



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Estudios dirigidos a la ecología química de insectos plaga mediante semioquímicos

Aroa Domínguez Cuadrado

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# ***INTRODUCCIÓN GENERAL***

---

*Capítulo 1*



## 1. CONTROL DE INSECTOS PLAGA

El phylum Arthropoda, con más de un millón de especies descritas, es el filo del reino animal más grande, englobando aproximadamente el 80% de todas las especies pertenecientes a dicho reino (Zhang, 2011; Zhang, 2013). Dentro de éste, la clase Insecta representa el 80% de todos los artrópodos con un total de 1.070.781 especies conocidas (Zhang, 2013). Los insectos están presentes en todos los ecosistemas terrestres desempeñando importantes funciones ecológicas, como la polinización y la descomposición de la materia orgánica, además de estar en constante interacción con las actividades humanas. Así, algunos de ellos son beneficiosos para el hombre, como los productores de seda y miel, mientras que otros provocan perjuicios como la transmisión de enfermedades y pueden ser causantes de importantes plagas para la agricultura y bosques (Leal, 2013).

La Real Academia define el término plaga como una “aparición masiva y repentina de seres vivos de la misma especie que causan graves daños a poblaciones animales o vegetales”. Esta definición ha evolucionado hoy en día hasta entenderse como una situación en la que una especie animal provoca daños físicos y económicos a los intereses de las personas, como salud, animales domésticos, medios naturales, cultivos, etc. (<https://boletinagrario.com/ap-6,plaga,959.html>).

Desde que el hombre se convirtió en agricultor ha tenido que combatir las plagas que atacaban a sus cultivos y productos almacenados. A lo largo de la historia, distintas civilizaciones han hecho uso de sustancias con actividad insecticida y rodenticida para atenuar el efecto de las plagas, como el azufre, arsénico, algunos compuestos de fósforo, y derivados de plantas como la nicotina y el piretro, así como ciertas técnicas culturales (Arata, 1986; Panagiotakopulu et al., 1995; Kogan, 1998). A principios del siglo XIX y debido a la revolución industrial y al aumento de la población mundial, la agricultura adquirió un cierto carácter “industrial” y se desarrollaron una serie de sustancias tóxicas para combatir las plagas, en su mayoría sales de metales pesados, como el arseniato de plomo, ácido cianhídrico o el ácido carbólico (Arata 1986). Con el avance de la ciencia el número de productos empleados en agricultura aumentó, produciéndose una verdadera explosión a partir de la II Guerra Mundial, cuando el científico suizo Paul Hermann Müller descubrió el diclorodifeniltricloroetano o DDT (1939). Tras este descubrimiento surgió una potente industria destinada a la síntesis de productos químicos y su uso en agricultura se expandió rápidamente, apareciendo insecticidas conocidos como de segunda generación: los organofosforados, organoclorados y carbamatos. Estas sustancias se empleaban de forma indiscriminada sobre grandes extensiones de terreno que buscaban la aniquilación total de la plaga, conociéndose hoy en día como **lucha sistémica**. Unos años después empezaron a hacerse públicos los efectos negativos ocasionados por este tipo de lucha, como la contaminación ambiental, el desarrollo de resistencias, resurgimiento de la plaga, y peligro para la salud pública, y junto con la aparición del movimiento ecologista, se pasó a lo que se conoce como **lucha dirigida o manejo supervisado de insectos**. En ésta y bajo el consejo de especialistas se redujo el uso de estas sustancias a parcelas concretas basándose en el muestreo de la población plaga y de sus enemigos naturales, lo que se tradujo en una mayor eficacia en el tratamiento y reducción de costes y efectos adversos. Es en este momento cuando se introdujeron por primera vez los términos umbrales de tratamiento,

