

Título del Trabajo: Uso potencial de aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* y *Laurus nobilis* para el control de *Myzus persicae* en lechuga bajo cubierta.

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE MAGISTER SCIENTIAE EN
PROTECCIÓN VEGETAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y
FORESTALES. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Tesista: Ing. Agr. Ramiro Julián Valdés



Directora: Ing. Agr. María Inés Urrutia

Codirector: Ing. Agr. Jorge Abel Ringuelet

Evaluadores:

Ing. Agr. (MSc) Francisco La Rossa

Ing. Agr. José Imwinkelried

Dr. Sergio Bramardi

A mi padre

Agradecimientos:

- **A las autoridades del SENASA que brindaron el marco para hacer posible la realización del Magíster scientiae en Protección Vegetal.**
- **A la empresa Agrofum por financiar el costo de cursada del Magíster scientiae en Protección Vegetal.**
- **A la empresa Fugran por financiar el costo de cursada del Magíster scientiae en Protección Vegetal.**
- **A la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, por ser sede de este estudio de post-grado.**
- **A la cátedra de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, por su incondicional ayuda en cada paso de esta tesis, especialmente por facilitar el predio para realizar los ensayos de los años 2008/2009.**
- **A la Ing. Agr. Cynthia Henning, por su ayuda incondicional y por facilitarme siempre las formulaciones de aceites esenciales requeridas para los ensayos de esta tesis.**
- **A la Ing. Agr. Eugenia Strassera por sus aportes desde la experiencia como tesista.**
- **A la Dra. Nancy Greco por el apoyo brindado en los primeros años de esta tesis y la ayuda en la confección del proyecto de la misma.**
- **Al Ing. Agr. German Fiorentino por su predisposición para atender a mis consultas sobre el cultivo de lechuga.**
- **A Sebastián Alfieri por facilitar el cultivo de lechuga implantada para el ensayo comparativo en el año 2015.**
- **Al Ing. Agr. Jorge Abel Ringuelet por su constante dedicación, paciencia y ayuda en cada paso de esta tesis, sumado a sus aportes desde el conocimiento y la experiencia en aceites esenciales.**
- **A la Ing. Agr. Maria Inés Urrutia, por su dedicación constante y por contribuir a la realización de los análisis estadísticos de este estudio.**

- **Al Ing. Agr. Guillermo González Lima por su ayuda incondicional y aportes en el área de terapéutica vegetal.**
- **A la diseñadora gráfica Alejandra Patricelli por su ayuda en la confección de los planos pertinentes a cada ensayo.**
- **A mi familia, por su constante apoyo para la realización de esta tesis, y el tiempo para poder finalizarla.**

INDICE GENERAL

CAPITULO 1. INTRODUCCION	1
1. Importancia y prácticas agrícolas del cultivo lechuga	1
2. Manejo fitosanitario convencional	3
2.1. Toxicidad de los plaguicidas	4
2.2 Contaminación de acuíferos	4
2.3 Dependencia de agroquímicos	4
2.4 Resistencia a los agroquímicos	5
3. Uso de Plaguicidas de síntesis	5
4. El enfoque agroecológico, como alternativa al manejo convencional	8
4.1. El Manejo Integrado de Plagas	8
4.1. a. El control químico	9
4.1. b. El control cultura	9
4.1. c. El control biológico	9
4.1. d. El uso de variedades resistentes	10
4.2. El Manejo Orgánico	11
5. Uso de aceites esenciales	12
5.1 Composición de los aceites esenciales	13
5.2 Distribución en las plantas	13
5.3 Determinación cuantitativa de aceites esenciales	16
5.4 Contenido de aceites esenciales en las plantas	17
5.5 Principales métodos de extracción	18
5.6 Los aceites esenciales como herramienta complementaria en Manejo integrado de plagas y Agricultura orgánica	21
6. Las plagas como limitantes de la producción	24
7. <i>Myzus persicae</i>	26
CAPITULO 2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	28
CAPITULO 3. MATERIALES Y METODOS	29
Ensayo 1: Determinación de los efectos de aceites esenciales de laurel y pasto limón sobre <i>Myzus persicae</i> en plantas de lechuga bajo cubierta	29
Materiales y métodos	29

1. Diseño experimental	29
2. Obtención, formulación y aplicación de los aceites esenciales	33
3. Muestreo de <i>Myzus persicae</i>	35
4. Análisis estadístico.....	36
Ensayo 2: Análisis comparativo de dos alternativas sanitarias en el manejo de lechuga bajo cubierta, (Aplicación de Plaguicidas de síntesis vs. Aceites esenciales)	37
Materiales y métodos.....	37
1. Diseño experimental	37
2. Técnica de aplicación	42
3. Muestreo de <i>Myzus persicae</i>	43
4. Sobre el manejo sanitario del productor	45
5. Análisis estadístico.....	45
Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSION	46
4.1 Ensayo 1: Determinación de los efectos de aceites esenciales de laurel y pasto limón sobre <i>Myzus persicae</i> en plantas de lechuga bajo cubierta	46
DISCUSION	54
4.2. Ensayo 2: Análisis comparativo de dos alternativas sanitarias en el manejo de lechuga bajo cubierta	56
RESULTADOS	57
Costo económico.....	61
DISCUSION	62
CAPITULO 5. CONCLUSIONES	64
Propuestas para posteriores estudios.....	64
Capítulo 6. BIBLIOGRAFIA	66

Resumen:

El pulgón verde del duraznero, *Myzus persicae* (Sulzer), es un áfido polífago considerado una de las plagas de mayor dificultad de manejo en los cultivos hortícolas bajo cubierta. Su control se realiza con plaguicidas sintéticos convencionales. El uso de estos productos genera problemas de residuos tóxicos, inconvenientes en los aplicadores y resistencia de los insectos a los mismos. Los aceites esenciales constituyen productos naturales ensayados para el control de plagas, siendo una estrategia que no contamina el medio ambiente. El objetivo general de la tesis fue comprobar los efectos de los aceites esenciales de laurel (*Laurus nobilis*) y pasto limón (*Cymbopogon citratus*) sobre *Myzus persicae* a través de su variación poblacional luego de repetidas aplicaciones de dichos aceites, sobre cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) bajo cubierta. Como objetivo específico se propuso determinar si el uso de estos aceites esenciales para el control de *Myzus persicae* en *Lactuca sativa* bajo cubierta es económicamente viable comparativamente con los productos de síntesis del mercado.

Para el objetivo general de esta tesis, se llevaron a cabo ensayos en un cultivo experimental de lechuga en invernáculo, realizando tres tratamientos, un testigo y un testigo con emulsionante, en parcelas distribuidas al azar con 5 repeticiones. Las aplicaciones fueron hechas pulverizando soluciones acuosas al 3% de los aceites esenciales utilizando un emulsionante.

Para el objetivo específico de esta tesis, se condujo un ensayo en un cultivo ya implantado de *Lactuca sativa* bajo cubierta, y se realizaron aplicaciones tanto de aceites esenciales como del plaguicida de síntesis utilizado por el productor en el marco del manejo convencional que el mismo realizaba. Se realizaron dos tratamientos y un testigo, en parcelas distribuidas al azar con 5 repeticiones.

Los datos fueron procesados con el análisis de la varianza y el test de Tukey post hoc. Para el caso del primer ensayo, se obtuvieron niveles de control estadísticamente significativos con respecto al control, pero no así entre la aplicación de diferentes aceites. Con respecto al segundo ensayo propuesto, se hallaron niveles de control

similares a lo largo del ciclo del cultivo con los dos productos ensayados, pero debiendo realizar el doble de aplicaciones de aceites esenciales que del plaguicida de síntesis utilizado por el productor.

Los resultados permiten afirmar que los aceites esenciales utilizados, pueden representar una herramienta útil en el manejo integrado de esta plaga y desde el punto de vista económico, el uso de aceites esenciales, incrementa en casi un 50% los costos de aplicación con respecto al uso de plaguicidas de síntesis.

Palabras clave: Aceites esenciales, plaguicidas sintéticos, *Myzus persicae*, *Laurus nobilis*, *Cymbopogon citratus*, *Lactuca sativa* bajo cubierta.

Abstract:

The Green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), a polyphagous aphid, is considered one of the most difficult pests to manage in horticultural crops in greenhouses. Its control is typically done with conventional synthetic pesticides. The use of these pesticides causes toxic waste problems, inconveniences among people who handle them and generates insect resistance to the pesticides themselves. Essential oils are natural products that have applications as pest control strategies without causing adverse consequences to the environment. The overall aim of this thesis is to test the effects of essential oils of laurel (*Laurus nobilis*) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) on *Myzus persicae* through its population variation through repeated applications of such oils on growing lettuce (*Lactuca sativa*) under cover. The specific aim is to determine whether the use of these essential oils for the control of *Myzus persicae* in *Lactuca sativa* under cover is economically viable versus the use of synthetic products in the market.

For the general aim of this thesis, tests were carried out on an experimental crop of lettuce in a greenhouse, with three treatments, plus a control group and an additional control group with emulsifier, these were randomly distributed across 5 repetition plots. The applications were made by spraying 3% aqueous solutions of essential oils using an emulsifier.

For the specific aim of this thesis, a trial was conducted in an implanted *Lactuca sativa*

crop under cover, where both essential oils such and synthetic pesticide used by the producer under conventional management were applied. Two treatments and a control group in randomly distributed plots were performed across 5 repetitions.

The data was processed using analysis of variance and Tukey's test. In the case of the first test, highly significant levels of pest control over the control group was obtained, but not between the application of different oils. With regard to the second proposed trial, the use of synthetic pesticide and essential oils produced similar levels of effectiveness in pest control management, but two times the number of applications of essential oils were required to achieve a similar result than that achieved by using synthetic pesticide.

The results confirm that essential oils are effective and can be a useful tool in the integrated management of this pest. However, from an economic point of view, the use of essential oils, increases implementation costs by almost 50% relative to the use of synthetic pesticides.

Keywords: Essential oils, synthetic pesticides, *Myzus persicae*, *Laurus nobilis*, *Cymbopogon citratus*, *Lactuca sativa* in greenhouses.

CAPITULO 1

INTRODUCCION

1. Importancia y prácticas agrícolas del cultivo lechuga

Dentro del contexto internacional, la producción de lechuga (*Lactuca sativa*, familia Compuestas) está liderada por China, con 11 millones de Tn, seguida por Estados Unidos con 4 millones de Tn y España con 1 millón de Tn. Para el caso de la Argentina, la lechuga, junto con el tomate y la papa, se encuentra entre las hortalizas más cultivadas del país, y dentro del grupo de hortalizas de hojas verdes, la lechuga representa el 49% del volumen total producido en el país con 33.100 Tn (González, 2010).

Dentro de la Región de Buenos Aires, se localiza el Cinturón Hortícola Platense (CHP), comprendiendo el área de mayor envergadura del Cinturón Hortícola Bonaerense. Este último abastece de verduras frescas a uno de los núcleos poblacionales más densos de la Argentina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires y el Conurbano Bonaerense, la cual fue estimada en 11 millones de personas (Cieza, 2004). El Cinturón Hortícola Platense (CHP) cuenta con un área de 7538 ha cultivadas, de las cuales 4677 ha corresponden a invernáculos y 2861 ha a campo (CFHB, 2005). Entre sus principales cultivos se destacan lechuga, tomate y pimiento (Tabla 1).

Tabla 1. Cultivos hortícolas del Cinturón Hortícola Platense
Superficie Especie cultivada (has)

Especie	superficie cultivada (has)		
	Invernáculo	Campo	Total
Acelga	45	356	401
Alcaucil		306	306
Apio	1175	70	1245
Berenjena	265	25	290
Brócoli		106	106
Calabaza		91	91
Cebolla de verdeo		65	65
Chaucha		40	40
Choclo		165	165
Coliflor		58	58
Escarola		21	21
Espinaca	318	130	448
Haba		12	12
Hinojo		32	32
Lechuga	1466	900	2366
Pepino	86	10	96
Perejil	13	50	63
Pimiento	303	25	328
Puerro		37	37
Rabanito	5	45	50
Remolacha	5	45	50
Repollo de Bruselas		13	13
Repollo blanco		102	102
Tomate cherry	32		32
Tomate perita	130	40	170
Tomate redondo	840	150	990
Total	4677	2861	7538

*Fuente: CFHB, 2005; AER INTA Gran Buenos Aires

El manejo sanitario de este cultivo en invernáculos de la región no escapa al contexto de la agricultura moderna, y quizás se profundiza aún más, debido a las particularidades de esta modalidad de producción. Entre las más importantes se pueden

destacar: a) el uso intensivo del suelo (los cultivos más rentables, prácticamente sin descanso) para amortizar el alto costo de las estructuras, y b) el uso intensivo de insumos por la extrema simplificación del sistema, dado que los procesos naturales de autorregulación del mismo son pobres (van Lenteren 2000b; Polack, 2006; Martínez Quintana & Balcaza, 2008).

El manejo predominante de plagas en dicha región está basado en el control químico con aplicaciones por calendario, con escaso o nulo nivel de diagnóstico (de aquí en adelante denominado Manejo Convencional).

2. Manejo fitosanitario convencional

El manejo fitosanitario convencional tiene como principal objetivo incrementar la productividad de los agro-ecosistemas, el cual fue ampliamente alcanzado, pero a expensas de la tecnificación de las prácticas agrícolas, basada en el uso masivo de insumos costosos (combustibles fósiles y pesticidas, derivados del petróleo), fertilizantes y semillas de alto potencial genético (van den Bosch, 1978; Sarandón, 2002).

En lo referente al aspecto sanitario, parte del aumento en la utilización de plaguicidas puede deberse al incremento en la demanda de productos de calidad en mercados internos y externos. Esta situación fomentó la adopción de métodos sanitarios efectivos y rápidos, por un lado, para el control de las adversidades bióticas y, por el otro, para mantener los parámetros de calidad exigidos por el consumidor. Si bien desde el siglo XIX ya se conocían insecticidas químicos para el control de plagas agrícolas, fue a partir de 1940 que se multiplicó su uso, con el advenimiento de los pesticidas sintéticos (van den Bosch, 1978; INTA, 1991). A partir del uso indiscriminado de los plaguicidas durante las décadas posteriores, surgieron problemas de deterioro de los recursos naturales, provocando impactos económicos, sociales y ambientales en muchas regiones del mundo.

Los impactos pueden ser percibidos de dos formas: a) directa (reconocidos por la sociedad) por las consecuencias que traen aparejados los problemas que originan las prácticas agrícolas, afectando a otros sistemas (ciudades, ríos, lagos) y a las personas que viven dentro y fuera de él; y b) indirecta: a veces más desapercibidos (costos ocultos), degradan, deterioran o afectan el propio agro-ecosistema disminuyendo su

capacidad productiva y que por su magnitud, pone en duda su sustentabilidad en el tiempo, y con ello, la posibilidad de alimentar a futuras generaciones (Sarandón, 2002). A continuación, se detallan los principales impactos del manejo de plagas dentro de este modelo.

2.1. Toxicidad de los plaguicidas.

En la actualidad casi no se concibe la posibilidad de hacer agricultura sin el aporte de agroquímicos. La aparición de los plaguicidas de síntesis abrió una nueva era en el control de las principales adversidades bióticas que limitaban la producción de los cultivos (van den Bosch, 1978; Sarandón, 2002). El bajo costo de estos productos, su fácil aplicación, y la falta de conocimiento acerca de sus impactos hicieron que se difundieran globalmente. Entre los efectos negativos del uso indiscriminado de plaguicidas, se puede mencionar la intoxicación de trabajadores rurales por contacto directo con los pesticidas al prepararlos y al aplicarlos, dado que no se toman las medidas de prevención pertinentes en la mayoría de los casos. Otro punto importante a destacar es que en general no se respetan las dosis y los tiempos de carencia recomendados en el marbete, lo cual, pone en peligro la salud de los consumidores (sobre todo por ser alimentos de consumo diario); lo que está siendo percibido cada vez con más claridad por la opinión pública.

2.2 Contaminación de acuíferos.

La contaminación de las aguas es el mayor efecto ambiental de la agricultura. En los Estados Unidos, se considera a la agricultura como la mayor fuente de polución de los cursos de agua superficiales (NRC, 1989). Existen cada vez más evidencias de contaminación de las aguas destinadas al consumo con plaguicidas (Newbould, 1989).

