

FORESTALES/ORNAMENTALES

# Comunicación química de insectos y su inhibición como herramienta para el control de plagas

**Ángel Guerrero** (Unidad de Ecología Química, Departamento de Química Biológica y Modelización Molecular, IQAC (CSIC), Barcelona. [angel.guerrero@iqac.csic.es](mailto:angel.guerrero@iqac.csic.es)).

Es bien conocido que las feromonas sexuales se han utilizado con éxito en el control integrado de plagas de insectos. Sin embargo, en algunos casos, y por diferentes motivos, se ha hecho necesario disponer de nuevas alternativas biorracionales y respetuosas con el medio ambiente para el control de plagas (Renou y Guerrero, 2000). Una de estas aproximaciones contempla el desarrollo de antagonistas feromonales y, en particular, de inhibidores de los enzimas responsables del catabolismo de la feromona. La inhibición de estos enzimas conlleva la acumulación de moléculas del atrayente sin degradar en las proximidades de los receptores antenales, y por tanto la incapacidad de los machos para detectar nuevas moléculas de feromona. En este contexto se presentan las investigaciones realizadas durante los últimos años en nuestro laboratorio, y que contemplan el diseño y actividad en laboratorio y campo de inhibidores del catabolismo y otros antagonistas de feromonas sexuales de varios insectos plaga.

**PALABRAS CLAVE:** Feromonas sexuales de insectos, antagonistas feromonales, inhibidores del catabolismo de feromonas, comunicación química de insectos, actividad biológica, control de plagas.

Dado el papel fundamental que las feromonas sexuales de insectos juegan en el comportamiento intraespecífico de atracción y cópula entre los sexos, las feromonas se han venido utilizando con éxito en el manejo integrado de plagas, no sólo para detectar la aparición de nuevas plagas sino también para reducir los niveles de infestación mediante trapeo masivo y confusión sexual. Sin embargo, la complejidad estructural de algunas feromonas de lepidópteros para su preparación industrial y, en consecuencia, su elevado coste, y la posibilidad de resistencia ante el uso continuado de la confusión sexual tras años de tratamiento (Mochizuki y col., 2002, Tabata y col., 2007) han hecho necesario el desarrollo de nuevas aproximaciones biorracionales y respetuosas con el medio ambiente para un efectivo control integrado de plagas.

La disrupción de la comunicación química entre sexos es una nueva aproximación en el desarrollo de nuevas estrategias para el control de plagas (Plettner, 2002). En este sentido, y para una disrupción eficiente, se hace necesario estudiar la base de los procesos de producción de feromona, transporte, unión con el receptor y catabolismo de la feromona (Kasang y col., 1989, Prestwich, 1987). El proceso de catabolismo transcurre en lepidópteros por la acción de enzimas presentes en las antenas de los insectos (Vogt y col., 1985). Estos enzimas, que suelen ser de tipo esterasas, aldehído deshidrogenasas, oxidasas y epoxi hidrolasas, degradan los componentes feromonales en metabolitos más polares e inactivos, y su inhibición conduce a una acumulación de moléculas de feromona en las proximidades de los receptores antenales, lo que supone una incapacidad del insecto para detectar nuevas moléculas del

atrayente emitidas por las hembras. La inhibición de estos enzimas podría, en consecuencia, conducir a la disrupción de la comunicación química entre sexos (Guerrero y Rosell, 2005, Plettner, 2002, Prestwich, 1987).

Las trifluorometilcetonas (TFMKs) son potentes inhibidores de esterasas de serina. Algunas de ellas han sido probadas como inhibidores de esterasas antenales de insectos (Prestwich, 1987, Vogt y col., 1985), ya que provienen de la sustitución isostérica del grupo acetato de la feromona sexual por un grupo trifluoroacilo, y su actividad se atribuye a las características especiales inducidas por el átomo de flúor, que mimetiza el volumen estérico del hidrógeno en el centro activo del enzima. La fuerte electronegatividad del halógeno conlleva a que las TFMKs formen hidratos estables en soluciones acuosas, formando un aducto covalente de geometría hemiacetal o tetrahédrica con el centro activo del enzima (Linderman y col., 1988, Rosell y col., 1996). Por otro lado, las metilcetonas (MKs), resultantes de la sustitución del oxígeno alcohólico del grupo acetato feromonal por un grupo metileno, provocan también un potente efecto electrofisiológico y comportamental antagonista sobre los insectos (Dominguez y col., 2016, Liljefors y col., 1984, Solé y col., 2008a). En consecuencia, las MKs y TFMKs son compuestos a tener en cuenta como antagonistas de la feromona sexual y, por tanto, potenciales inhibidores de la comunicación química entre los sexos.