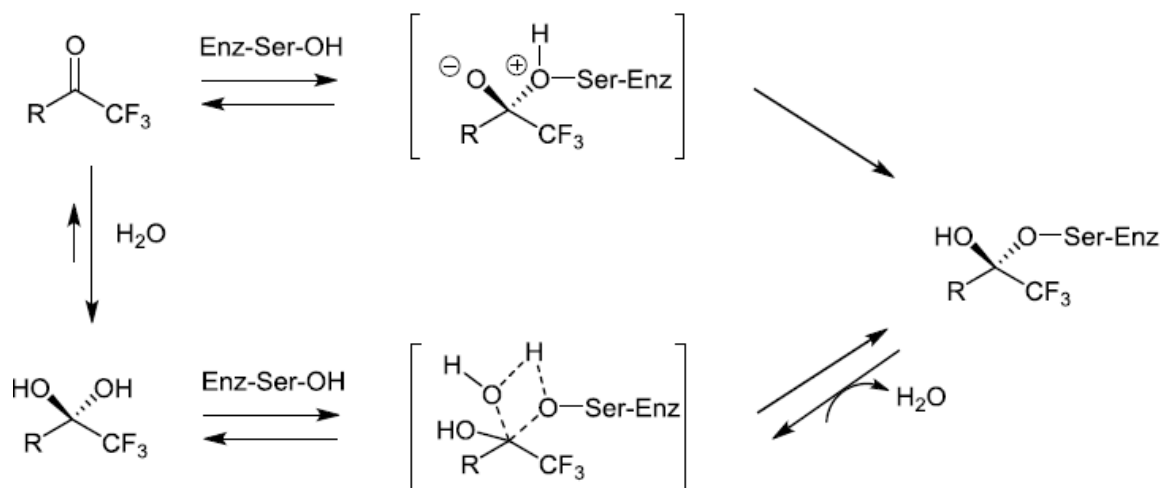
toxicidad, protección de la fauna auxiliar y buenas prácticas agrícolas (Ehler, 2006). Este tipo de lucha ha evolucionado hasta hoy en día en lo que se conoce como **control integrado de plagas** (Integrated Pest Management, IPM), que se basa en un conjunto de métodos mecánicos, biológicos, químicos y prácticas culturales, respetuosos con el medio ambiente y que tratan de mantener las poblaciones de organismos perjudiciales en niveles inferiores a los que causan daños económicos o pérdidas inaceptables. Dentro de los métodos de control utilizados, algunas de las alternativas de gran potencial para el control de plagas de insectos, y de las que tratará la presente tesis, son el uso de **semioquímicos** y de productos derivados de plantas.

### 1.1. USO DE SEMIOQUÍMICOS

Los semioquímicos son sustancias que interfieren en la comunicación entre organismos, y pueden clasificarse en **feromonas** y **alelomonas**. Los alelomonas son señales químicas de comunicación interespecíficas que son emitidas por organismos de una especie y captadas por individuos de otra distinta. A su vez, los alelomonas pueden diferenciarse en **alomonas**, **cairomonas** y **sinomonas**, en función de si estas sustancias químicas benefician al emisor, al receptor, o a ambos organismos, respectivamente. Por otro lado, las feromonas son sustancias emitidas por animales de una especie que provocan una reacción determinada en individuos conespecíficos. Éstas pueden ser de diversos tipos (sexuales, de agregación, de alarma, etc.) en función del cambio comportamental que desencadene en el receptor (Gordh & Headrick, 2001).