2.3 Dependencia de agroquímicos.

La Agricultura Moderna depende cada vez más del uso de agroquímicos. A pesar de las promesas del control total de plagas que surgieron cuando aparecieron los primeros plaguicidas, éstos no sólo no las han erradicado, sino que cada vez se requiere un mayor número de aplicaciones para obtener resultados aceptables de control. En los

últimos 50 años, el uso de plaguicidas se ha incrementado 26 veces (Sarandón, 2002). La Argentina no es la excepción dado que la utilización de insecticidas ha aumentado sustancialmente en los últimos años mostrando una tendencia creciente (Bulacio et al., 2007).

2.4 Resistencia a los agroquímicos.

Otro problema es la pérdida de eficacia de los plaguicidas debido al desarrollo de resistencia por parte de poblaciones de las especies plaga. En California, de las 25 plagas más serias listadas por el Departamento de Agricultura de dicho estado en 1970, 18 ya eran resistentes a uno o más insecticidas y 24 habían sido originadas por el uso de pesticidas o agravadas por ellos (Luck et al., 1977). En este sentido, ante la ineficiencia del insecticida, el productor aplica mayores dosis con mayor frecuencia para obtener el mismo resultado. Sumado a ello, el uso indiscriminado de plaguicidas de amplio espectro repercute en la disminución de enemigos naturales aumentando la resurgencia de las plagas primarias (blanco a ser controlado), y se incrementa la posibilidad de aparición de las plagas secundarias (van den Bosch, 1978; Vigiani, 1990; Sarandón, 2002). Además, se debe agregar el potencial efecto destructivo de estos productos sobre la microflora y microfauna edáfica (aún no suficientemente estudiado), esenciales en los procesos de descomposición de residuos vegetales y en el reciclaje de nutrientes.

3. Uso de Plaguicidas de síntesis

Debido a la alta demanda de insumos y el uso intensivo e indiscriminado de insecticidas altamente tóxicos y persistentes, han quedado al descubierto consecuencias negativas que impactan en el agro ecosistema (Ferro, 1987; De Bach & Rosen, 1991; Price, 1997; Begon et al., 2006). Entre los efectos negativos se pueden mencionar:

1. *Resurgencia y surgimiento de plagas secundarias:* los pesticidas eliminan o reducen el control natural por disrupción de las tramas tróficas conformadas por plagas, parásitos y depredadores que efectivamente mantienen la mayoría de las plagas por debajo de niveles de daño. También, ocasionan que otras especies de herbívoros, cuya presencia pasaba inadvertida, se conviertan en nuevas plagas (van den Bosch, 1978; Altieri, 1992; Sarandón, 2002).

2. *Resistencia*: existen numerosos casos bien documentados sobre el desarrollo de resistencia en poblaciones de una especie plaga a un insecticida o grupo de ellos en cultivos hortícolas bajo cubierta, debido a aplicaciones repetidas de insecticidas con el mismo modo de acción. Entre los cultivos afectados se puede mencionar al tomate, lechuga, pimiento, melón, sandía, papa, y con respecto a las plagas implicadas se puede señalar a la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*), mosca blanca (*Bemisia tabaci*), Trips de las flores (*Frankliniella occidentalis*), pulgón del algodónero (*Aphis gossypii*) y pulgón verde del duraznero (*Myzus persicae*) entre las más importantes (Viñuela Sandoval, 1998). Estas especies desarrollaron resistencia cruzada y múltiple a varios insecticidas registrados e incluso a algunos recientemente ingresados al mercado. Es así que muchos productores al realizar numerosos tratamientos empeoran aún más la situación, sin lograr atenuar los ataques de estas plagas (van den Bosch, 1978; Bigler et al., 1985; Altieri, 1992; Pechen de D' Angelo, 1992; Pícollo, 1992; Stadler, 1992; Wood, 1992; 1998; Zerba, 1992; Viñuela Sandoval, 1998; Sarandón, 2002).
3. *Hormologosis*: es la estimulación de la fisiología reproductiva de algunos artrópodos, causando aumento de los niveles poblacionales. Por ejemplo, el carbaryl induce picos poblacionales en la arañuela roja, *Tetranychus telarius* (Acari: Tetranychidae) (Stenersen, 2004).
4. *Disminución de enemigos naturales*: se entiende por enemigos naturales a aquellos organismos que brindan una acción reguladora dentro del agroecosistema (depredadores, parasitoides y entomopatógenos) evitando en algunas ocasiones picos poblacionales (también denominados entomofauna benéfica). Algunos ejemplos en cultivos hortícolas bajo cubierta en el Cinturón Hortícola Platense (CHP) son: en tomate, estudios realizados a mediados de la década del '90 mostraron que *Tuta absoluta* era la plaga más importante y el ectoparasitoide *Dineulophus phthorimaeae*, uno de sus enemigos naturales predominantes. Sin embargo, en años posteriores el ectoparasitoide se registra sólo en densidades bajas (Luna & Wada, 2005). Esto puede haberse debido a que esta especie es mencionada como susceptible a condiciones de cultivos protegidos con alto uso de insecticidas (Larraín, 1986).

Además de convertir a las plagas en un problema en muchas ocasiones incontrolable, los pesticidas son nocivos para el hombre, plantas, animales y microorganismos (Astolfi & Landoni, 1977; van den Bosch, 1978; Pimentel, et al., 1986; Lenardon et al., 1987; Stenersen, 2004). Estos productos presentan distintas categorías de toxicidad (I a, I b, II, III y IV), vías de penetración (dérmica, mucosas, inhalatoria, oral y parenteral) y actúan sobre diferentes puntos de acción (por ejemplo, inhibidores enzimáticos, interfieren en el flujo de cationes Na^+ y K^+ a través de las membranas de las células nerviosas, etc.) (Cremllyn, 1982; Stadler, 2006).

Como se expuso anteriormente el control de plagas en estos cultivos se realiza casi exclusivamente a través del Control Químico, mediante el empleo de plaguicidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas), prevaleciendo el uso de los convencionales de amplio espectro (organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides) (CASAFE, 2009), con alrededor de 30 aplicaciones durante el ciclo del cultivo en tomate (*Lycopersicon sculentum*) y en forma semanal en pimiento (*Capsicum annun*) (Strassera, com. pers). La frecuencia de tratamiento depende del tipo de cultivo y sistema de cultivo (bajo cubierta o a campo) pero en general no se realizan rotaciones entre grupos de plaguicidas (**Tabla 2**). Debido a esto, dentro de los ambientes agrícolas, los sistemas hortícolas, principalmente los “bajo cubierta” o “protegidos” son sin dudas los que muestran un alto disturbio ecológico (Botto et al., 1999).

Tabla 2. Plaguicidas asociados a la producción hortícola en el CHP

Nivel de uso de plaguicidas	Insecticidas	Fungicidas	Herbicidas
Sistémico (uso generalizado más de una vez por ciclo de siembra en presencia o no de adversidad)	Deltametrina Endosulfan	Macozeb Productos cúpricos Zineb	
Muy frecuente (en presencia de adversidad, más de 1 vez por ciclo)	Clorfenapir Imidacloprid Metamidofós	Azoxistrobina Captan Carbendazim	Trifluralina
Frecuente (se aplican al menos 1 vez por ciclo de siembra si es que aparece la adversidad)	Abemectina Aldicarb Carbofuran Cipermetrina Clorpirifós Dimetoato Lambdacialotrina Metribuzin Spinosad	Primicimidone Propamocarb Tebuconazole Triadimefon	Glifosato Metolacoloro Paraquat
Eventual (de acuerdo a preferencias del productor)	Acetamiprid Buprofesim Cartap	Azufre Clorotalonil Folpet Fosetil aluminio Kasugagamicina	Metomil
Puntual (esporádicamente)	Bifentrin Flutriafol Carbaril		Epoxiconazole Hexaconazole Pcbn

Fuente: Cappello y Fortunato, 2008

4. El enfoque agroecológico, como alternativa al manejo convencional.

En lo que respecta al aspecto sanitario, la Agricultura Sustentable utiliza otro enfoque al convencional (Sarandón, 2002). En este sentido, el Manejo Integrado de Plagas y el Manejo Orgánico, son alternativas válidas y compatibles con esta filosofía.

4.1. El Manejo Integrado de Plagas: es una estrategia de manejo con bases ecológicas que aprovecha diversos factores de mortalidad de la plaga (enemigos naturales, clima, labores culturales y la selección de variedades resistentes).

A continuación, se describen las distintas técnicas de uso simultáneo en dicho manejo:

4.1. a. El *control químico* (CQ): La calidad de aplicación es de suma importancia para obtener buenos resultados en los tratamientos, y depende de: a) conocer la localización de los organismos plaga en el canopeo del cultivo, b) considerar los principales parámetros de pulverización (presión, volumen, pastillas, calibración del equipo, etc.) y c) determinar el momento oportuno de aplicación. En este sentido, la pulverización debe realizarse el mismo día o al día siguiente del monitoreo y solo si se supera el umbral de daño económico previamente establecido. Además, se deben utilizar productos selectivos para las plagas en las dosis recomendadas por el marbete y rotar los principios activos entre distintas familias de productos con distintos modos y sitios de acción.

4.1. b. *El control cultural* (CC): busca favorecer el crecimiento y desarrollo del cultivo en detrimento del de las plagas, dado que se crean las condiciones propicias para fomentar los factores limitantes de éstas (enemigos naturales espontáneos, disminución de la fuente de inóculo de plagas y favorecer a las condiciones óptimas para el cultivo), entre otras. Entre ellas pueden mencionarse los cultivos trampa, los cambios en la fecha de trasplante, las trampas para control, la densidad de siembra, la rotación y secuencia de cultivos, el aumento de la diversidad vegetal, etc. En este sentido, el CC funciona en forma preventiva.

4.1. c. *El control biológico* (CB): según van Lenteren & Woets (1988), De Bach & Rosen (1991) y Berryman (1999) consiste en el uso de enemigos naturales para regular la densidad poblacional de otro organismo que es considerado plaga. Esta forma de control está basada en el conocimiento de las interacciones ecológicas a nivel del agroecosistema (De Bach & Rosen, 1991). Como enemigos naturales se destacan los depredadores, parásitos, parasitoides y los entomopatógenos (De Bach & Rosen, 1991; van Lenteren, 2000a; Koul & Dhaliwal, 2003; van Lenteren & Bueno, 2003; Lecuona, 2004). En el caso de los depredadores, tanto los estadios juveniles como los adultos depredan a sus presas (plagas). En el segundo caso, el estado larval es parásito, siendo los adultos de vida libre. Y finalmente los entomopatógenos son microorganismos (hongos, bacterias) y/o agentes (virus) que provocan patologías y la posterior muerte de las plagas. Por la capacidad de regulación que presentan sobre las poblaciones de las presas, los enemigos naturales son utilizados comercialmente en estrategias de control de artrópodos-plaga. Así, en el mundo, más de 2000 especies de insectos benéficos han

sido introducidas, liberadas y/o conservadas, para controlar cerca de 165 plagas de la agricultura desde hace 120 años. El control biológico es ampliamente aplicado en varios países, como por ejemplo Estados Unidos, México, Brasil; en Europa es utilizado en España, Holanda, Italia, Francia, entre otros, y en China (Greathead, 1995; Bellows & Fisher, 1999; Gurr & Wratten 2000; van Lenteren, 2000a; van Lenteren, 2003; van Lenteren & Bueno, 2003; van Lenteren et al., 2006; van Driesche et al., 2007). Con respecto al costo de su implementación cuando se lo compara con el uso de insecticidas, estimaciones dan cuenta de una relación de 20-500:1 para el control biológico clásico (introducciones de especies exóticas) y de 2-5: 1 para la estrategia de liberaciones aumentativas (van Lenteren, 2006).

4.1. d. *El uso de variedades resistentes (VR)*: las plantas presentan mecanismos de autodefensa que pueden ser constitutivos, pueden surgir como respuesta al intento de herbivoría o pueden depender del vigor de la planta. A través de estos sistemas la planta limita la severidad de incidencia del ataque de plagas. En este sentido, todas las plantas disponen de algún grado de resistencia a los herbívoros. La resistencia en su sentido más amplio va desde los mecanismos de escape temporal que resultan en asincronías fenológicas, a la biosíntesis de complejos de moléculas orgánicas letales. Entre ambos extremos existe un amplio rango de características morfológicas (caracteres de la epidermis, adaptaciones anatómicas, etc.) y bioquímicas (aleloquímicos), que en mayor o menor grado perturban el comportamiento o los procesos metabólicos relacionados con la utilización de la planta que hace el herbívoro (Kogan, 1986).

Desde el punto de vista práctico interesan las características que las hacen indeseables o poco apetecibles para el insecto bien adaptado a comer u ovipositar sobre cultivares no resistentes de la misma especie. Las variedades resistentes son obtenidas por métodos clásicos de mejoramiento, utilizando líneas con características agronómicas de interés para ser incorporadas a la nueva variedad. En este sentido, se buscan características que las hacen menos apetecibles (no preferencia), menos atractivas a ser atacadas o a oviponer por las plagas (antibiosis), o que, en caso de producirse el ataque, el rendimiento final no se ve afectado significativamente, siendo aceptable a pesar de haber sido dañada (tolerancia) (Sarandón, 2002).

Actualmente, por técnicas de ingeniería genética se puede obtener resistencia a insectos mediante la incorporación de genes de otros organismos. Consiste en

identificar y aislar el gen que codifica la síntesis de una proteína tóxica para los insectos y posteriormente incorporarlo a la planta, cuyo efecto es sistémico. Un ejemplo de ello es el Maíz Bt (Sarandón, 2002).

Una herramienta indispensable para el Manejo Integrado de Plagas es el *monitoreo sistemático* de las mismas. El monitoreo permite cuantificar los valores promedio de las densidades poblacionales de las principales plagas, los que son cotejados con los niveles máximos de tolerancia de las mismas para tomar la decisión del manejo sanitario.

Asimismo, las técnicas a aplicar para el Manejo Integrado de Plagas deben ser evaluadas antes de su implementación, considerando sus aspectos positivos y negativos, para anticiparse a posibles efectos dañinos sobre el sistema (Jones et al., 1986). Por ello, para dimensionar la repercusión de una estrategia sanitaria (conjunto de medidas) sobre el agro-ecosistema, es fundamental conocer sus componentes estructurales como también sus funciones e interacciones (Altieri, 1992; Gliessman; 2002; Sarandón, 2002).

4.2. El Manejo Orgánico: se enmarca dentro de la Agricultura Orgánica, surgida en la en la década de los '80 por la disconformidad con la filosofía de la Agricultura Moderna (Restrepo-Rivera, 2007; Sarandón, 2002). La Agricultura Orgánica se define como “todo sistema de producción sustentable en el tiempo, que mediante el manejo racional de los recursos naturales, sin la utilización de productos de síntesis química, brinde alimentos sanos y abundantes, mantenga o incremente la fertilidad del suelo, la diversidad biológica y que asimismo, permita la identificación clara por parte de los consumidores, de las características señaladas a través de un sistema de certificación que las garantice” (<http://www.mapo.org.ar/leyes/vegetal.htm>). Este movimiento trajo aparejado grandes cambios a nivel cultural, social, ambiental y económico, al despertar la conciencia ecológica que reacciona al contraponerse al paradigma de la Revolución Verde, dado que modifica los cánones tradicionales de producción y del sistema alimentario. La Agricultura Orgánica pone énfasis en resguardar el bienestar de las generaciones presentes y futuras, ya que uno de sus objetivos primordiales es que sus prácticas sean sustentables en el tiempo (del Pino, 2001; Sarandón, 2002).

5. Uso de aceites esenciales

El término aceite esencial o esencia presenta muchas dificultades cuando se busca una definición que generalice este concepto. Existen definiciones desde el punto de vista químico, botánico y desde una perspectiva industrial. Todas coinciden en aspectos tales como que son insolubles en agua, que pertenecen al metabolismo secundario de las plantas, que están formadas por varios compuestos químicos de estructura diferente y que todas poseen en su composición algún terpenoide. Podríamos definir un aceite esencial como la fracción química de un vegetal que es arrastrada por vapor de agua, volátil, formada mayoritariamente por compuestos de naturaleza terpenoide y que generan el olor característico de ese vegetal. En su composición también se encuentran compuestos aromáticos derivados de fenoles, alcoholes simples, cetonas y otras moléculas alifáticas (Ringuelet-Viña. 2013).

