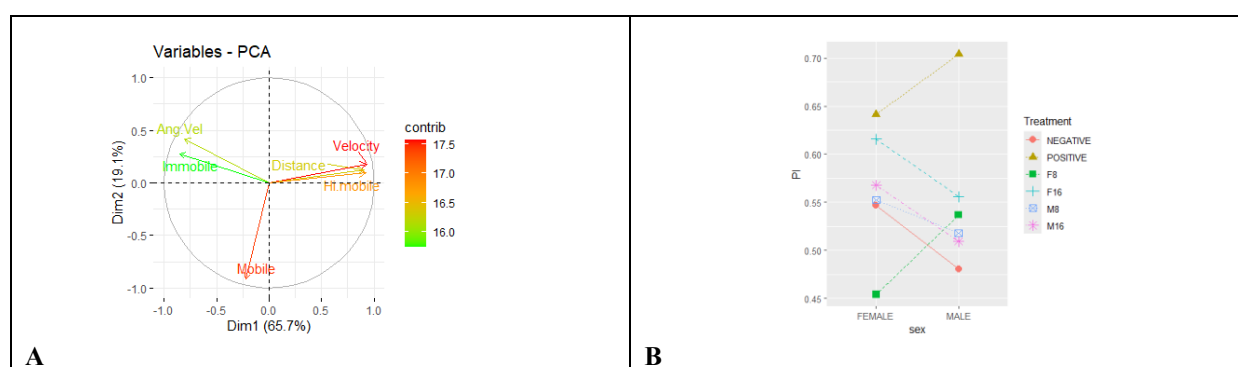


Fig. 2. Estudio del efecto de extractos cuticulares en chinches de cama. Las variables de movimiento en dos dimensiones del ACP (A) y gráficos de perfil de hembras (female) y machos (male) en presencia de extractos de cada sexo (B).

## 4. Resultados y Discusión

Estudiamos las respuestas comportamentales a compuestos modificadores del comportamiento en chinches de cama. Por un lado, DEET y  $\delta$ -dodecalactona mostraron una repelencia mayor en las distintas colonias de chinches, a diferencia del IR3535. Sin embargo, entre las colonias resistentes, el efecto de estos repelentes fue menor en comparación con los susceptibles. Por otro lado, el comportamiento de las chinches adultas al extracto cuticular sugiere cierto papel en la comunicación entre adultos como clave de atracción, pero la extensión e intensidad del estímulo no es suficiente para producir agregación/arrestamiento.

La eficacia de estos compuestos para utilizarse para la protección personal y ayudar a disminuir la presión de selección de insectos resistentes requiere de un estudio más detallado de la biología y ecología de las chinches de cama. Asimismo, en una etapa que se encuentra en desarrollo, estamos diseñando y evaluando diferentes matrices nanotecnológicas para incluir compuestos atractantes/repelentes para lograr una carga adecuada y la liberación controlada que resulten en formulaciones más efectivas.

### Referencias bibliográficas

- Romero, A., Potter, M.F., Potter, D. A.: Insecticide resistance in the bed bug: a factor in the pest's sudden resurgence? J. Med. Entom. 44, 175--78 (2007)
- Koganemaru R. & D. Miller.: The bed bug problem: Past, present, and future control methods. Pestic. Biochem. Physiol. 106: 177--89 (2013):
- Adelman, Z.N., Kilcullen, K.A., et al.: Deep sequencing of pyrethroid resistant bed bugs reveals multiple mechanisms of resistance within a single population. PLoS One 6:e26228 (2011).
- Cáceres M., Santo-Orihuela P.L., & C.V. Vassena: Evaluation of resistance to different insecticides and metabolic detoxification mechanism by use of synergist in the common bed bug (Heteroptera: Cimicidae). J. Med. Entom. 56: 1324--30 (2019).
- Weeks E., Birkett M.A., Cameron M.M., et al. Semiochemicals of the common bed bug (Hemiptera: Cimicidae), and their potential for use in monitoring and control. Pest. Manag. Sci. 67:10-2 (2010).