La primera feromona sexual identificada por Butenandt y colaboradores en 1959 fue el bombicol, producido por la especie *Bombyx mori*, (Butenandt et al., 1959). Desde entonces, debido al interés generalizado por encontrar alternativas más respetuosas con el medio ambiente y métodos más selectivos que los insecticidas convencionales, se han llevado a cabo un gran número de estudios que han permitido la identificación de numerosas feromonas y otros semioquímicos para monitorear la presencia y abundancia de insectos, así como para proteger a plantas y animales de su ataque (Witzgall et al., 2010). Los órdenes Lepidoptera y Orthoptera incluyen un gran número de especies responsables de grandes pérdidas económicas, de las que se ha determinado su feromona sexual y que ha resultado útil en estrategias de control integrado (Mitchell et al., 1983; Hunter 2004). En la actualidad se utilizan las feromonas sintéticas que presentan distintas aplicaciones en función del grado de infestación a tratar (Witzgall et al., 2010). Una de las aplicaciones más extendidas y exitosas de las feromonas sexuales es la detección y monitoreo de una población en cultivos o invernaderos, que nos permite estimar la abundancia de la especie a combatir para decidir posteriormente qué medidas de control se van a utilizar, incluso cuando la densidad es baja. Otra aplicación de las feromonas es la que se conoce como trampeo masivo, estrategia en la que se colocan numerosas trampas cebadas con atrayente para uno de los dos sexos, en general machos, en combinación con un insecticida, para disminuir la descendencia en la próxima generación. Otra alternativa es la confusión sexual, en la que se satura el ambiente de feromona sintética, de manera que los individuos no puedan localizar la que emite el sexo opuesto.

En ocasiones, la aplicación de feromonas para el control de determinadas plagas presenta limitaciones, como un elevado coste final, mayor que el de los propios pesticidas, o la atracción de nuevos individuos de poblaciones vecinas. Alternativamente, pueden utilizarse compuestos sintéticos con estructura similar a las feromonas naturales pero con modificaciones estructurales que son capaces de interferir en la comunicación química entre sexos (Renou & Guerrero, 2000). Las cetonas fluoradas derivan de la sustitución del grupo acetato presente en muchos compuestos feromonales por un trifluoroacilo, y se sabe que bloquean de forma reversible el centro activo de las esterasas encargadas de la degradación de estos acetatos, lo cual es necesario para un correcto funcionamiento del mecanismo olfativo (Rosell et al., 1996; Renou et al., 1997). El centro activo de estos enzimas se caracteriza por presentar una triada de los aminoácidos serina-aspartato-histidina, siendo la serina la diana de inhibidores feromonales tanto reversibles como irreversibles (Durán et al., 1993; Rosell et al., 1996). Las cetonas fluoradas forman un enlace covalente con un residuo de serina originando un aducto de geometría tetraédrica análogo al que se produce durante el proceso de hidrólisis del acetato (Figura 1.1). La elevada electronegatividad del flúor y su capacidad para formar puentes de hidrógeno confieren a las cetonas fluoradas la posibilidad de formar hidratos estables en solución acuosa, aumentando la afinidad por el residuo de serina del centro catalítico de la esterasa (Figura 1.1) (Gelb et al., 1985; Rosell et al., 1996). Debido a esta unión reversible con el centro activo, a diferencia de pesticidas químicos como los organofosforados cuya unión es irreversible, este tipo de moléculas son una alternativa interesante para el control biorracional de plagas.



**Figura 1.1.** Mecanismo de acción propuesto de las trifluorometilcetonas sobre el centro activo de las esterasas.

## 1.2. PRODUCTOS DERIVADOS DE PLANTAS

Existe una gran cantidad de productos naturales derivados de plantas que forman parte de la defensa química que han adquirido los vegetales a lo largo de millones de años de evolución para defenderse de herbívoros y patógenos. Estos productos son capaces de alterar el comportamiento de los insectos de formas muy diversas al poseer actividad insecticida, repelente, supresora o disuasiva de la alimentación o de la oviposición, etc. (Horowitz et al., 2009).

El empleo de insecticidas botánicos es muy antiguo, remontándose a la antigua China, Egipto, Grecia y la India, siendo su uso también muy frecuente en Europa y Norte América, hasta la aparición de los plaguicidas sintéticos (Isman, 2006). En los últimos años, en búsqueda de alternativas más respetuosas con el medio ambiente se han llevado a cabo un gran número de estudios con cientos de compuestos aislados a partir del metabolismo secundario de las plantas que han mostrado actividad plaguicida. Así, actualmente se utiliza entre otros, 4 tipos de productos derivados del metabolismo secundario de las plantas para el control de plagas: piretro, rotenona, neem y aceites esenciales (Isman, 2006; Pérez, 2012).