Debemos señalar que forman parte del llamado metabolismo secundario, o sea se sintetizan a partir de metabolitos primarios como son los glúcidos, proteínas y lípidos, además de no ser esenciales para la vida de las células y no encontrarse en todas ellas. Recordemos que un concepto bioquímico indiscutible es aquél que señala que en toda célula para que tenga vida debe haber glúcidos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. En cambio, no es necesaria para la célula la existencia de metabolitos secundarios (Ringuelet-Viña, 2013).

Los mismos pueden ser tóxicos para insectos, inhibir el crecimiento, la reproducción y la oviposición, actuar como alimentarios y/o repelentes (Akhtar & Isman, 2008). Según revisiones, se han encontrado cerca de 900 especies vegetales con alrededor de 250 compuestos que poseen actividad biológica (Rozman et al, 2007). Entre las ventajas que brinda el uso de estos compuestos naturales, se puede destacar: la especificidad de su acción, su fácil procesamiento y uso, la seguridad para el ambiente y otros organismos, su rápida degradación, que no generan resistencias en plagas, no afectan el crecimiento de las plantas ni alteran la calidad de los productos finales (Novo et al, 1997; Vasquez-Luna et al 2007).

5.1 Composición de los aceites esenciales:

Con las tecnologías analíticas de las últimas décadas, se han podido identificar gran cantidad de compuestos en las esencias analizadas. En algunas se han identificado más de 100 compuestos, la mayoría terpenoides, aunque algunos son alcoholes simples, ácidos, ésteres, aldehídos o compuestos nitrogenados de sencilla estructura.

Cada componente le confiere una característica odorífera a la esencia, es responsable de una “nota” o “sensación al olfato”. Al estar combinadas las distintas sustancias cambian la nota u olor, lo que caracteriza al aroma de la planta de la cual proviene.

Tabla 3. Características odoríferas de algunos componentes de esencias

Compuesto	Nota
Acetato de 3-hexinilo	Herbácea
Acetato de bencilo	Floral
Geraniol	Floral, Rosa, Geranio
Linalool	Herbácea
Cariofileno	Madera
Benzoato de Metilo	Frutal
Pineno	Madera
Farnesol	Frutal

Fuente: Ringuelet-Viña 2013

5.2 Distribución en las plantas

Hay muchas familias botánicas en las que encontramos especies con aceites esenciales. Aunque se han señalado más de 60 familias, las más características son las *Asteraceae* (o *Compositae*), *Labiatae*, *Umbeliferae*, *Mirtaceae*, *Rutaceae* y *Lauraceae*.

Se pueden encontrar localizados en distintos órganos de la planta. Algunos solamente en hojas y flores, otros sólo en la raíz, en la corteza, en los frutos, etc.

Algunos ejemplos:

En las raíces:

- Sándalo (*Santalum album*)
- Valeriana (*Valeriana officinalis* L)
- Aceite de vetiver (*Vetiveria zizanioides*)
- Aceite de jengibre (*Zingiber officinale*)

En las semillas y frutos:

- Aceite de anís (*Pimpinella anisum*)
- Hinojo (*Foeniculum vulgare*)
- Coriandro (*Coriandrum sativum*)
- Eneldo (*Anethum graveolens*)

En las hojas:

- Menta (*Mentha spp.*)
- Orégano (*Origanum spp.*)
- Romero (*Rosmarinus officinalis*)
- Salvia (*Salvia officinalis*)
- Albahaca (*Ocimum basilicum*)
- Lemongrass (*Cymbopogon citratus*)
- Laurel comestible (*Laurus nobilis*)

En el leño:

- Palo santo (*Bulnesia sarmientoi*)

En la corteza:

- Canela (*Cinamomum zeylanicum*)

En las flores:

- Lavanda (*Lavandula spp.*)
- Ylang-ylang (*Cananga odorata*)
- Jazmín (*Jasminum officinale* L, *J. grandiflorum* L)
- Rosa (*Rosa spp.*)

Algunas especies contienen esencias en diferentes partes de la planta, pero en muchos casos difiere enormemente la composición y por lo tanto sus propiedades y usos, según el órgano en que se encuentran.

Por ejemplo, es muy distinta la composición química y por lo tanto el aroma de la esencia extraída de los frutos del coriandro y la de sus hojas. Por ello en este caso hay que indicar si la esencia proviene de los frutos o de las hojas, aunque con esta especie es muy extraño que a alguien le interese la esencia de las hojas.

Lo mismo sucede con la esencia extraída de las cáscaras de los cítricos y de sus hojas. En el caso del limón, la esencia extraída de la cáscara es muy utilizada en todo el mundo, principalmente como aromatizante de bebidas. En cambio, hay variedades de naranja donde el valor está en la esencia extraída de las hojas y brotes tiernos, en este caso se la denomina comercialmente como esencia de “petit grain” y es muy usada en perfumería.

En la corteza de la canela de Ceylán predomina el aldehído cinámico, en las hojas de la misma planta predomina el eugenol, mientras que el alcanfor es el componente mayoritario de las raíces.

En el caso de la ruda, *Ruta graveolens*, compuestos oxigenados como cetonas, alcoholes, furanocumarinas, predominan en las hojas, e hidrocarburos como geigerenos (C₁₂ H₁₈, C₁₂ H₁₆) son mayoritarios en las raíces.

Hay especies herbáceas donde la esencia se concentra en hojas, sumidades florales y flores propiamente dichas. En cambio, en los tallos es muy bajo el contenido. Sin embargo, por el costo que tiene separar tallos de hojas, la extracción se realiza de toda la parte aérea de la planta. Es el caso de hierbas como las mentas, tomillo, orégano, romero, salvia, laurel y muchas otras.

5.3 Determinación cuantitativa de aceites esenciales

Existen varios métodos para conocer el contenido de aceite esencial en un material vegetal, pero todos se basan en las propiedades que tienen los mismos de ser arrastrables con vapor de agua y no miscibles con ella. Tradicionalmente el más utilizado en los laboratorios es el prescrito por la Farmacopea Europea y varios organismos de normalización (Real Farmacopea Española, 1997). Se lo denomina equipo con trampa Clevenger (figura 1).

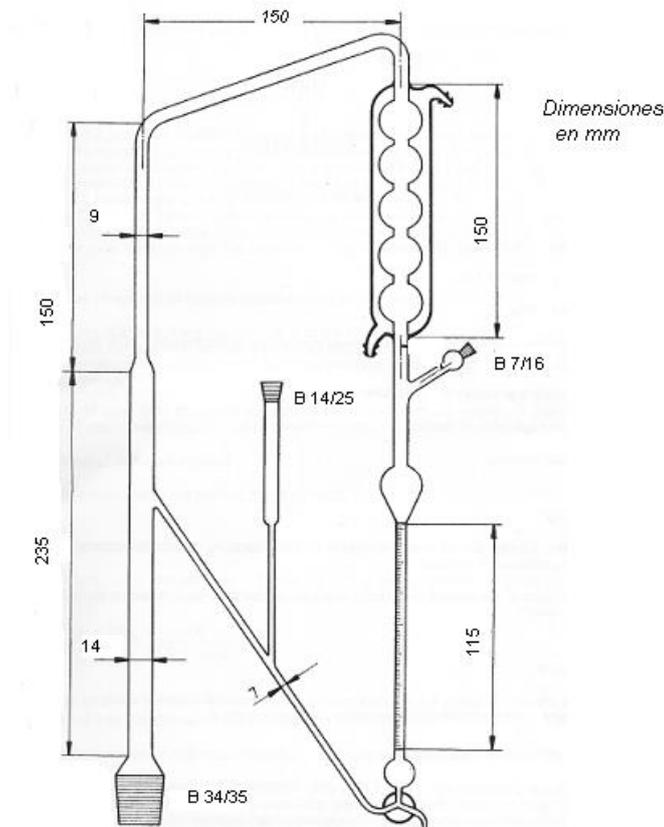


Figura 1. Trampa tipo Clevenger (fuente: Ringuelet-Viña 2013)

Se coloca el material vegetal exactamente pesado (50 a 100g según la especie) en un balón con agua, que se acopla a una trampa o colector especialmente diseñado para esta determinación.

Se coloca sobre una fuente de calor y se produce la destilación recibiendo agua y aceite en el tubo graduado de la trampa (1 ml dividido en 0,01 ml). Terminada la destilación que puede tardar una o varias horas según el material, se mide el volumen de aceite para luego calcular el contenido expresado en porcentaje volumen/peso.

Los resultados obtenidos por este equipo de laboratorio no siempre son los obtenidos en equipos industriales. Tampoco la calidad obtenida es igual, ya que las condiciones en que se encuentra el material vegetal pueden alterar su composición, por ejemplo, al estar inmerso en agua hirviendo varias horas pueden producirse hidrólisis de ésteres y/u oxidaciones de aldehídos y cetonas.

En los ensayos llevados a cabo en nuestros laboratorios se observa que en este equipo se obtiene aproximadamente un rendimiento 20 % mayor que el logrado en extracciones con destilador por arrastre con vapor en equipo a escala piloto.

5.4 Contenido de aceites esenciales en las plantas

El contenido de aceites esenciales en las plantas se expresa generalmente en por ciento (%), pudiendo ser peso sobre peso (p/p) o volumen sobre peso (v/p). Como los aceites esenciales tienen una densidad muy cercana a la del agua, ambas expresiones no difieren mucho. Aunque la primera expresión es la más correcta, ya que en el mercado se comercializan por unidad de peso (kilogramos), en adelante se expresarán los valores en % v/p salvo que se indique lo contrario. O sea que el dato presentado corresponde a los ml de aceite esencial que rinden 100 gramos de material vegetal, obtenido en equipo con trampa Clevenger.

Es importante señalar que en todo valor de rendimiento o contenido debe indicarse si es sobre el material vegetal fresco, seco u oreado. Las diferencias pueden ser muy grandes ya que el contenido de agua de las plantas es muy variable de acuerdo al momento del día, a la época del año, al estado fenológico y la extracción de la esencia puede realizarse sobre el material luego de varias horas de cosechado o incluso sobre el material completamente deshidratado hasta peso constante al aire. Por ejemplo, plantas de menta al cosecharse pueden tener entre un 55 % a 70 % de agua, o sea un contenido de materia seca de 45 % a 30 % respectivamente. Apenas cortada comienza a perder agua por evaporación con una velocidad directamente relacionada a la temperatura y humedad relativa del aire que la rodea y a medida que se deshidrata, el rendimiento de esencia será mayor expresado en %, pero eso no indica que aumenta el contenido en la planta de menta, sino que aumenta la cantidad relativa al peso de la menta en estudio.

Pongamos un ejemplo:

- Una tonelada de *Mentha piperita* que al cosechar tiene 41,05 % de materia seca.
- Si la destilamos fresca, recién cortada, nos rinde 8 litros de esencia, por lo tanto, el rendimiento es 0,8 % sobre el peso fresco (s/pf).
- Si la destilamos seca, nos quedan 410,5 kilos de menta y también nos rinde 8 litros de esencia, por lo tanto, el rendimiento es 1,94 % sobre el peso seco (s/ps).

En muchos casos la destilación se lleva a cabo con el material que se cortó hace algunas horas y aún no se deshidrató totalmente. Lógicamente el rendimiento en % será intermedio entre los valores mencionados.

Hay que considerar en el ejemplo mencionado que, si el secado del material fue llevado a cabo en buenas condiciones, la pérdida de esencia durante dicho proceso es despreciable. Por eso se menciona que en los dos casos (destilando el material fresco y seco) se obtienen 8 litros de esencia.

Al informar el contenido de esencias de una especie vegetal es importante como dato complementario indicar la procedencia de ese material y si es posible el estado fenológico de la planta, así como la parte de la cual se extrajo (toda la parte aérea, hojas, ramas, tallos, flores, frutos, semillas o raíces).

5.5 Principales métodos de extracción

- Destilación con agua o *hidrodestilación*
- Destilación por arrastre con vapor
- Expresión
- Con fluidos en estado supercrítico
- Por microondas
- Enflorado

Los dos primeros procedimientos se basan en tres propiedades de los aceites esenciales:

- Son arrastrables con vapor de agua.
- No son miscibles con el agua.
- La mayoría son menos densos que el agua, aunque algunos son más densos.

En la *hidrodestilación* el material vegetal a procesar se pone en contacto con el agua, se lleva a temperatura de ebullición y los vapores generados se hacen pasar por un

condensador, así se reciben y se separa el aceite por ser inmiscible con el agua. La recepción del aceite se hace en separadores de diferente diseño según se trate de un aceite más denso o menos denso que el agua. La gran mayoría son menos densos, o sea que son más livianos que el agua. Por este método en general se obtienen aceites esenciales con baja calidad, ya que el largo tiempo de contacto entre el vegetal y agua en ebullición puede producir polimerizaciones de algunos componentes monoterpénicos, hidrólisis de ésteres valiosos como los presentes en aceite esencial de lavandas y otras alteraciones no deseadas.

La destilación por arrastre con vapor es quizás la más antigua utilizada y la más difundida en la actualidad para hierbas y frutos secos. En estos métodos el vapor de agua se genera en un lugar separado del material vegetal. Se hace atravesar ese vapor por el material y así se arrastra el aceite volátil hasta un condensador, para recibir la mezcla líquida de agua y de aceite esencial en recipientes adecuados o “separadores”, que por diferencia de densidad permiten que se elimine el agua condensada y se retenga el aceite extraído. Existen innumerables diseños que varían en cuanto a la fuente de calor utilizada, tamaño de alambique (recipiente donde se coloca el material a procesar), tipo de condensador, separadores y otros accesorios (Esquema).

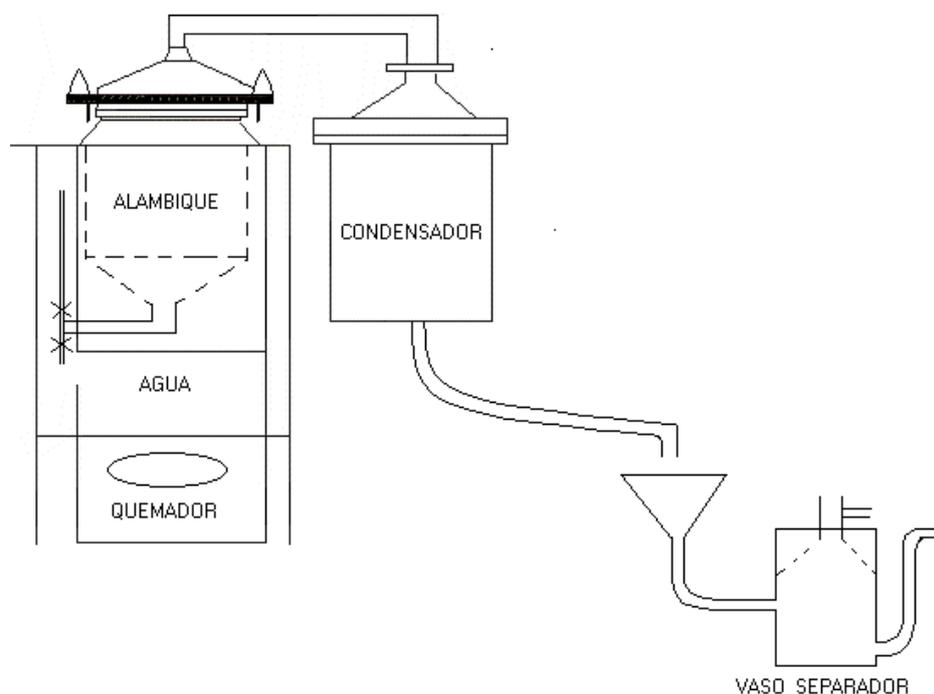


Figura 2. Principales componentes de un destilador por arrastre con vapor.