En este capítulo se presentan las recientes investigaciones realizadas en nuestro laboratorio con MKs y TFMKs estructuralmente análogas a las feromonas sexuales de varios insectos-plaga como antagonistas feromonales,

tanto en ensayos electrofisiológicos como en pruebas de comportamiento en laboratorio y campo<sup>1</sup>. Los insectos considerados han sido el gusano del algodón *Spodoptera littoralis*, los barrenadores del maíz *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, la plaga de manzanos *Cydia pomonella*, la polilla leopardo *Zeuzera pyrina*, la plaga del tomate *Tuta absoluta* y la plaga de frutales *Grapholita (Cydia) molesta*.

## Mecanismo de acción de los antagonistas feromonales

A pesar de que no se conoce con exactitud su mecanismo de acción, la actividad de las TFMKs se atribuye a la potente electronegatividad del átomo de flúor, que incrementa la estabilidad del aducto formado con un residuo de serina del centro activo del enzima (Linderman y col., 1988, Rosell y col., 1996). Este mecanismo de acción ha sido confirmado tras la determinación de la estructura cristalina del complejo covalente formado por la esterasa de la hormona juvenil de *Manduca sexta* con la octiltiotrifluoropropanona (OTFP) (Wogulis y col., 2006). En estudios posteriores computacionales y de 'docking' basados en la estructura cristalográfica de rayos X entre la carboxilesterasa humana (hCE1) complejada con el ácido palmítico, nuestro grupo ha demostrado que el residuo de serina Ser221 del centro activo se encuentra activado para reacciones de tipo nucleofílico por formación de un enlace de puente de hidrógeno entre el OH y el anillo de imidazol His468 (Rayó y col., 2010). Ello permite explicar la diferencia de actividad de diferentes TFMKs análogas a la feromona de *Z. pyrina* sobre la carboxilesterasa, indicando que un correcto alineamiento de la cadena alquílica y el grupo funcional en el centro activo tiene una influencia decisiva sobre la actividad inhibitoria de estos compuestos (Rayó y col., 2010).

## Actividad de los antagonistas de feromonas

**Inhibición reversible de las esterases antenales.** La actividad anti-esterásica se ha determinado por homogeneización de decenas de antenas congeladas en solución tampón fosfato (pH 7) e incubación del extracto en presencia o no del antagonista. La inhibición del catabolismo de la feromona se evalúa por la extensión de hidrólisis de la feromona al correspondiente alcohol (inactivo) con respecto al control (Dominguez y col., 2016, Plettner, 2002, Reddy y Guerrero, 2010). Sólo las TFMKs son capaces de inducir actividad antiesterásica sobre antenas de insectos, dado que las cetonas fluoradas son capaces de formar un hemiacetal cíclico con un residuo de serina del centro activo del enzima degradante de la feromona, como se ha dicho anteriormente.

**Disminución reversible de las respuestas antenales y neuronales a la feromona.** El efecto de los disruptores de la comunicación sobre los receptores antenales se ha determinado en electroantenografía (*electroantennography*, EAG) y en registro de sensila única (*single sensillum recording*, SSR). En ambos casos, se hace pasar una corriente de aire sobre un papel de filtro cargado con el antagonista durante un corto periodo de tiempo (2 min.) y se registra la respuesta electrofisiológica de la antena en EAG o de la sensila en SSR a puffs de la feromona antes, durante y después de la llegada del antagonista. Se ha constatado que las respuestas a la feromona en EAG disminuyen significativamente durante la exposición al OTFP, un potente antagonista, despolarizaciones que vuelven a la normalidad veinte minutos después del tratamiento. El efecto, pues, es reversible y ha quedado palpable en *S. littoralis*, *Mamestra brassicae* y *Helicoverpa zea* (Renou y col., 1997)

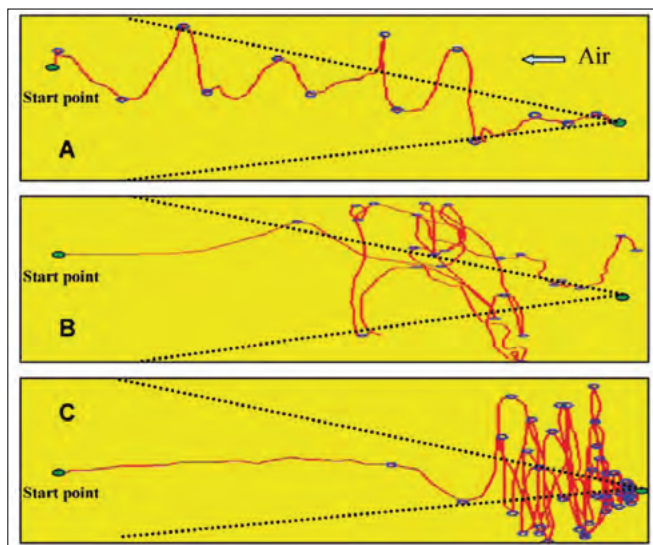


Figura 1. Vuelo de machos de *O. nubilalis* hacia un septum conteniendo feromona (A), feromona:Z11-14:MK 1:10 (B), y feromona:Z11-14:TFMK 1:10 (C).