- **Piretro:** Es una oleorresina extraída de flores secas de *Tanacetum cinerariaefolium* (Asteraceae) cuyos principios activos son seis esteres producto de la reacción de los ácidos crisantémico y piretroico con los alcoholes piretrolona, cinerolona y jasmololona. Entre ellos los que se forman por la reacción de los ácidos con la piretrolona se conocen como piretrina I y II, respectivamente. Poseen una rápida acción neurotóxica bloqueando los canales de sodio presentes en los axones neuronales, lo que provoca el cese del vuelo en insectos voladores, convulsiones e hiperactividad. El mecanismo de acción de las piretrinas es cualitativamente similar al del DDT y otros insecticidas organoclorados, y son moderadamente tóxicas para mamíferos. Además son lábiles en presencia de la luz UV, por lo que su uso en el campo es limitado (Pérez, 2012).
- **Neem:** De las semillas del árbol *Azadirachtina indica* (Meliaceae) se obtiene un aceite y extracto ricos en el triterpeno azadiractina. Esta sustancia es capaz de inhibir la síntesis y liberación de las hormonas implicadas en la muda, provocando una muda incompleta en insectos inmaduros y esterilidad en individuos maduros, además de ser un potente inhibidor de la alimentación en muchos insectos (Isman, 2006). Esta sustancia no es tóxica para mamíferos, peces y polinizadores; pero se degrada rápidamente también por la acción de la luz solar y su proceso de refinamiento es muy costoso, por lo que no tiene mucho éxito comercial, aunque existen insecticidas basados en este principio activo en Estados Unidos y la Unión Europea.
- **Aceites esenciales:** Son mezclas complejas de monoterpenos, fenoles y sesquiterpenos obtenidos a partir de plantas de distintas familias, y especialmente abundantes en la familia de las labiadas. Actúan rápidamente sobre el sistema octopaminérgico de los insectos, por lo que tienen un efecto neurotóxico (Enan, 2001; Kostyukovsky et al., 2002), o bloqueando los canales GABA (Priestley et al., 2003). Estas sustancias no solo afectan a los insectos, sino que muchas de ellas también tienen propiedades antifúngicas y

antibióticas. Su capacidad para actuar sobre un amplio espectro de especies implica que pueden afectar también a polinizadores y enemigos naturales de las plagas que se quieren combatir. Es de reseñar que aunque en general los aceites esenciales no son tóxicos sobre mamíferos, algunos de sus terpenoides en estado puro sí son moderadamente tóxicos, lo que representa un inconveniente añadido junto con su alta volatilidad.

- **Rotenona:** Es un isoflavonoide producido por las raíces o rizomas de legumbres tropicales del género *Derris*, *Lonchocarpus* y *Tephrosia*. Es un tóxico mitocondrial que bloquea la cadena de transporte electrónico e impide la producción de energía en insectos una vez que ha sido ingerido. En su forma pura posee una toxicidad equiparable al DDT y otros insecticidas sintéticos, aunque es mucho menos tóxico en las formulaciones en las que se usa (Pérez, 2012).

Además de los 4 tipos de productos reseñados, existen otros derivados de plantas con propiedades insecticidas sobre diversas especies plaga, como la nicotina y otros alcaloides relacionados, así como otros muchos obtenidos de plantas pertenecientes a las familias de las anonáceas y meliáceas (Isman, 2006).