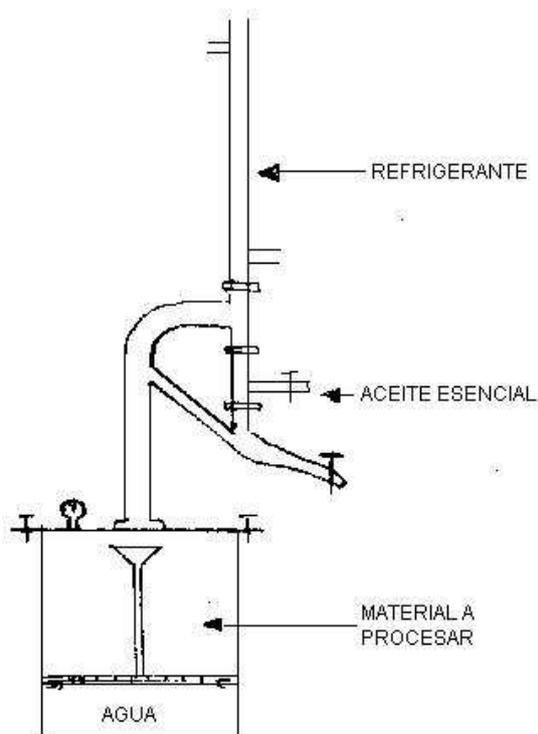


Figura 3. Destilador con refrigerante vertical.

Los métodos por expresión son utilizados casi exclusivamente para la producción de aceites esenciales provenientes de cáscaras de cítricos. En el mundo existe un destacado mercado de aceites de limón, naranja, bergamota, mandarina y otras especies. Se obtienen a partir de las cáscaras residuales en las industrias de jugos y concentrados.

En estas metodologías, aplicadas actualmente sólo a gran escala, se utilizan equipos que comprimen las cáscaras para permitir la salida del aceite presente en las glándulas de las mismas. Hay distintos equipos que pueden procesar los frutos enteros o las cáscaras solamente. En todos los casos se obtiene una emulsión de aceite y agua, que debe separarse por centrifugación y/o decantación. De esta manera no se trabaja con las altas temperaturas presentes en los métodos antes citados y con ello se evita la alteración de componentes a veces minoritarios, pero que le otorgan el agradable aroma al producto buscado.

Con fluidos en estado supercrítico se extraen aceites esenciales sólo a nivel experimental en las últimas décadas, debido principalmente a su elevado costo en comparación con los métodos tradicionales. Se basa en la utilización de solventes

adecuados que en su estado supercrítico (zona de un diagrama temperatura-presión en la que se interrumpe la curva que delimita los estados físicos sólido-líquido-gaseoso), un fluido cambia las propiedades de transporte y solubilidad. En estas condiciones de temperatura y presión el solvente logra mejor penetración y difusión en el material vegetal a procesar.

El solvente adecuado debe ser económico, inerte, debe mostrar afinidad con los compuestos a extraer, no inflamable y de baja toxicidad, entre otras características. El más utilizado es el dióxido de carbono (CO₂) pues cumple con los requisitos mencionados. A escala industrial se está utilizando para algunos procesos como eliminación de la cafeína en el café, preparación de extractos de lúpulo y eliminación de colesterol en productos lácteos.

En la extracción por microondas se coloca el material a procesar con un solvente que no es afectado por las microondas, como el tolueno, hexano o tetracloruro de carbono. Al aumentar la temperatura por efecto de las microondas se rompen las estructuras que contienen el aceite, se libera éste, se disuelve en el solvente y la mezcla gaseosa solvente-aceite se trata como en los métodos tradicionales. Pueden completarse extracciones muy rápidas, pero a un elevado costo si se realiza a escala industrial (Collin, 1991).

5.6 Los aceites esenciales como herramienta complementaria en Manejo integrado de plagas y Agricultura orgánica

Los plaguicidas están perdiendo efectividad debido a la dificultad en el manejo de resistencia de las plagas a los mismos, y la búsqueda de nuevos compuestos sintéticos es una tarea altamente demandante en tiempo y dinero. Los metabolitos secundarios de las plantas juegan un rol importante en la interacción planta-insecto y dichos compuestos podrían tener actividad insecticida, hormonal o inhibidora de la alimentación, en insectos (Bernays and Chapman 1994).

Presentan ventajas únicas como baja persistencia en el medioambiente, y baja toxicidad para los mamíferos (Regnault-Roger 1997; Duke et al. 2003).

En ecosistemas naturales, el rol de metabolitos secundarios en las interacciones bioquímicas entre plantas aromáticas e insectos está comprobada. Los aceites esenciales de plantas obtenidos a partir de destilación, han sido tradicionalmente usados para proteger granos almacenados tanto de plagas en los mismos y para repeler insectos alados (Isman 2000, 2006). La percepción general de productos de estas características en contraste con los plaguicidas de síntesis es positiva al punto que la Agencia de protección ambiental de Los Estados Unidos de Norteamérica (USEPA) afirma que “No se advierten efectos adversos en humanos en el uso de estas sustancias como agentes repelentes e insecticidas “. La mayoría de estos compuestos se encuentran en alimentos comunes y muchos están aprobados como saborizantes por la FDA (Food and Drugs Administration).

Los aceites esenciales muestran un buen potencial en el control de insectos y ácaros, han demostrado efectividad en pulverizaciones y aplicaciones tópicas, además de poseer propiedades repelentes e inhibidoras de la alimentación (Regnault-Roger 1997). Intrínsecamente, presentan selectividad hacia enemigos naturales (Ketoh et al. 2005) y abejas (Ruffinengo et al. 2005), una cualidad poco común en insecticidas ya sean naturales o de síntesis.

Su utilidad en el control de áfidos ha sido comprobada en repelencia (Hori 1998) como también su actividad inhibitoria de la alimentación (Gutierrez et al. 1997; Isman 2000).

En cuanto a la fitotoxicidad, a dosis máximas usadas se encontraron diferentes grados (desde ninguna a severas, en diferentes cultivos). Para los ensayos que detallaremos en los siguientes capítulos y específicamente en el cultivo ensayado veremos que la elección de la concentración está determinada por trabajos previos en los cuales no se observó fitotoxicidad (Ringuelet, comunicación personal).

Los aceites esenciales de diferentes plantas, contienen un número de componentes vocativos que pueden provocar efectos reguladores o inhibidores en el ciclo de vida de los insectos, como como crecimiento, desarrollo, reproducción y orientación. Dentro de los compuestos presentes en aceites esenciales, los monoterpenoides son generalmente los componentes principales (Tsao and Coats 1995) y en consecuencia son tenidos en cuenta en lo referente a su actividad frente a los insectos. Estos compuestos naturales

han sido propuestos para liderar el desarrollo de insecticidas efectivos, seguros, y totalmente biodegradables (Grodnitzky and Coats 2002).

De hecho, los aceites esenciales, como muchos otros metabolitos secundarios de las plantas, se cree son sintetizados principalmente como defensa química contra plagas (Tsao and Coats 1995).

El anetol (anethol), un compuesto usualmente presente en aceites esenciales extraídos de frutos de anís e hinojo (Santos et al. 1998; Miraldi 1999) demostró ser efectivos como fumigante contra *Blattella germanica* (Blattodea Blattellidae) (Chang and Ahn 2002) y activo contra diferentes plagas como *Spodoptera litura* and *Trichoplusia nu* (Lepidoptera Noctuidae), mosquitos, escarabajos y polillas de granos almacenados (Isman 2000; Kim et al. 2003; Akhtar and Isman 2004). El aceite esencial de anís ha demostrado ser efectivo para el combate de la araña roja carmín *Tetranychus cinnabarinus* (Acarina Tetranychidae) y el afidio *Aphis gossypii* (Hemiptera Aphididae), así como también los aceites de comino *Cuminum cyminum* y oregano *Origanum syriacum var. bevanii* (Tunı and Sahinkaya 1998). Para el caso de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* y *Cymbopogon citratus*, estos han demostrado ser eficaces para el control de *Bemisia tabaci*, tanto en ensayos de repelencia como de mortandad (Ringuelet et. al 2012).

La neurotoxicidad de un número de monoterpenos de aceites esenciales fue ensayada en diferentes insectos (Coats et al. 1991) y algunos de los mismos fueron identificados como inhibidores competitivos de la acetilcolinesterasa (Miyazawa et al. 1997; Regnault-Roger 1997; Isman 2000) pero una actividad de ese tipo *in vivo* requiere altas concentraciones, indicando que la acetilcolinesterasa no es el sitio principal de acción (Kostyukovsky et al. 2002).

Otra forma propuesta de acción es la interferencia con la producción de feromonas, afectando el comportamiento y la reproducción e interfiriendo con el metabolismo de hormonas juveniles (Tsao and Coats 1995) regulando el crecimiento y el desarrollo.

Por lo expuesto anteriormente, los aceites esenciales poseen el potencial necesario para convertirse en una de las herramientas fundamentales tanto para un manejo integrado de plagas como orgánico.

6. Las plagas como limitantes de la producción

La definición de plaga es un concepto antropocéntrico, para denominar a los organismos que de alguna manera interfieren con los intereses del hombre (Anónimo, 1957). Los organismos designados como plagas compiten con el hombre por comida, refugio o territorio, y también pueden transmitir enfermedades causando graves problemas en la salud pública (Horn, 1988). Existen numerosas definiciones sobre el concepto de plaga, sin embargo, en este estudio se la considera como “la especie de artrópodo fitófago presente en un sistema agrícola, que puede desarrollar poblaciones abundantes y causar daños al cultivo disminuyendo su producción o deteriorando la calidad del producto, con el consiguiente perjuicio económico” (Horn, 1988).

Existen diferentes clasificaciones de plagas, según Berryman (1987); Vigiani (1990) y Barbosa (1998):

1. *Plagas Claves*: unas pocas especies que se encuentran siempre presentes en un cultivo. Se reconocen dos subcategorías: a) naturales: son aquellas presentes en condiciones naturales del agro-ecosistema, y b) inducidas: son especies que se convierten en dominantes como consecuencia de prácticas de manejo del agro-ecosistema (ej., uso continuo de plaguicidas).

2. *Plagas ocasionales*: sus poblaciones experimentan aumentos bruscos (picos poblacionales desmesurados) causando daños tolerables. El aumento súbito se debe generalmente a alteraciones del balance natural, irregularidades climáticas o bien a una alteración del hábitat por manipulación humana.

3. *Plagas potenciales*: comprende a la gran mayoría de especies fitófagas presentes en un agro-ecosistema que casi nunca causan graves pérdidas por las que se justifique iniciar una estrategia de control. Sin embargo, potencialmente pueden llegar al “status” de plaga si las prácticas de manejo son modificadas.

4. *Plagas migratorias*: especies con una alta capacidad de movilización y que causan daños cuantiosos a los cultivos en ciertos periodos del año.

En general, en ecosistemas naturales muchas especies de artrópodos no alcanzan niveles poblacionales dañinos, presentando una relativa estabilidad. Así, surge la pregunta ¿por qué se convierten en plagas en los agro-ecosistemas? En este trabajo se consideran dos de las hipótesis más comprobadas relacionadas con la máxima simplificación del agro-ecosistema, es decir, el monocultivo (Root, 1973; Risch, 1981; Altieri & Letourneau, 1982; Kogan, 1986; Altieri, 1992):

1. “Hipótesis de la concentración del recurso”: plantea que los monocultivos ofrecen un recurso abundante y altamente concentrado a los fitófagos, produciéndose una sincronía temporal del recurso alimenticio (planta) razón por la cual, los herbívoros (plagas fitófagas) encuentran una elevada oferta y disponibilidad del mismo. En este sentido, a una menor concentración del recurso (cultivo hospedero), más difícil será para el insecto-plaga la localización de una planta hospedera. La concentración relativa de recursos también disminuye la probabilidad de que la especie plaga deje (o emigre) el hábitat una vez que ha llegado a éste. Además, existen algunas prácticas culturales habituales en el cultivo como la fertilización que favorecen el desarrollo de las plagas.

2. “Hipótesis de los enemigos naturales”: considera que la simplificación extrema del agro-ecosistema provoca la reducción de fuentes de alimentación alternativa (polen, néctar, otras presas), refugio y lugar de oviposición requerida por los consumidores secundarios (enemigos naturales), lo cual determina una menor riqueza y abundancia de éstos, siendo muchos de ellos polívoros (con requerimientos alimenticios más amplios). En este sentido, esta hipótesis plantea que:

- a) En ambientes complejos (con alta diversidad vegetal), como son los cultivos diversificados, se dispone de una mayor diversidad de presas y microhábitats. Como resultado, las poblaciones relativamente estables de depredadores generalistas pueden persistir en estos hábitats porque en ellos se pueden alimentar de una amplia variedad de herbívoros (plagas) disponibles en períodos o microhábitats diferentes.
- b) Los depredadores especialistas son menos afectados por fluctuaciones amplias porque el refugio provisto por un ambiente complejo permite a sus presas escapar de la aniquilación total.
- c) Los hábitats diversos ofrecen muchos recursos importantes para los depredadores y parasitoides adultos de vida libre, tales como fuentes de néctar y polen reduciendo

la posibilidad de que ellos se marchen o lleguen a extinguirse en forma local. Estos recursos no están disponibles o lo están en forma muy escasa en un monocultivo.

7. *Myzus persicae*

No es raro que muchos estudios se orienten hacia el control de áfidos mediante diferentes medios, debido a que los pulgones tienen una gran capacidad reproductiva, algunas especies son responsables de la transmisión de varias virosis que afectan a los vegetales, y la aparición de formas aladas en algunas especies que pueden dispersarlos a grandes distancias (Ortego, 1990).

Particularmente *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) también conocido como el “pulgón verde del duraznero”, se caracteriza por ser un insecto muy polífago que produce importantes daños directos e indirectos sobre los cultivos, destacando el tomate, el pepino, la papa, el tabaco, la lechuga y muchos otros cultivos. *Myzus persicae* quizás sea el pulgón de mayor importancia agronómica ya que tiene un rango muy amplio de especies hospederas secundarias (Andorno et al. 2004).

En los sistemas urbanos de producción de alimentos están presentes una gran variedad de hortalizas; sin embargo, la problemática de los áfidos se ha convertido en una limitante para el desarrollo óptimo de estos cultivos debido al daño directo a las plantas y por su eficacia en la transmisión de enfermedades virales (Syller, 1994).

Los cultivos establecidos en sistemas hortícolas se encuentran afectados básicamente por *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus), *Aphis gossypii* (Glover), *Lipaphis erysimi* (Kalt) y *Myzus persicae* (Sulzer), este último conocido como el pulgón verde del durazno, áfido polífago, con más de 50 hospedantes (Ortego 1990).

Myzus persicae es una importante plaga representante de varias familias botánicas, entre ellas, solanáceas (papa, tomate pimiento, berenjena, tabaco); crucíferas (repollo, coliflor y brócoli); cucurbitáceas (melón y pepino); compuestas (lechuga) y umbelíferas (zanahoria), entre otras (Hori, 1998).

Es un pulgón de amplia distribución mundial, transmite más de 100 enfermedades virales y ataca una gran gama de especies de planta (es el áfido más polífago) (Capinera, 2005).

Existen adultos ápteros y alados, en ambos casos tienen un tamaño de 1,8 - 2.5 mm. En los primeros, el cuerpo es de color rosado oscuro, cremoso, amarillento, verde claro o casi incoloro. Presentan tubérculos antenales desarrollados y convergentes, y antenas del mismo tamaño del cuerpo. El abdomen es del mismo color del cuerpo, con una mancha característica. Presentan cornículos o sifones del mismo color del cuerpo, con las puntas más oscuras y ligeramente hinchados en la parte distal. La cauda es corta y puntiaguda.

Los adultos alados tienen cabeza y tórax negro y el abdomen, de color verde, presenta una mancha negra central.

Las ninfas son siempre amarillentas. Las hembras son ovovíparas.

(<http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/myzus-persicae>)

Este pulgón produce abarquillamiento de hojas y brotes afectando también a flores y frutos. Debilita la planta al realizar picaduras alimenticias y succionarle savia.

Es un eficaz transmisor de virus y segrega gran cantidad de melaza, sobre la que se instala el hongo *Capnodium sp*, formando estructuras fúngicas epifíticas (fumagina) depreciando algunas cosechas y reduciendo la superficie fotosintética de las hojas (Cabello & Belda, 1994).