y *T. absoluta* (Dominguez y col., 2016), entre otras especies. Igualmente, la aplicación tópica de MKs y TFMKs sobre la antena inhibe la respuesta a la feromona de *O. nubilalis* (Solé y col., 2008b), o tras presaturación de los receptores antenales de *C. pomonella* (Sans y col., 2013). En SSR, la OTFP y otras TFMKs análogas a la feromona de *S. nonagrioides* (Quero y col., 2014), *S. littoralis* y *M. brassicae* (Renou y col., 1997), y *Antheraea polyphemus* (Pophof y col., 2000) indujeron igualmente una inhibición reversible de la respuesta de células receptoras de la feromona.

**Efecto disuasorio de la oviposición y esterilidad.** La adición de OTFP a la dieta de larvas de segundo estadio de *S. littoralis* y *S. nonagrioides* reduce el consumo de dieta y por tanto el crecimiento de las larvas y su posterior pupación y emergencia de adultos (Reddy y col., 2002). Más aún, en ensayos comportamentales se ha constatado que los machos adultos que han sido tratados con el inhibidor en estado larvario se sienten menos atraídos hacia la feromona sintética o hacia las hembras que los machos que no habían sido tratados (Reddy y col., 2002).

**Disrupción del vuelo de machos en túnel de viento.** La actividad en túnel de viento de los antagonistas fue puesta de manifiesto, por ejemplo, por exposición de machos de *O. nubilalis* a mezclas feromona:antagonista y registro de su vuelo orientado hacia la fuente de atracción con respecto al vuelo inducido por la feromona sola. Se contabilizó el número de insectos que respondían a cuatro tipos de comportamiento: TO (take off: insectos que despegan el vuelo hacia la fuente), HW (half-way: insectos que llegan en vuelo orientado hasta la mitad del túnel), CF (complete flight: insectos que arriban hasta las proximidades de la fuente), y SC (source contact: insectos que contactan con la fuente). La respuesta de los machos hacia un septum conteniendo feromona: Z11-14:MK 1:10 y feromona:Z11-14:TFMK 1:10 fue inhibida notablemente, en

<sup>1</sup> En el texto, los compuestos se nombran de manera abreviada como sigue: Z11-14:MK corresponde a la (Z)-11-tetradecenilmetilcetona; Z11-16:TFMK a la (Z)-11-hexadeceniltrifluorometilcetona; Z11-16:Ac al acetato de (Z)-11-hexadecenilo; OTFP es la octiltiotrifluoropropanona.

especial cuando el macho había traspasado la mitad del túnel; esto es, en los comportamientos CF y SC (Figura 1) (Muñoz y col., 2011).

El efecto disruptor del antagonista se hace especialmente notorio cuando se registra y analiza el vuelo hacia la fuente. En presencia del antagonista, los machos vuelan mayores distancias e invierten un tiempo 2-3x mayor en alcanzar la fuente que los insectos control (Solé y col., 2008b). Ello conlleva también que otros parámetros de vuelo se vean afectados, como la frecuencia de giro, amplitud de trayectoria, ángulo de deriva, etc. (Solé y col., 2008b). Es de reseñar que las MKs y TFMKs también son capaces de inhibir el enzima degradante de la feromona cuando ésta no contiene un grupo éster en la molécula. Éste es el caso de *C. pomonella*, cuyo componente mayoritario de la feromona es un alcohol diénico (codlemona, (E,E)-9,11-dodecadienol)). En este caso, el efecto registrado, tanto en la trayectoria errática del vuelo como en el número de insectos que lo completan hasta llegar a la fuente, es idéntico al descrito anteriormente sobre *O. nubilalis* (Giner y col., 2009, Sans y col., 2013).