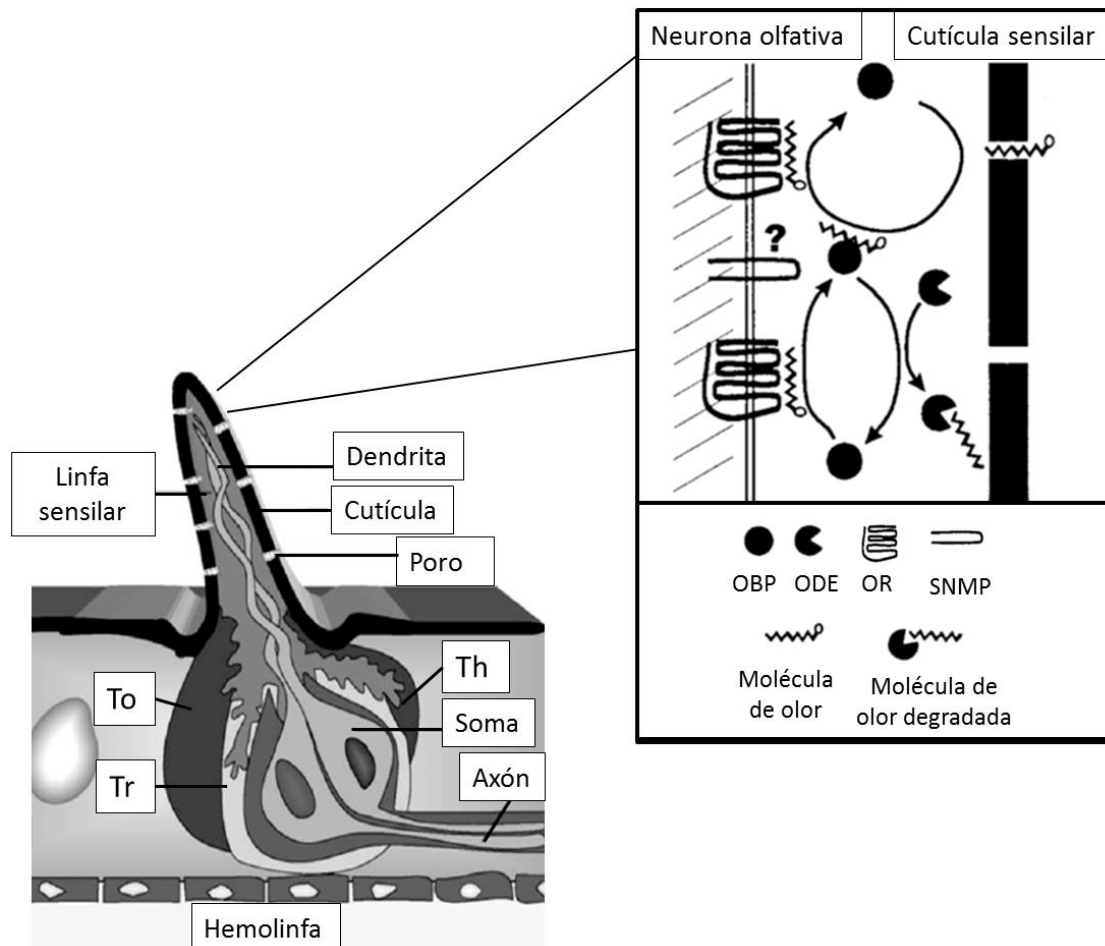
## 2. SISTEMA OLFATIVO EN INSECTOS

El sistema olfativo en insectos juega un papel fundamental para su supervivencia, puesto que está involucrado en aspectos tan importantes como la búsqueda de alimento, de individuos conespecíficos para la reproducción, o de un lugar idóneo donde ovipositar (Visser, 1986; Hansson, 2002).