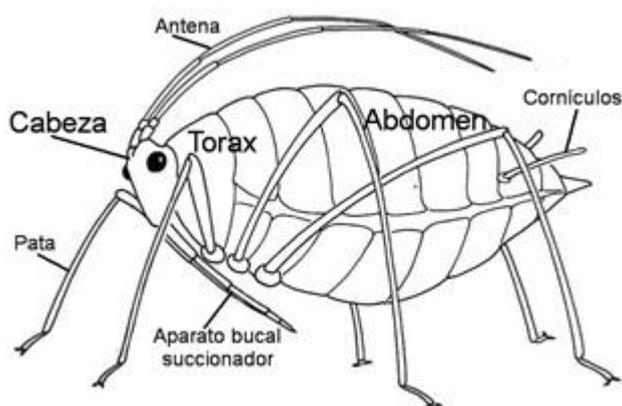


Figura 4. Anatomía de *Myzus Persicae* (fuente: <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/myzus-persicae>)

CAPITULO 2

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Como **hipótesis** del trabajo, se postula que los aceites esenciales de Laurel (*Laurus nobilis*) y Pasto Limón (*Cymbopogon citratus*) son efectivos para el control de *Myzus persicae* en cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) bajo cubierta.

Así se propone como **objetivo general** determinar el grado de eficacia en el control de *Myzus persicae* mediante el uso de los aceites esenciales previamente mencionados aplicados tanto en forma individual como en mezcla.

Como **objetivos específicos** de los ensayos realizados se plantearon:

- Verificar si existe un efecto potenciador al formular y aplicar ambos aceites en mezcla.
- Comparar la efectividad de uso de aceites esenciales frente al tratamiento convencional con plaguicidas de síntesis.
- Analizar comparativamente las aplicaciones de los plaguicidas de síntesis versus las de aceites esenciales mediante un análisis económico de acuerdo a los costos de aplicación y efectividad de los mismos.

CAPITULO 3

MATERIALES Y METODOS

Para comprobar las hipótesis y objetivos propuestos, se llevaron a cabo dos ensayos, los cuales se detallan a continuación:

Ensayo 1:

Determinación de los efectos de aceites esenciales de laurel y pasto limón sobre *Myzus persicae* en plantas de lechuga bajo cubierta

Materiales y métodos:

1. Diseño experimental:

El ensayo se llevó a cabo en la Estación Experimental J.J Hirschhorn (34° 51 lat. sur; 57° 53 long. oeste), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, ubicada en la localidad de Los Hornos, partido de La Plata. Se realizó en un invernáculo experimental de 8 x 4 metros, sobre un cultivo de lechuga de la variedad amarilla o mantecosa. El mismo fue implantado en cuatro filas, en trespelillo de 3 hileras con una densidad de 30 plantas/m². Los trabajos de preparación del suelo previos a la implantación fueron de roturado y refinado del mismo.

Se fertilizó con NPK 15:15:15, compuesto de abono orgánico y sales, en una dosis de 800 kg/ha al voleo. Con sistema de riego por goteo, manteniendo la humedad del suelo en capacidad de campo.



Figura 5. Vista frontal con puerta de ingreso (fuente propia)



Figura 6. Vista lateral con detalle de ventilación (fuente propia)



Figura 7. Cultivo implantado y riego por goteo (Fuente propia)

Se realizaron los siguientes tratamientos:

- A. Testigo, sin aplicación de aceites ni otros.
- B. Agua + emulsionante (2% INSOL)
- C. Agua + emulsionante + aceite esencial de *C. citratus*
- D. Agua + emulsionante + aceite esencial de *L. nobilis*
- E. Agua + emulsionante + aceite esencial de *C. citratus* + aceite esencial de *L. nobilis*

Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones en parcelas de 1 x 0,5 metros. El diseño y la distribución de las parcelas en el lote fueron enteramente al azar como muestra el siguiente esquema:

Distribución de los tratamientos



Figura 8. Distribución de los tratamientos.

Las parcelas señaladas con la letra X no constituyen unidades experimentales. El momento y número de aplicaciones se definió en función del establecimiento natural de la población de *M. persicae*.



Figura 9. División e identificación de parcelas.

2. Obtención, formulación y aplicación de los aceites esenciales

a) Obtención:

Las especies utilizadas para el control de *Myzus persicae* fueron: lemongrass cultivado en la estación Experimental de la facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina y laurel cultivado en la zona de La Plata.

Para este ensayo se utilizaron las hojas de laurel y lemongrass, que fueron sometidas a un proceso de secado a temperatura ambiente y a una posterior destilación por arrastre con vapor de agua en destilador de acero inoxidable con alambique de 30 litros de capacidad durante 3 horas. Los aceites esenciales obtenidos fueron deshidratados con sulfato de sodio anhidro y conservados en heladera en frascos de color oscuro.

Los aceites esenciales en las mismas especies, difieren en su composición de acuerdo al lugar donde han sido cultivadas (Quintanilla et. al 2012). Para cultivos en las zonas de La Plata el aceite esencial de Lemongrass posee citral como componente mayoritario

con 66,7% y en el de laurel se encuentran el 1.8-cineol (29,3%) y el linalool (31,3%) como mayoritarios (Ringuelet et. al 2012).

b) Preparación de las emulsiones:

Las emulsiones se prepararon al 3% de cada aceite esencial, utilizando un 2% de INSOL (oleato de polietilenglicol) como emulsionante. En las mezclas de aceites se mantuvo la concentración total de aceite en un 3%, o sea 1,5% de lemongrass y 1,5% de laurel. Se utilizaron concentraciones de hasta 5% de aceites esenciales de laurel y pasto limón en ensayos de similares características sobre plantas de lechuga, no habiéndose encontrado signos de fitotoxicidad en el cultivo (Ringuelet, et al. 2012).

c) Aplicación:

Los tratamientos se realizaron por pulverización directa sobre plantas de lechuga, a razón de 10 golpes de atomizador (2 ml) por parcela, cuando se determinó una densidad promedio de 10 pulgones por planta. La misma se realizó utilizando una caja especialmente diseñada con las medidas de la parcela para evitar que la deriva llegue a las parcelas vecinas.



Figura 10. Detalle de atomizador utilizado para pulverizaciones, y frasco oscuro para conservación de aceites esenciales.

3. Muestreo de *Myzus persicae*:

Debido a que no se realizaron infestaciones con *Myzus persicae*, cuando las plantas llegaron al estado de cuarta hoja, se realizaron muestreos semanales para registrar el promedio y desvío estándar del número de pulgones por planta en cada parcela. En cada muestreo se seleccionaron al azar 6 plantas por parcela (2 por cada hilera) y se contaron in situ todos los individuos presentes. La densidad de *M. persicae* se estimó entre las 6h y a las 72 h después de las aplicaciones.

Se utilizó la siguiente planilla para el relevamiento de los datos a campo (una por cada tipo de aplicación basándonos en la distribución al azar previamente establecida).

Tabla 4. Planilla de monitoreo

Parcela	Hilera	Pulgones
	I	
A1	II	
	III	
Parcela	Hilera	Pulgones
	I	
A2	II	
	III	
Parcela	Hilera	Pulgones
	I	
A3	II	
	III	
Parcela	Hilera	Pulgones
	I	
A4	II	
	III	
Parcela	Hilera	Pulgones
	I	
A5	II	
	III	



Figura 11. Monitoreo

4. Análisis estadístico:

Para evaluar el efecto de los tratamientos se analizó la variable: número de *M. persicae* por planta antes de la aplicación/ número de *M. persicae* por planta después de la aplicación. Los datos obtenidos después de implementar los tratamientos fueron analizados mediante ANOVA de una vía, y en aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, se continuo el análisis con un test de diferencias mínimas significativas (Tukey). Previamente a los ANOVA se realizaron las pruebas correspondientes de normalidad (Shapiro-Willks) y homogeneidad de varianzas (Levenne).

La experiencia se repitió en 2 años sucesivos (2008-2009)

Ensayo 2:

Análisis comparativo de dos alternativas sanitarias en el manejo de lechuga bajo cubierta

(Aplicación de Plaguicidas de síntesis vs. Aceites esenciales)

Materiales y métodos

1. Diseño experimental:

La experiencia se llevó a cabo en el predio de un productor del Cinturón Hortícola Platense, ubicado en la localidad de Abasto, ciudad de La Plata, calle 32 y 216 (-34,921 latitud sur; -58,141 longitud oeste).

Dicho ensayo se realizó sobre un cultivo ya implantado de lechuga de la variedad amarilla o mantecosa, en un invernáculo de 15 x 12 metros. El mismo fue implantado en 7 filas a tresbolillo doble con una densidad de 20 plantas/m².

El sistema de riego es por goteo, manteniendo la humedad del suelo en capacidad de campo.

En el mismo se realizaron aplicaciones con el aceite esencial de Lemongrass, al mismo tiempo que se aplicaron productos de síntesis de acuerdo al manejo que el productor realiza en su establecimiento.

Diseño en invernadero

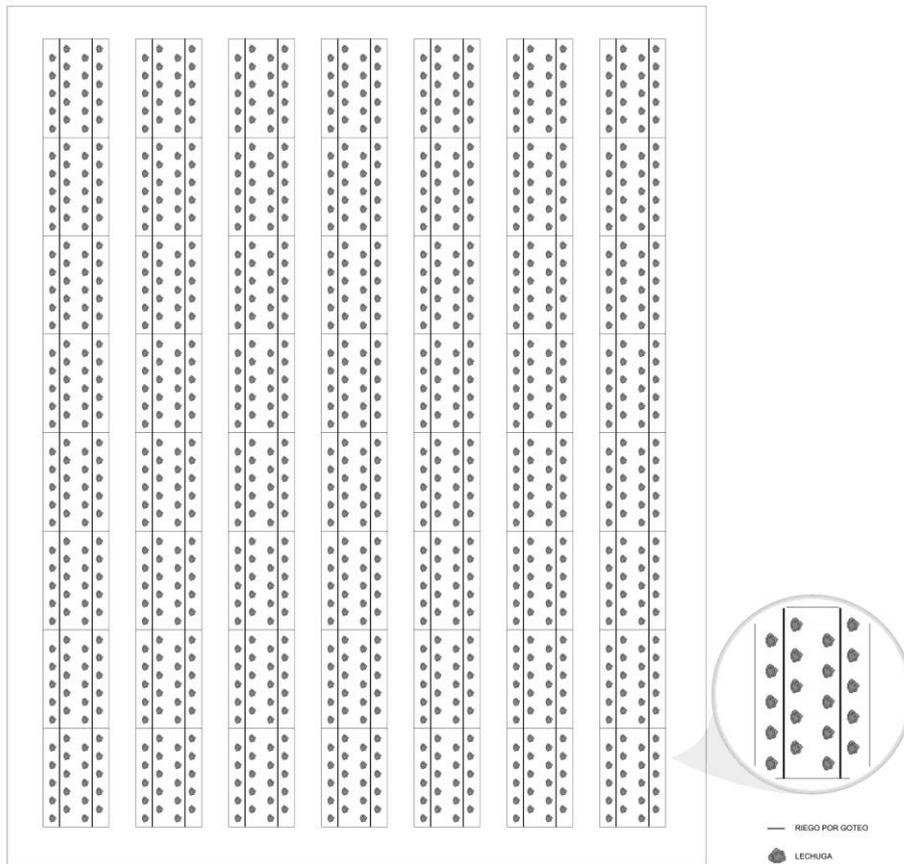


Figura 12. Diseño en invernadero.



Figura 13. Detalle del cultivo de lechuga utilizado para el ensayo.

Se realizaron los siguientes tratamientos:

- A. Testigo, sin aplicación de aceites ni otros.
- B. Producto o productos de síntesis aplicados por el productor, en el marco del manejo convencional en el establecimiento (En este caso fue Pimetrozina, nombre comercial: “CHESS”)
- C. Aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Lemongrass)

Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones en parcelas de 0,8 x 1,2 metros.

El diseño y la distribución de las parcelas son enteramente al azar como muestra el siguiente esquema.

Distribución de los tratamientos

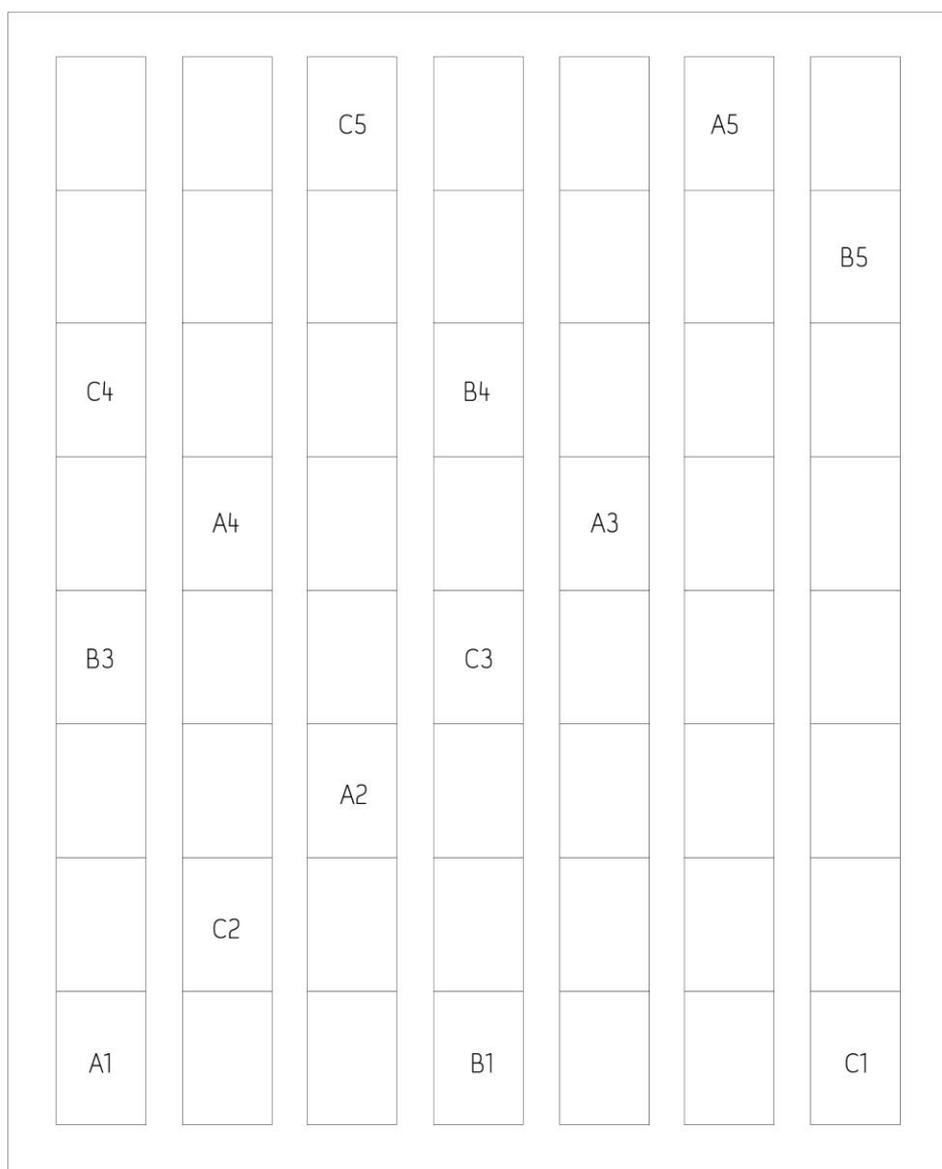


Figura 14. Distribución de los tratamientos.

Las parcelas en blanco no recibirán ningún tratamiento.



Figura 15. Distribución y delimitación de las parcelas experimentales

2. Técnica de aplicación:

Cuando se determinó una densidad promedio de 10 pulgones por planta, se realizaron las aplicaciones por pulverización directa sobre las plantas, con mochila pulverizadora en el caso de la aplicación del producto de síntesis, y para aceites esenciales se realizó con atomizador respetando las dosis ensayadas en experiencias anteriores (20 golpes de atomizador/m²).

En cada caso las aplicaciones se realizaron dentro de una caja de madera especialmente diseñada con las medidas de la parcela experimental, para evitar la deriva.



Figura 16. Aplicación de aceites esenciales con atomizador.



Figura 17. Mochila pulverizadora (fuente propia)

3. Muestreo de *Myzus persicae*:

Debido a que no se realizaron infestaciones con *M. persicae*, cuando las plantas llegaron al estado de cuarta hoja, se procedió a hacer muestreos semanales para registrar el promedio del número de pulgones por planta en cada parcela. En cada muestreo se seleccionaron al azar 6 plantas por parcela. La densidad de *M. persicae* se estimó a las 6h y a las 72 h después de las aplicaciones.

Se utilizó la siguiente planilla para el relevamiento de los datos a campo.