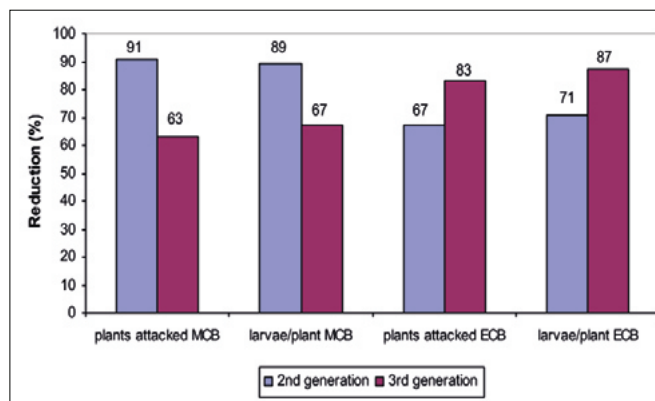
**Disminución de la actividad feromonal en campo.** La actividad inhibidora de los antagonistas en campo se determinó por comparación del número de insectos capturados con mezclas de feromona:antagonista con respecto a los capturados con la feromona sólo. En *C. pomonella*, por ejemplo, ambos tipos de antagonista (MK y TFMK) desplegaron un significativo efecto inhibitor de la atracción feromonal cuando se mezclaron con la feromona en proporción 10:1 (Giner y col., 2009, Sans y col., 2013).

## Ensayo de confusión sexual con antagonista

La disrupción del apareamiento por confusión es una estrategia biorracional importante en el control de plagas. Hasta el presente la gran mayoría de ensayos de confusión sexual se han llevado a cabo utilizando la feromona sexual sintética (Cardé y Minks, 1995, Witzgall y col., 2010), pero pocos esfuerzos se han dirigido hacia la utilización de antagonistas feromonales en el control de plagas (Bengtsson y col., 1994, Stelinski y col., 2008). Con el objeto de determinar el potencial de un antagonista en ensayos de confusión, se aplicó durante tres años la Z11-16:TFMK, compuesto análogo a la feromona sexual de *S. nonagrioides*, a la dosis de 80 g/ha en campos de maíz de 1.8-2.5 ha de la provincia de Lleida (Solé y col., 2008a). En ellos se evaluó el porcentaje de plantas atacadas por *S. nonagrioides* y también por *O. nubilalis*, plaga que cohabita con la especie anterior, así como el porcentaje de larvas o pupas por planta (N=180 plantas por parcela) de ambos insectos en parcelas tratadas y no tratadas. Los resultados indican una reducción importante del porcentaje de plantas atacadas del 63%-91% en *S. nonagrioides* y 67%-83% en *O. nubilalis*, así como del número de larvas y/o pupas por planta en un 67%-89% y 71%-87%, respectivamente (Figura 2) (Solé y col., 2008a).

## Toxicidad

En estudios de toxicidad sobre ratones, las cetonas Z11-16:TFMK y OTFP mostraron una baja toxicidad con una LD<sub>50</sub> de 1 g/kg (50% de mortalidad tras seis días de la ingestión de los compuestos). El componente mayoritario de la feromona Z11-16:Ac presentaba una LD<sub>50</sub> de 5 g/kg tras el mismo tratamiento. Estos datos concuerdan con la baja toxicidad de otras TFMKs (Ashour y Hammock, 1987). Posteriores estudios de ecotoxicidad acuática mostraron que la Z11-16:TFMK presentaba una toxicidad moderada sobre el crecimiento de algas y la supervivencia de *Daphnia* (Rosa y col., 2006).



**Figura 2.** Porcentaje de reducción de plantas dañadas por *S. nonagrioides* (MCB) y *O. nubilalis* (ECB) y de larvas/planta en parcelas tratadas y no tratadas.

## Conclusiones

Las MKs y TFMKs estructuralmente análogas a las feromonas son buenos antagonistas de la acción feromonal en pruebas de laboratorio y campo. Además, presentan una buena estabilidad en campo y se pueden obtener a escala multigramo. Sin embargo, su actividad como disruptores de la comunicación química es menor que la feromona, por lo que se hace necesario seleccionar en cada caso un antagonista estructuralmente más simple y de menor coste que la propia feromona para que pueda ser considerado una alternativa viable para el control de plagas.

**Abstract;** It is well known that sex pheromones have been successfully used in pest control in integrated pest management programs. However, in some cases and by different reasons other biorational, environmentally-friendly, alternatives have also been developed for insect control (Renou y Guerrero, 2000). One of these approaches deals with the development of pheromone antagonists, particularly of inhibitors of the enzymes responsible for pheromone catabolism. Inhibition of these enzymes implies accumulation of non-degraded pheromone molecules in the proximity of the antennal receptors, and, consequently, the incapacity of the males to detect new incoming pheromone molecules. In this context, I present herein the most recent results of our investigations, which include the design and activity in the laboratory and in the field of pheromone catabolism inhibitors and other antagonists of the sex pheromone of a variety of insect pests.