Los principales órganos de olfacción tanto en lepidópteros como en otros órdenes de insectos son las antenas, donde se encuentran situadas las sensilas olfativas (Hansson, 1995). Según su morfología externa, las sensilas se clasifican en tricoidea, basicónica, coelocónica y aurícula; y están involucradas en funciones de mecano-, quimio-, termo- e hidrorrecepción, entre otras (Wee et al., 2016). Normalmente, la percepción de feromonas y olores de plantas se lleva a cabo por sensilas de tipo tricoideo, basicónico y coelocónico, presentando diferencias en su distribución, número de poros, e incluso dimorfismo sexual (Su et al., 2009). A pesar de esta variedad de formas, todas las sensilas presentan la misma estructura interna. En su interior, se encuentran una o varias células sensoriales, con los somas situados en la base de la sensila, bañadas por la linfa sensilar y rodeadas por tres células auxiliares: tocógena (To), termógena (Th) y tricógena (Tr), que son las encargadas de la regulación de la concentración de iones en la linfa y la formación de la sensila (Figura 1.2). Del soma celular parten dendritas que llegan hasta el lumen del interior de la sensila, y un axón que se une a otros procedentes de nuevas células sensitivas formando el nervio antenal que llega hasta el lóbulo olfativo, situado en el deutocerebro. En el lóbulo antenal podemos distinguir estructuras esféricas llamadas “glomérulos”, que son zonas de intensa actividad sináptica donde se concentran las uniones entre los axones de los receptores y los somas de las interneuronas (Figura 1.3). En aquellas especies que utilizan feromonas sexuales de largo alcance, los machos han desarrollado el complejo macroglomerular (macroglomerular complex, MGC), que es un conjunto de glomérulos característico situado a la entrada del lóbulo antenal. Las hembras no presentan



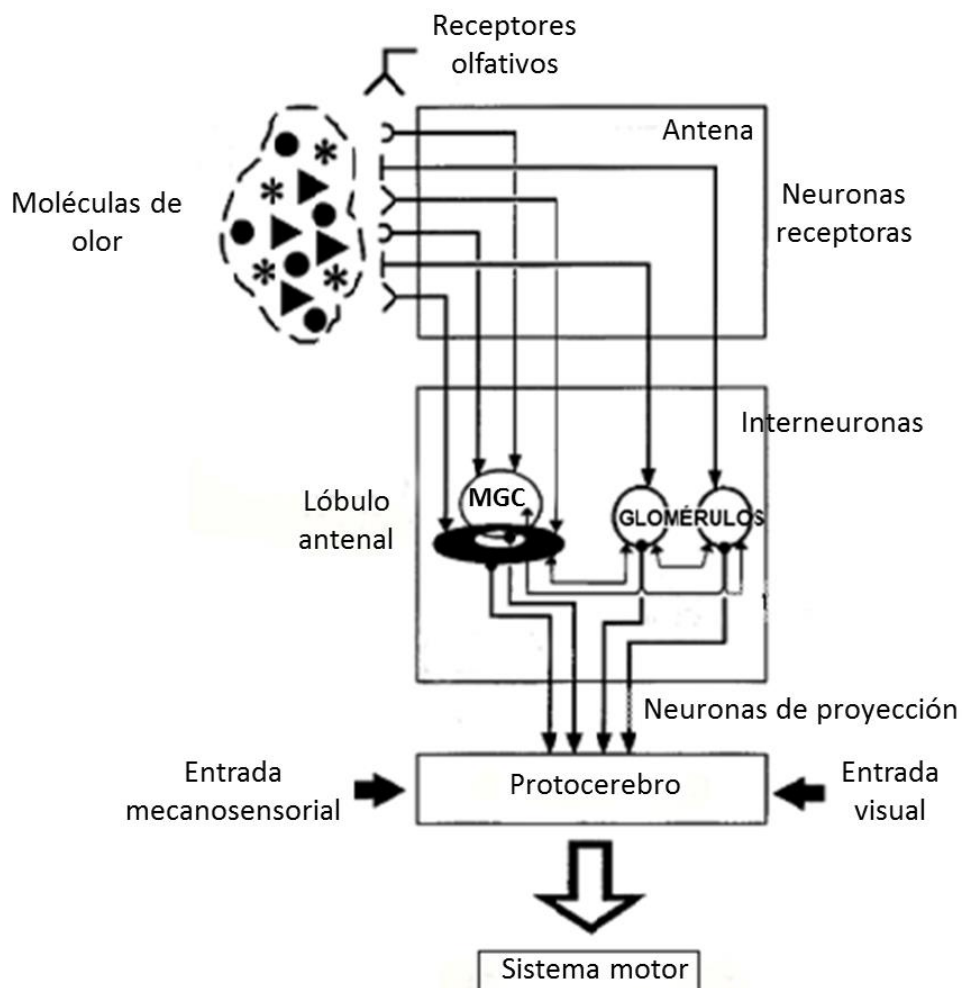
esta estructura, pero en aquellas especies capaces de detectar su propia feromona, se ha observado que los axones de los receptores antenales llegan hasta un glomérulo ordinario también situado en la entrada del lóbulo antenal, como ocurre en los machos (Hansson, 1995; Hansson, 2002).