Tabla 5. Planilla de monitoreo.

				C5						A5				
													B5	
C4							B4							
		A4							A3					
B3							C3							
				A2						B2				
		C2												
A1							B1						C1	

4. Sobre el manejo sanitario del productor:

El manejo del productor, desde el punto de vista sanitario, se encasillaría dentro del manejo convencional, con escaso nivel de monitoreos, y aplicaciones mediante calendario.

El plaguicida de síntesis utilizado es la pimetrizona (4,5-dihidro-6-metil-4 [(E)-(3-piridinilmetileno)-amino]-1,2,4-triazin-3 (2H)-ona), conocido por su nombre comercial “Chess” comercializado por el grupo Syngenta.

Chess es un insecticida sistémico, que actúa por contacto e ingestión, muy activo para el control de pulgones y mosquitas blancas en hortalizas, papa, frutales y ornamentales

(<http://www3.syngenta.com/country/cl/cl/soluciones/proteccioncultivos/Documents/Etiquetas/chess.pdf>)

5. Análisis estadístico:

Para evaluar el efecto de los tratamientos se analizó la variable: número de *M. persicae* por planta antes de la aplicación/ número de *M. persicae* por planta después de la aplicación. Los datos obtenidos después de implementar los tratamientos fueron analizados mediante ANOVA de una vía, y en aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, se continuó el análisis con un test de diferencias mínimas significativas (Tukey). Previamente a los ANOVA se realizaron las pruebas correspondientes de normalidad (Shapiro-Willks) y homogeneidad de varianzas (Levene).

CAPITULO 4

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos, se presentan a continuación ordenados por ensayos y por fechas:

4.1 Ensayo 1

Determinación de los efectos de aceites esenciales de laurel y pasto limón sobre *Myzus persicae* en plantas de lechuga bajo cubierta.

Variación de la población de Myzus persicae tras repetidas aplicaciones:

En este ensayo, se han monitoreado el número de pulgones previos a la aplicación de aceites esenciales, y el número de los mismos presentes en las plantas luego de dicha aplicación. Se evaluó la variación de la población en cada tratamiento y el mismo ensayo se repitió en dos años sucesivos (2008-2009).

Para **el periodo 2008**, se probaron los supuestos de normalidad y homocedestacidad de los residuales del modelo a través de las pruebas Shapiro Wilks y Levenne, con p values de 0,37 y 0,53 respectivamente, por lo tanto, se comprueba el cumplimiento de los mismos.

La prueba ANOVA en este primer monitoreo con la significancia obtenida ($p=0,1892$) no mostro evidencia para inferir que algún tratamiento difiere de los demás.

Línea de tiempo monitoreo y aplicaciones, año 2008:

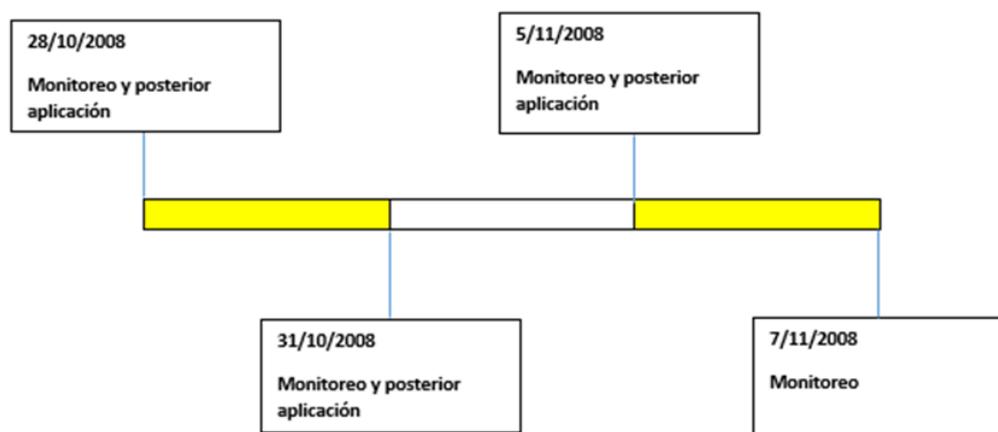


Figura 18. Línea de tiempo de monitoreos y aplicaciones.

Fecha 28 de octubre de 2008, primer monitoreo, cuando se registró la población mínima de pulgones para realizar las aplicaciones:

Tabla 6. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,84
	P= 0,3797
Significación	N/S

Tabla 7. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0,799684	0,5395

Tabla 8. ANOVA

Razón-F	Valor-P
1,70	0,1892

Nuevamente la prueba ANOVA con la significancia obtenida ($p=0,0992$) no mostro evidencia para inferir que algún tratamiento difiere de los demás.

Fecha 31 de octubre de 2008, primer monitoreo luego de las aplicaciones:

Tabla 9. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,98
	P= 0,9208
Significación	N/S

Tabla 10. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	1,38942	0,2733

Tabla 11. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
2,26	0,0992

A partir del segundo monitoreo luego de las aplicaciones (5 de noviembre) comienzan a verse cambios significativos en las poblaciones tratadas con aceites esenciales respecto al testigo y agua con emulsionante.

El mejor resultado se obtuvo con el tratamiento de AE de laurel, seguido por el AE de Lemongrass y la mezcla de ambos.

5 de noviembre de 2008, segundo monitoreo post aplicaciones:

Tabla 12. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,96
	P= 0,6718
Significación	N/S

Tabla 13. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	4,08482	0,0140

Tabla 14. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
6,63	0,0015

Tabla 15. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AE Laurel	5	0,832	X
AE Lemongrass	5	1,998	XX
AE Mezcla	5	2,466	XX
Testigo	5	6,168	XX
Agua + Emulsionante	5	8,4	X

***Media:** corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Agua + Emulsionante		-2,232	5,23003
Testigo vs AE Lemongrass		4,17	5,23003
Testigo vs AE Laurel	*	5,336	5,23003
Testigo vs AE Mezcla		3,702	5,23003
Agua + Emulsionante vs AE Lemongrass	*	6,402	5,23003
Agua + Emulsionante vs AE Laurel	*	7,568	5,23003
Agua + Emulsionante vs AE Mezcla	*	5,934	5,23003
AE Lemongrass vs AE Laurel		1,166	5,23003
AE Lemongrass vs AE Mezcla		-0,468	5,23003
AE Laurel vs AE Mezcla		-1,634	5,23003

* **indica una diferencia significativa.**

En el último monitoreo (7 de noviembre) esta diferencia observada en el análisis anterior se mantiene con un valor de $P=0,0071$. Evidenciando que los tratamientos con aceites esenciales se diferencian del resto.

7 de noviembre de 2008, tercer monitoreo post aplicaciones:

Tabla 16. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,92
	P= 0,1782
Significación	N/S

Tabla 17. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	2,13106	0,1145

Tabla 18. ANOVA

Razón-F	Valor-P
4,80	0,0071

Tabla 19. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AE Laurel	5	1,1	X
AE Lemongrass	5	1,266	X
AE Mezcla	5	1,5	X
Testigo	5	5,434	XX
Agua + Emulsionante	5	6,734	X

***Media:** corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Agua + Emulsionante		-1,3	5,16135
Testigo vs AE Lemongrass		4,168	5,16135
Testigo vs AE Laurel		4,334	5,16135
Testigo vs AE Mezcla		3,934	5,16135
Agua + Emulsionante vs AE Lemongrass	*	5,468	5,16135
Agua + Emulsionante vs AE Laurel	*	5,634	5,16135
Agua + Emulsionante vs AE Mezcla	*	5,234	5,16135
AE Lemongrass vs AE Laurel		0,166	5,16135
AE Lemongrass vs AE Mezcla		-0,234	5,16135
AE Laurel vs AE Mezcla		-0,4	5,16135

* **indica una diferencia significativa.**

Periodo 2009:

El mismo ensayo se repitió comenzando el 28 de octubre del año 2009. Como en el ensayo del año anterior, en esta fecha se registró el número de pulgones promedio establecido para realizar las aplicaciones. Se probaron los supuestos de normalidad y homocedestacidad de los residuales del modelo a través de las pruebas Shapiro Wilks y Levenne, con valores de p de 0,52 y 0,43 respectivamente, por lo tanto, se comprueba el cumplimiento de los mismos.

Para los 2 primeros monitoreos (28 y 31 de octubre) los ANOVA con la significancia obtenida ($p=0,8603$ y $p=0,0615$) no mostró evidencia para inferir que algún tratamiento difiere de los demás.

A partir del segundo monitoreo posterior a las aplicaciones (4 de noviembre) comienzan a verse cambios significativos en las poblaciones tratadas con aceites esenciales (tabla 28) respecto al testigo y agua con emulsionante ($F=4,64$ / $P=0,0082$).

El mejor resultado hasta ese momento se obtuvo con el tratamiento de AE de laurel, seguido por el AE de Lemongrass y la mezcla de ambos.

El 7 de noviembre se mantuvieron las diferencias de los tratamientos de aceites esenciales respecto al testigo y agua con emulsionante, pero en esta ocasión el orden de eficacia fue aceite esencial de laurel, seguido por la mezcla de aceites y en último término el aceite esencial de lemongrass.

Línea de tiempo monitoreo y aplicaciones, año 2009:

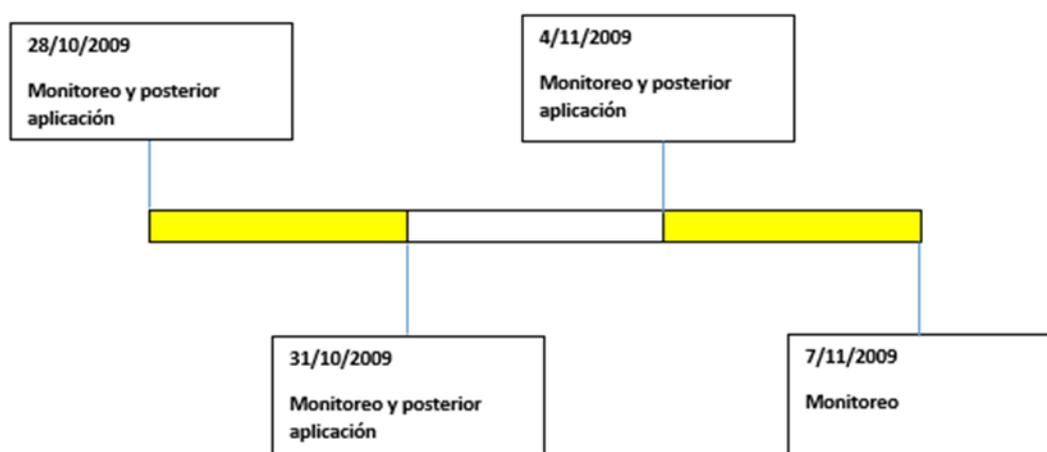


Figura 19. Línea de tiempo de monitoreo y aplicaciones año 2009.

Fecha 28 de octubre de 2009, primer monitoreo, cuando se registró la población mínima de pulgones para realizar las aplicaciones:

Tabla 20. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,95
	P= 0,5206
Significación	N/S

Tabla 21. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,985595	0,4378

Tabla 22. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
0,32	0,8603

Fecha 31 de octubre de 2009, primer monitoreo post aplicaciones:

Tabla 23. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,96
	P= 0,6822
Significación	N/S

Tabla 24. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	1,32137	0,2962

Tabla 25. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
2,68	0,0615

Fecha 4 de noviembre de 2009, segundo monitoreo post aplicaciones:

Tabla 26. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,97
	P= 0,8382
Significación	N/S

Tabla 27. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,419487	0,7926

Tabla 28. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
4,64	0,0082

Tabla 29. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AE Laurel	5	2,4	X
AE Lemongrass	5	3,5	X
AE Mezcla	5	4,098	XX
Agua + Emulsionante	5	5,434	XX
Testigo	5	8,5	X

*Media: corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Agua + Emulsionante		3,066	4,61053
Testigo vs AE Lemongrass	*	5,0	4,61053
Testigo vs AE Laurel	*	6,1	4,61053
Testigo vs AE Mezcla		4,402	4,61053
Agua + Emulsionante vs AE Lemongrass		1,934	4,61053
Agua + Emulsionante vs AE Laurel		3,034	4,61053
Agua + Emulsionante vs AE Mezcla		1,336	4,61053
AE Lemongrass vs AE Laurel		1,1	4,61053
AE Lemongrass vs AE Mezcla		-0,598	4,61053
AE Laurel vs AE Mezcla		-1,698	4,61053

* indica una diferencia significativa.

Fecha 7 de noviembre de 2009, tercer monitoreo post aplicaciones:

Tabla 30. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,97
	P= 0,8382
Significación	N/S

Tabla 31. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	1,11883	0,3754

Tabla 32. ANOVA

Razón-F	Valor-P
8,44	0,0004

Tabla 33. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AE Laurel	5	1,034	X
AE Mezcla	5	1,798	X
AE Lemongrass	5	2,068	XX
Agua + Emulsionante	5	7,166	XX
Testigo	5	9,2	X

*Media: corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Agua + Emulsionante		2,034	5,35975
Testigo vs AE Lemongrass	*	7,132	5,35975
Testigo vs AE Laurel	*	8,166	5,35975
Testigo vs AE Mezcla	*	7,402	5,35975
Agua + Emulsionante vs AE Lemongrass		5,098	5,35975
Agua + Emulsionante vs AE Laurel	*	6,132	5,35975
Agua + Emulsionante vs AE Mezcla	*	5,368	5,35975
AE Lemongrass vs AE Laurel		1,034	5,35975
AE Lemongrass vs AE Mezcla		0,27	5,35975
AE Laurel vs AE Mezcla		-0,764	5,35975

* indica una diferencia significativa.

DISCUSION

En Argentina existe una importante producción de hojas y aceite esencial de laurel, cuya calidad ha sido estudiada (Di Leo Lira et al., 2009). Según empresas productoras como Esencias Nuestras S.A., su precio de mercado es alto comparado con aceites esenciales cuya actividad biológica también ha sido evaluada, como el de *Cymbopogon citratus* (lemongrass) (Ricci et al., 2002).

Diferentes autores abordaron la evaluación de los AE como repelentes para distintas plagas.

En estudios previos al presente y utilizando diferentes técnicas de aplicación, como papeles impregnados (Padin et al., 2007) evaluaron el efecto repelente del aceite esencial de *L. nobilis* sobre *M. persicae* y *B. brassicae*, y se determinó que la esencia de laurel produce de 60 a 90 % de repelencia. En ese mismo año, Ricci y colaboradores utilizaron concentraciones del 0,5 al 4% de AE de laurel y lemongrass sobre *Brevicoryne brassicae* en plantas de repollo, obteniendo la máxima repelencia al 3% para AE de laurel y observando diferencias significativas a partir de concentraciones al 2% con respecto al testigo.

En 2004, Kahn y colaboradores, obtuvieron resultados similares, sobre *M. persicae* en pimiento y lechuga y *C. negopodii* en cultivo de apio, aplicando el aceite esencial de laurel con concentraciones de hasta el 3%.

Ringuelet y colaboradores en el año 2012 utilizaron aceites esenciales de lemongrass y laurel en forma individual y en mezcla en concentraciones al 5% para el control *Bemisia tabaci* en *Lactuca sativa*.

En nuestro estudio se utilizaron concentraciones al 3% de los AE evaluados, puros y en mezcla y se obtuvieron resultados similares a los obtenidos por Ringuelet y colaboradores en 2012 con concentraciones al 5%. Se pudo demostrar que tanto el AE de laurel, el de lemongrass y la mezcla de ambos, fue eficaz para el control de *M. persicae*, no observándose diferencias significativas entre los tres, pero si, con respecto al testigo. En ambos estudios, la aplicación de la mezcla de AE evidenció un buen comportamiento, si bien no llega a ser estadísticamente significativo en relación a los aceites esenciales puros. Por otra parte, no se pudo demostrar un efecto potenciador de la mezcla laurel- lemongrass.

Desde el punto de vista económico, estos resultados son alentadores, ya que se obtiene un similar grado de control a concentraciones de AE menores a los ensayados por Ringuelet.

En la misma línea se destaca el buen desempeño de la mezcla de aceites (ensayo del 2009) ya que permitiría disminuir los costos de la formulación, teniendo en cuenta el precio significativamente menor del aceite de lemongrass con respecto al del laurel en el mercado.

4.2. Ensayo 2

Análisis comparativo de dos alternativas sanitarias en el manejo de lechuga bajo cubierta (Aplicación de Aceites Esenciales vs. Plaguicidas de síntesis)

Tal como fue expuesto en el capítulo 3, el siguiente ensayo respetó los intervalos de aplicación de AE y monitoreo de las experiencias realizadas en los años 2008/2009, y paralelamente fueron monitoreadas y asentados el recuento de pulgones presentes en las parcelas correspondientes al manejo convencional realizado por el productor con el producto de síntesis señalado.

La distribución en el tiempo desde el primer monitoreo y posterior aplicación de AE se detalla a continuación, donde pueden evidenciarse las fechas en las que el productor realizó su control (en las parcelas señaladas a tal fin) y las de los AE.

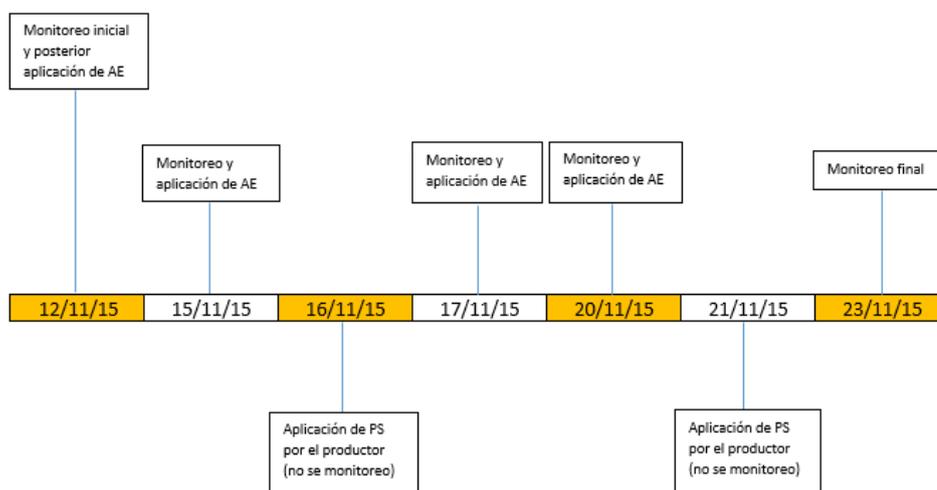


Figura 20. Línea de tiempo de aplicaciones y monitoreos.

Se realizó un análisis económico de acuerdo a los costos de aplicación en cada uno de los casos teniendo en cuenta los valores de mercado para preparar las formulaciones en las dosis ensayadas y el nivel de control que brinda cada tratamiento.

RESULTADOS:

Se probaron los supuestos de normalidad y homocedestacidad de los residuales del modelo a través de las pruebas Shapiro Wilks y Levene, con valores de p de 0,96 y 0,44 respectivamente, por lo tanto, se comprueba el cumplimiento de los mismos.

El ANOVA en este primer monitoreo con la significancia obtenida ($p=0,2238$) no mostró evidencia para inferir que algún tratamiento difiere de los demás.

12 DE NOVIEMBRE DE 2015, primer monitoreo:

Tabla 34. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,96
	P= 0,7700
Significación	N/S

Tabla 35. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,879708	0,4400

Tabla 36. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
1,70	0,2238

15 DE NOVIEMBRE

Tabla 37. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,90
	P= 0,2055
Significación	N/S

Tabla 38. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,667407	0,5310

Tabla 39. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
29,07	0,0000

Tabla 40. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Producto de síntesis	5	14,6	×
AE Lemongrass	5	16,77	×
Testigo	5	33,302	×

***Media:** corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Testigo vs Producto de síntesis	*	18,702	7,17745
Testigo vs AE Lemongrass	*	16,532	7,17745
Producto de síntesis – AE Lemongrass		-2,17	7,17745

* **indica una diferencia significativa.**

17 DE NOVIEMBRE

Tabla 41. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,96
	P= 0,8579
Significación	N/S

Tabla 42. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,667407	0,5310

Tabla 43. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
29,07	0,0000

Tabla 44. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Producto de síntesis	5	14,6	X
AE Lemongrass	5	16,77	X
Testigo	5	33,302	X

*Media: corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Producto de síntesis	*	18,702	7,17745
Testigo vs AE Lemongrass	*	16,532	7,17745
Producto de síntesis – AE Lemongrass		-2,17	7,17745

* indica una diferencia significativa.

20 DE NOVIEMBRE:

Tabla 45. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,95
	P= 0,6746
Significación	N/S

Tabla 46. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	1,19557	0,3361

Tabla 47. ANOVA

Razón-F	Valor-P
8,32	0,0054

Tabla 48. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
AE Lemongrass	5	15,0	X
Producto de síntesis	5	15,8	X
Testigo	5	27,668	X

*Media: corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Testigo vs Producto de síntesis	*	11,868	9,30656
Testigo vs AE Lemongrass	*	12,668	9,30656
Producto de síntesis – AE Lemongrass		0,8	9,30656

* indica una diferencia significativa.

23 DE NOVIEMBRE:

Tabla 49. Shapiro/Wilks (Normalidad)

RESIDUOS	W = 0,95
	P= 0,6810
Significación	N/S

Tabla 50. Verificación de homogeneidad de la Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	0,436178	0,6563

Tabla 51. ANOVA

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
79,13	0,0000

Tabla 52. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Producto de síntesis	5	4,5	X
AE Lemongrass	5	5,634	X
Testigo	5	29,162	X

***Media: corresponde al promedio de pulgones encontrados vivos por planta para cada tratamiento.**

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Testigo vs Producto de síntesis	*	24,662	5,92156
Testigo vs AE Lemongrass	*	23,528	5,92156
Producto de síntesis – AE Lemongrass		-1,134	5,92156

*** indica una diferencia significativa.**

Al último monitoreo se obtuvo el mismo nivel de eficacia en el control de *M. persicae* con el AE ensayado y el plaguicida de síntesis utilizado.

Costo económico:

Costo de aplicación de la pimetrozina: la pimetrozina se comercializa como polvo mojable y teniendo en cuenta que la presentación de 200 gramos tiene un valor de \$650, la dosis recomendada para este cultivo es de 60 gramos cada 100 litros, y para lograr el punto de goteo se estiman unos 400 litros por hectárea, esto nos da un total de \$780/Ha/Aplicación.

Si tenemos 2 aplicaciones por ciclo de cultivo, como lo hizo el productor en el caso ensayado, el costo de las mismas es de \$1560 más la suma de la mano de obra de ambas aplicaciones.

Costo de aplicación de aceite esencial de Lemongrass: El aceite esencial de Lemongrass que se comercializa en Argentina, se hace a través de empresas especializadas en fragancias, teniendo su precio en dólares estadounidenses por unidad de peso (Kg). Para el caso del aceite esencial de Lemongrass, el valor del mismo es de U\$S 38/Kg (Valeria Henn, Citratus Argentina, comunicación personal, 2015), que, llevándolo a medida volumétrica, con una densidad relativa a 20 °C de 0,9 gr/cm³, son U\$S34/Lt.

Teniendo en cuenta la dosis de la formulación ensayada, se utilizó una emulsión al 3%, y calculándose en su aplicación, 4 ml por m², nos da un volumen de 0,12 ml de aceite esencial por m², que nos lleva a un volumen total de 1,2 Lts de aceite esencial por Ha (1,2 lt/ha).

Tomando un valor de 1U\$S=\$14, los U\$S40 derivados del 1,2 Lts de aceite esencial de Lemongrass, el costo por aplicación solo en insumos es de \$570/Ha.

Si en un ciclo de cultivo y para tener el mismo nivel de control que la pimetrozina, se realizan 4 aplicaciones, el costo es de \$2280 más el valor de mano de obra de las 4 aplicaciones.

Los AE son un producto que, comparado con otros tipos de control como la pimetrozina, resulta en un incremento de casi el 50% en costos, debido a que para tener un grado de control similar al del plaguicida de síntesis usado en el manejo convencional, debemos hacer el doble de aplicaciones, lo que lleva a un incremento en los insumos y mano de obra.

Tabla 65. Tabla de costos

	N^a aplicación	Costo estimado por Ha	Costo final	Diferencia de costo
AE	4 (cuatro)	\$570	\$2280 + mano de obra	\$720
PLAGUICIDA	2 (dos)	\$780	\$1560 + mano de obra	+ mano de obra x 2

DISCUSION:

Al final del ensayo el control de *M. persicae* fue similar en ambos tratamientos. Sin embargo, para igual eficacia, fueron necesarias el doble de aplicaciones de AE de Lemongrass al 3% que de pimetrozina, aumentando los costos en un 46%.

No obstante, desde el punto de vista sanitario, el uso de aceites esenciales, es una alternativa viable para el control de *Myzus persicae* en lechuga bajo cubierta, habiéndose comprobado la disminución de la población de dicho afidio en el cultivo tras sucesivas aplicaciones, siendo un producto totalmente inocuo para la entomofauna benéfica y no habiéndose observado fitotoxicidad en la concentración ensayada (3%). Es un producto que, dadas sus características, permite encuadrarlo tanto al manejo integrado de plagas como el orgánico. Al respecto es importante destacar que los alimentos orgánicos certificados, suelen ser más costosos que sus equivalentes comunes y corrientes por diversos motivos:

- la oferta de alimentos orgánicos es limitada con relación a la demanda de los mismos;

- los costos de producción de los alimentos orgánicos suelen ser más elevados porque requieren más mano de obra por unidad de producción y porque la mayor diversidad de las empresas impide hacer economías de escala;
- la manipulación pos cosecha de cantidades relativamente reducidas de alimentos orgánicos tiene un costo más alto por la separación obligatoria de los productos orgánicos respecto de los ordinarios, especialmente durante la elaboración y el transporte;
- la cadena de comercialización y distribución de los productos orgánicos es en cierta forma ineficiente y los costos son más elevados por tratarse de volúmenes relativamente pequeños (<http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq5/es/>).

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

Los resultados de estos ensayos confirman la hipótesis planteada en el trabajo. Los AE de *Laurus nobilis* y *Cymbopogon citratus* resultan ser una herramienta de control para *M. persicae* en lechuga bajo cubierta. Pudo comprobarse la disminución de la población de dicho áfido, tras sucesivas aplicaciones de estos aceites esenciales, tanto en forma individual como en mezcla, siempre en una concentración al 3% de los mismos.

Si bien no se registran diferencias entre los diferentes AE y la mezcla, se observa un discreto mejor desempeño del AE de laurel. Asimismo, la mezcla de AE evidencio un desempeño ligeramente menor que el de laurel, pudiendo esto ser una herramienta para disminución de costos debido a las diferencias de precios en el mercado que existen entre ambos AE.

Por lo expuesto anteriormente, no se comprobó un efecto potenciador al utilizar ambos aceites en mezcla.

Comparados con los plaguicidas de síntesis se logró igual control de *M. persicae*, que con los AE ensayados a expensas de un aumento del número de aplicaciones y consecuente costo económico. Si bien el costo económico utilizando AE es mayor, el beneficio ecológico y sanitario equilibran la balanza de costo-beneficio. Cabe aclarar que el análisis económico es al día de hoy: a futuro, los valores de mercado pueden variar (plaguicidas de síntesis, aceites esenciales) inclinando dicha balanza más aun a favor de los productos ensayados en este trabajo.

Propuestas para posteriores estudios:

Se propone realizar el mismo ensayo de eficacia, a diferentes concentraciones, para evaluar cuál es la concentración mínima para mantener un control del áfido y a su vez analizar si representa una diferencia significativa desde el punto de vista económico.

Ensayar además diferentes métodos de aplicación, ya que en este caso fue netamente experimental (se aplicó solo con atomizador). Se propone ensayar dichas aplicaciones con mochila pulverizadora y/o con UBV (Ultra Bajo Volumen). Esta última podría abaratar costos al permitir trabajar con menores volúmenes.

Por ultimo debería comprobarse si los AE utilizados, tienen un efecto adverso sobre la entomofauna benéfica en diferentes escenarios.

CAPITULO 6

BIBLIOGRAFIA

- Akhtar Y, Isman MB. 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *J Appl Entomol.* 128:32_38.
- Altieri, M.A. & Letourneau, D.L.1982. Vegetation management and biological control in agroecosystem. *Rev. Crop Protection* 1: 405-430.
- Altieri, M.A. 1992. Biodiversidad, Agroecología y Manejo de plagas. CLADES. Ed. CETAL. Valparaiso, Chile.162 pp.
- Andorno, A.V.; Botto, E.N.; La Rossa, F.R.; Mohle, R. 2004. Estudios preliminares sobre la diversidad biológica de áfidos y sus enemigos naturales asociados a cultivos orgánicos de hortalizas bajo cubierta. Implicancias para su empleo en el desarrollo de estrategias de control biológico. XXVII Congreso Argentino de Horticultura. Villa de Merlo, San Luis, Argentina. 21 – 24 de septiembre de 2004.
- Anónimo. 1957. World Health Expert Committee on Insecticide, 7 the Report, Who Technical Report Series N° 125.
- Astolfi, E. & Landoni, J.H. 1977. Residuos de clorados en la canasta familiar argentina. Relación materno-infantil. *Boletín de Plaguicidas.* CIAT 16: 15-27.
- Barbosa, P. (Ed.). 1998. Conservation biological control. Academic Press. London, England. 396 pp.
- Begon, M.T.; Colin, R. & Harper, J.L. 2006. Ecology: from individuals to ecosystems. Fourth Edition. Blackwell Publishing. London, England. 751 pp.
- Bellows, T.S. & Fisher, T.W. 1999. Handbook of biological control. Principles and applications of biological control. Bellows, T.S. & Fisher, T.W. (Eds.). Academic Press, San Diego, USA.1046 pp.
- Bernays EA, Chapman RF. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. New York: Chapman & Hall. Blackman RL, Eastop VF. 2000. Aphids on the world's crops. New York: John Wiley & Sons.
- Berryman, A. 1987. The theory and classification of outbreaks. En: Insect outbreaks. Barbosa, P. y Schultz, J.C. (Eds.). Academic Press, New York, USA. pp. 3-30.

- Berryman, A. 1999. The theoretical foundations of biological control. En: Theoretical approaches to biological control. Hawkins, B.A. & Cornell, H.V. (Eds). Cambridge University Press, England. pp. 3-21.
- Bigler, F.; Blaisinger, P.; Bogenschütz, H.; Brun, J.; Chiverton, P.; Dickler, E.; Easterbrook, M.A.; Edwards, P.J.; Englert, W.D.; Firth, S.I.; Huang, P.; Inglesfield, C.; Klingauf, F.; Kühner, C.; Ledieu, S.; Naton, E.; Oomen, P.A.; Overmeer, P.J.; Plevoets, P.; Reboulet, J.N.; Rieckmann, W.; Samse-Petersen, L.; Shires, S.W.; Stäubli, A.; Stevenson, J.; Tuset, J.J.; Vanwetswinkel, G. & van Zon, A.Q. 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and beneficial Organisms". Bulletin OEPP/EPPO 15: 214-255.
- Botto, E.N. 1999. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. Rev. Soc. Entomol. Argent. 58 (1-2): 58-64.
- Botto, E.N.; Ceriani, S.A.; López, S.; Saini, E.; Cédola, C.V.; Segade, G. & Viscarret, M.M. 1997. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La Experiencia Argentina hasta el presente. Rev. RIA 29 (1): 83-98.
- Bulacio, L.G.; Sain, O.M. & Martínez, S. 2007. Fitosanitarios Riesgos y Toxicidad. UNR Ed. Colección Académica. Rosario-Santa Fe, República Argentina. 143 pp.
- Cabello García, T. & Belda Suárez, J. 1994. Áfidos plaga (Homoptera: Aphididae) en cultivos hortícolas bajo plásticos. En: Moreno Vázquez R. (ed.). Sanidad Vegetal en la Horticultura Protegida. Cursos Superiores. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca, pp. 157-177.
- Capinera, J.L. 2005. *Myzus persicae* (Sulzer) (Insecta: Hemiptera: Aphididae). Publ. N° EENY-222. University of Florida. <http://www.ufl.edu/>. (October 2005).
- Cappello V.Y., Fortunato N. 2008. Dirección Provincial de Recursos Naturales,
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes). 2009. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Insecticidas/Fungicidas/Productos varios. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Buenos Aires, República Argentina. 2252 pp.

- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes): (<http://www.casafe.org/pdf/estadisticas/Informe.pdf>)
- CFHB (Censo flori-hortícola bonaerense).2005. Informe de avance del Censo Florihortícola de la Provincia de Buenos Aires. Ministerio de Asuntos Agrarios, Secretaria de Agricultura y Ganadería. www.maa.gba.gov.ar
- Chaboussou, F. 1987. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos (A Teoría da Trofobiosis). L&PM (Eds.) Porto Alegre, Brasil. 253 pp.
- Chang KS, Ahn JY. 2002. Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruits against *Blattella germanica*. *Pest Manag Sci*. 58:161-166.
- Cieza R.I. 2004. Asesoramiento profesional y manejo de nuevas tecnologías en unidades de producción hortícolas del Gran La Plata. *Scientia Agraria* 5: 79-85.
- Coats JR, Karr LL, Drewers CD. 1995. Toxicity and neurotoxicity of monoterpenoids in insects and earthworms. In: Hedin P, editor. *Natural occurring pest bioregulators*. American Chemical Society Symposium Series 449. Washington (DC): American Chemical Society. p 305-316.
- Collin, F. (1991). "Huiles essentielles et extraits "micro-ondes". *Parfums, Cosm. Aromes*. (97), 105-112.
- Cremlyn, R. 1982. *Plaguicidas modernos y su acción bioquímica*. Ed. Limusa. México, D.F., México. 355 pp.
- De Bach, P. & Rosen., R. 1991. The natural enemies. En: *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press, England. pp. 35-87.
- del Pino, M. 2001. *Guía de Trabajos Prácticos. Horticultura Ecológica*. Cátedra de Horticultura y Floricultura de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), República Argentina. 22 pp.
- Di Leo Lira, P.; Retta, D.; Tkacik, E.; Ringuélet, J.; Coussio, J.; van Baren, C.; Bandoni, A. (2009). "Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina". *Ind. Crops Prod*. 30, 259-264.
- Díaz, M.; Castillo, L.; González, A.; González Coloma, A.; Ibáñez, F.; Zoppolo, R.; Rossini, C. (2009). "Anti-insect active toxicity of *Melia azedarach* fruits from Uruguay". 8th Phytochemical Society of Europe Meeting on Biopesticides. Abstracts: (pp.45). La Palma, España: Real Sociedad Española de Química.
- Duke SO, Baerson SR, Dayan FE, Rimando AM, Scheffler BE, Tellez MR, Wedge DE, Schrader KK, Akey DH, Arthur FH, De Lucca AJ, Gibson DM,

- Harrison HF Jr, Peterson JK, Gealy DR, Tworkoski T, Wilson CL, Morris JB. 2003. USDA-ARS research on natural products for pest management. *Pest Manag Sci.* 59:708_717.
- Ferro, N. 1987. Insect pest outbreaks in agroecosystems. En: *Insect outbreaks*. Barbosa, P. & Schultz J.C. (Eds.). Academic Press, New York, USA. pp. 195-215.
 - Gliessman, S.R. 2002. *Agroecología. Procesos ecológicos en agricultura sustentable* CATIE. Turrialba, Costa Rica. 359 pp.
 - Gonzalez, Joaquín 2010. *Horticultura Urbana y periurbana*, Buenos Aires, Argentina. 16 pp
 - Greathead, D.J. 1995. Benefits and risks of classical biological control. In: *Biological Control Benefits and Risks*. Hokkanen, H.M.T. & Lynch, J.M. (Eds.). Cambridge University Press, England. pp. 53–63.
 - Grodnitzky JA, Coats JR. 2002. QSAR evaluation of structurally related terpenes on *Myzus persicae*. *J Chem Ecol.* 23:1641_1650.
 - Gurr, G.; Wratten, S. 2000. *Measures of Success in Biological Control*. Gurr, G.; Wratten, S., (Eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherland. 448 pp.
 - Gutierrez C, Fereres A, Reina M, Cabrera R, Gonzalez-Coloma A. 1997. Behavioral and sublethal effects of structurally related terpenes on *Myzus persicae*. *J Chem Ecol.* 23:1641_1650.
 - Henn Valeria, 2015. Gerente de “Citratus Argentina” (Frangancia de alto impacto para la industria). Comunicación personal.
 - Hori M. 1998. Repellency of Rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a greenhouse. *J Chem Ecol.* 24:1425_1432.
 - Horn, D.J. 1988. *Ecological approach to pest management*. Elsevier Applied Science Publ. London, England. 285 pp.
 - <http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq5/es/>
 - <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/myzus-persicae>
 - <http://www3.syngenta.com/country/cl/cl/soluciones/proteccioncultivos/Documents/Etiquetas/chess.pdf>
 - INTA. 1991. *Juicio a Nuestra Agricultura: hacia un desarrollo sostenible*. INTA. Seminario Juicio a Nuestra Agricultura. Hacia un desarrollo de una

Agricultura Sostenible. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, República Argentina. 351 pp.

- Isman MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect.* 19:603_608.
- Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann Rev Entomol.* 51:45_66.
- Jones, V.P.; Toscano, N.C.; Johnson, M.W.; Welter, S.C. & Youngam, R.R. 1986. Pesticide effects on plant physiology: integration into a pest management program. *Bull. Ent. Soc. Amer.* 32 (2): 103-109.
- Kahan, A. E.; M. Ricci; S. Padin & E. Cerimele. 2(x)4. Respuesta comparativa del efecto repelente de la esencia de *Laurus nobilis* L. sobre *Myzus persicae* Sulz. y *Cavariella aegopodii* Scop. (Hemíptera: Aphididae). *Agro-Ciencia.* 20 (2): I 13-I 17.
- Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho A. 2005. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research* V 41, I 4, 363-371.
- Kim HK, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ. 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J Stored Prod Res.* 39:293 303.
- Kogan, M. 1986. Ecological theory and integrated pest management practice. Kogan, M. (Ed). Wiley-Interscience. New York, USA. 362 pp.
- Kostyukovsky M, Rafaeli A, Gileadi C, Demchenko N, Shaaya E. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: Possible mode of action against insect pests. *Pest Manag Sci.* 58:1101_1106.
- Koul, O. & Dhaliwal, G.S. 2003. Predators and parasitods. Koul, O. & Dhaliwal, G.S. (Eds.) Taylor & Francis. London, England. 191 pp.
- Larraín, P. 1986. Evaluación de la mortalidad total y parasitismo por *Dineulophus phtorimaeae* De Santis (Hym, Eulophidae). *Agricultura Técnica (Chile)* 46 (2): 227-228.

- Lecuona, R.E. 2004. Bioinsumos. Una Contribución a la Agricultura Sustentable. Lecuona, R.E. (Ed.). Ediciones INTA. Buenos Aires, República Argentina. 59 pp.
- Lenardón, A.; Maitre de Hevia, M.I. & Fuse, J. 1987. Pesticidas Organoclorados y Organofosforados en el Río Paraná (Argentina). II. Ciencia y Tecnología del Agua (CYTA), Vol.1, N°2. pp. 5.
- Luck, R.F.; van den Bosch, R. & García, R. 1977. Chemical insect control, a troubled pest-management strategy. Rev. Bioscience 27: 606-611.
- Luna, M.G. & Wada, V.I. 2005. Aspectos de la biología de *Dineulophus phtorimaeae* De Santis (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Libro de resúmenes del VI Congreso Argentino de Entomología, Tucumán, República Argentina. p. 249.
- MAPO (Movimiento Argentino para la Producción Organica). Disponible en: <http://www.mapo.org.ar/leyes/vegetal.htm>.
- Martínez Quintana, O. & Balcaza, L. 2008. Producción Hortícola en la región platense. Boletín Hortícola 38: 15-16.
- Miraldi E. 1999. Comparison of the essential oils from ten *Foeniculum vulgare* Miller samples of fruits of different origin. Flavour Frag J. 14:379_382.
- Miyazawa M, Watanabe H, Kameoka H. 1997. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-menthane skeleton. J Agric Food Chem. 45:677 679.
- Newbould, P. 1989. The use of nitrogen fertilizer in agriculture. Where do we go practically and ecologically? In: Ecology of Arable. Clarholm, M. & Bergström, L. (Eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherland. pp. 281-295.
- Novo, R J, Viglianco, A., Nassetta, M 1997. Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Triboleum castaneum* Herbs, Agriscientia, XIV: 31-36.
- NRC (National Research Council). 1989. Problems in US. Agriculture. In Alternative Agriculture. Committee on the role of alternative farming methods in modem production agriculture. National Academy Press, Washington, DC, USA. 448 pp.
- Ortego, J. 1990. Bioecología de los afidos (Homoptera: Aphidoidea) en Malargûe, Mendoza, su relación con la epidemiología del virus Y de la papa

- (raza necrótica). 270 p. M.Sc. Tesis U. Austral de Chile, Facultad de ciencias agrarias, Valdivia, Chile.
- Padín, S. B., Ricci, E. M., Henning, C., Ré, M. S. Ringuelet, J., Cerimele, E. 2007. “Insecticidas botánicos para el control de *Mysus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) en *Brassica oleracea* var. *capitata*. Bol. San. Veg. Plagas, 33: 187-193.
 - Pechen de D' Angelo. 1992. Problemas ecotoxicológicos de la resistencia a insecticidas. Taller: “Resistencia a Insecticidas: un problema Ecotoxicológico”. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, República Argentina. pp. 69-82.
 - Pícollo, M.I. 1992. Mecanismos bioquímicos y fisiológicos de resistencia. En Taller: “Resistencia a Insecticidas: un problema Ecotoxicológico”. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, República Argentina. pp. 7-20.
 - Pimentel, D. 1986. Agroecology and Economics. In: Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice. Kogan, M. (Ed.) Wiley-Interscience, New York, USA. pp. 299-319.
 - Polack, L.A. 1998. Monitoreo de plagas en invernáculo: Una herramienta para el cambio de tecnología. Boletín Horticola 19: 8-11.
 - Polack, L.A. 2006. Proyecto Específico. Manejo de plagas y enfermedades de hortalizas en sistemas protegidos. (PNHFA2132). San Pedro: Ediciones INTA. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/sanpedro/investiga/pe/PNHFA2132.htm>
 - Polack, L.A.; Strassera, M.E.; Martínez, S.; Amoia, P.; Pereyra, C. & Mezquiriz, N. 2007. Ajuste preliminar de un modelo fenológico para la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Libro de resúmenes del 30° Congreso Argentino de Horticultura. 1° Simposio Internacional sobre Cultivos Protegidos. La Plata, República Argentina. p. 73.
 - Price, P.W. 1997. Insect ecology. John Wiley & Sons, New York, USA. 872 pp.
 - Quintanilla, Raúl Rodríguez. 2012, Estudio comparativo de la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) cultivadas en Colombia. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales Aromáticas 11 (1): 77 - 85

- Real Farmacopea Española (1997). Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
- Regnault-Roger C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integr Pest Manag Rev.* 2:25_34.
- Restrepo-Rivera, J. 1996. Abonos orgánicos fermentados. OIT CEDECO. San José de Costa Rica, Costa Rica. 51 pp.
- Restrepo-Rivera, J. 2007. Manual práctico. El A, B, C de la agricultura orgánica y harina de rocas. SIMAS. Managua, Nicaragua. 258 pp.
- Ricci, M., Padín, S., Kahan, A., Ré, S. 2002. Efecto repelente de los aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Brevicoryne Brassicae* L. en repollo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 28: 207-212.
- Ringuelet J.A, Urrutia M. I, Yordaz R.M, Henning C.P (2012). Actividad insecticida de aceites esenciales de laurel y lemongrass sobre *Bemisia tabaci*. *Bol. San. Veg. Plagas* 38: 353-360.
- Ringuelet, J.A.; Viña, S. 2013. Productos naturales vegetales, coordinado por Jorge Abel Ringuelet. - 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2013 E-Book 173 pp
- Risch, S.J. 1981. Insect herbivore abundance in tropical monocultures and polycultures: an experimental test of two hypothesis. *Rev. Ecology* 62: 1325-1340.
- Root, R.B. 1973. Organization of plant arthropod associations in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs* 43: 95-124.
- Rozman, V., Kalinovic, I Korunic, Z 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43: 349-355.
- Ruffinengo S, Eguaras M., Floris I, Faverin C, Bailac P, Ponzi M. 2005. LD50 and repellent effects of essential oils from Argentinean wild plants species on *Varroa destructor*. *J Econ Entomol.* 98:651 655.
- Santos PA, Cristina Figueiredo A, Oliveira MM, Barroso JG, Pedro LG, Deans SG, Younus AKM, Scheffer JJC. 1998. Essential oils from hairy root cultures and from fruits and roots of *Pimpinella anisum*. *Phytochemistry.* 48:455_460.

- Sarandón, S.J. 2002. Agroecología. El camino hacia una agricultura sustentable. Manejo de malezas en una agricultura sustentable. Sarandón, S.J. (Ed.). Ediciones Científicas Americanas. La Plata-Buenos Aires, República Argentina. 557 pp.
- Stadler, T. 1992. Control biológico: riesgos y beneficios de la resistencia. En Taller: “Resistencia a Insecticidas: un problema Ecotoxicológico”. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, República Argentina. pp. 21-40.
- Stadler, T. 2006. Documento del curso de Ecotoxicología de la Maestría en Protección Vegetal con orientación en Manejo de Plagas Animales, de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), República Argentina. 90 pp.
- Stenersen, J. 2004. Chemical pesticides: mode of action and toxicology. CRC Press. USA. 296 pp.
- Syller, J. 1994. The effects of temperature on the availability and acquisition of Potato leaf roll luteovirus by *Myzus persicae*. *Ann. Appl. Biol.* 124: 141-149.
- Tsao H, Coats JR. 1995. Starting from nature to make better insecticides. *ChemTech.* 25:23-28.
- Tunı` I, Sahinkaya S. 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomol Exp Appl* 86:183-187.
- Valeria Henn, Citratus Argentina, 2015 comunicación personal.
- van den Bosch, 1978. La Conspiración de los Pesticidas. Universidad de California, USA. 239 pp.
- van Driesche, R.G., Hoddle, M.S. & Center, T.D. 2007. Control de plagas y enemigos naturales. USDA. 751 pp.
- van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Rev. BioControl* 48: 123-139.
- van Lenteren, J.C. & Woets, J., 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. *Ann. Rev. Entomol.* 33: 239-269.
- van Lenteren, J.C. (Ed). 2006. Mass production, storage, shipment and release of natural enemies IOBC Internet Book of Biological Control. Disponible en: <http://www.unipa.it/iobc/download/IOBC%20InternetBookBiCoVersion4October2006.pdf>.

- van Lenteren, J.C. 2000a. Success in biological of arthropods by augmentation of natural enemies. In: *Biological control: measures of success*. Gurr, G. & Wratten, S. (Eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherland. pp.77-103.
- van Lenteren, J.C. 2000b. A greenhouse without pesticides: Fact or fantasy? *Rev Crop Protection* 19: 375-384.
- van Lenteren, J.C. 2003. *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. van Lenteren, J.C. (Ed.). CABI Publishing. Wallingford, UK. 347. pp.
- Vasquez-Luna, A, Perez-Flores, L., Diaz-Sobac, R 2007. “Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria” *Ciencia y tecnología de alimentos*, 5 (4): 306-313.
- Vigiani, A.R. 1990. *Hacia el control integrado de plagas*. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, República Argentina. 124 pp.
- Viñuela Sandoval, E. 1998. Resistencia a insecticidas en plagas de cultivos hortícolas en España. En: *Resistencia a los pesticidas en los cultivos hortícolas*.
- Wood, E.J. 1992. Pesticidas naturales y resistencia. Taller: “Resistencia a Insecticidas: un problema Ecotoxicológico”. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, República Argentina. pp. 45-68.
- Wood, E.J. 1998. *Ecología y Manejo de la Resistencia de Insectos a Insecticidas*. Documento del curso de Ecotoxicología de la Maestría en Protección Vegetal con orientación en Manejo de Plagas Animales, de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), República Argentina. pp. 3-23.
- Zerba, E. 1992. Resistencia a Insecticidas. Evolución del problema y perspectivas futuras. En Taller: “Resistencia a Insecticidas: un problema Ecotoxicológico”. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, República Argentina. pp. 1-6.