**Figura 1.2.** Esquema de una sensila tricoidea típica de una antena de polilla y del modelo propuesto para el modo de acción de las OBPs. Las moléculas de feromona y otros semioquímicos penetran en el lumen donde son solubilizadas en la linfa y transportadas gracias a las OBPs hasta el receptor (OR) presente en la membrana de las dendritas de las células sensoriales. Tras la interacción con la neurona, la molécula de olor es degradada por las ODEs.

La cutícula de la sensila está perforada, lo que permite el paso de las moléculas odoríferas presentes en el medio al interior de la misma, que está llena de linfa sensorial (Figura 1.2). Aquí se halla una serie de proteínas que facilitan la detección y transporte de las moléculas odoríferas, siendo las principales proteínas los receptores olfativos (odorant receptors, ORs), las proteínas de unión a las moléculas de olor (odorant binding proteins, OBPs) y los enzimas degradadores de olor (odorant degrading enzymes, ODEs); aunque existen otros tipos, como los receptores ionotrópicos (ionotropic receptor, IRs) y proteínas de membrana de las neuronas sensoriales (sensory neuron membrane proteins, SNMPs) (Hansson, 1995; Leal, 2005; Leal, 2013). Cuando las moléculas de olor penetran en el lumen se unen a las OBPs

presentes en la linfa, que facilitan su transporte hasta los ORs localizados en la membrana de la dendrita. Las OBPs se dividen en dos grupos en función del tipo de molécula que transporte; si esta molécula es una feromona se denominará proteína de unión a feromona (pheromone binding protein, PBP), mientras que si la molécula transportada es un olor más general como los procedentes de las plantas hospedadoras, se denomina proteína de unión a moléculas odoríferas generales (general odorant binding protein, GOBP). Una vez que la OBP se une al receptor, se desencadena una cascada de señales en el interior de la dendrita produciendo cambios transduccionales que provocarán cambios en el potencial de acción a lo largo de la membrana de la neurona, transmitiendo el estímulo hasta el sistema nervioso central (SNC) donde la información será procesada. Una vez desencadenado el estímulo, la molécula es degradada por las ODEs para dejar libre el receptor para futuras moléculas y el insecto pueda así seguir recibiendo señales de manera continua (Figura 1.2). La expresión de OBPs y ODEs se encuentra regulada por esteroides y ecdisteroides durante el desarrollo tardío del adulto (Hansson, 1995; Leal, 2005; Leal, 2013).



**Figura 1.3.** Esquema de la integración olfativa en insectos adultos según De Jong & Visser (1988). Los semioquímicos son detectados por sensilas de la antena, donde la señal química percibida es transformada en una respuesta bioeléctrica en las neuronas receptoras, la cual es transmitida a través del axón hasta el lóbulo antenal, donde en función de la naturaleza de la molécula odorífera la señal es transmitida al MGC o a los glomérulos, donde se produce una sinapsis con interneuronas locales. Una

vez procesada la información olfativa, la señal pasa a través de neuronas de proyección hasta centros superiores del protocerebro, donde se integra con información procedente de otros tipos de estímulos (visual, mecanosensorial,...), generándose una respuesta que será emitida al sistema motor.