

UNIVERSIDAD: Universidad Nacional de La Plata

NÚCLEO DISCIPLINARIO / COMITÉ ACADÉMICO / OTROS TEMAS: Productos Naturales Bioactivos y sus Aplicaciones.

TÍTULO DEL TRABAJO: **BIOCONTROL DE *BREVICORYNE BRASSICAE* L. “PULGÓN CENICIENTO” CON ALELOQUÍMICOS EN *BRASSICA OLERACEA* VAR. *CAPITATA* L. “REPOLLO”**

AUTOR(ES): I. M. Basso; Pablo Catalano; Pablo Sceglia; R. Kuzmanich.

DIRECTOR/ES: M. Ricci; S. Padín; A. Kahan.

DIRECCIÓN ELECTRÓNICA: catalano-pablo@hotmail.com

PALABRAS CLAVES: mortalidad, *Brevicoryne brassicae* L. , cineol, laurel, repollo

INTRODUCCIÓN

Las plantas cultivadas han sido siempre, y seguirán siendo, de vital importancia para la humanidad. Ellas constituyen una fuente esencial de alimentos, fibras, energía y sustancias químicas bioactivas. En la actualidad la agricultura es confrontada con un amplio rango de cambios complejos, dentro del marco de la producción sustentable con bajo impacto ambiental (Kern, 2002).

En los últimos 30 años se ha intensificado el desarrollo de insecticidas botánicos y antialimentarios a partir de la utilización de productos naturales, con el fin de disminuir el impacto que produjeron los insecticidas de síntesis en el origen de resistencia en insectos plaga y sobre la mortalidad de los organismos benéficos en los distintos ecosistemas (Akhtar & Isman, 2004).

Las plantas producen metabolitos secundarios algunos de los cuales son volátiles y juegan un papel importante en la interacción con los insectos tanto de atracción como de repulsión (Teranishi et al., 1993). Estos aleloquímicos pueden presentar más de un mecanismo de acción sobre los insectos, por tal motivo, son promisorios para el desarrollo de insecticidas botánicos, ya que pueden actuar como tóxicos, inhibidores del crecimiento, de la reproducción o de la oviposición, como antialimentarios y/o como repelentes, reducción del desenvolvimiento larval, fecundidad y fertilidad de los adultos (Akhtar & Isman, 2003; Padín et al 2007).

Los aceites esenciales de las plantas pueden constituir una fuente rica de sustancias químicas bioactivas. Son comúnmente utilizadas en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, licorera, entre otros y pueden tener un gran potencial como fitoterápicos dado que poseen un escaso efecto sobre los organismos benéficos (Isman, 2000; Jones et al., 2003). El aceite esencial obtenido del laurel (*Laurus nobilis* L.) tiene efecto repelente y actividad biológica sobre cucarachas (*Periplaneta americana* L.) (Machado et al., 1995) y sobre los áfidos *M. persicae* Sulz., *Brevicoryne brassicae* L. y *Cavariella aegopodii* Scop. (Padín et al., 2002; Kahan et al., 2004). El cineol, uno de los principales componentes de la esencia de laurel, es un monoterpeno cíclico considerado un aleloquímico puro. Es además un componente con probada actividad repelente y tóxica sobre algunos áfidos como *M. persicae* y *B. brassicae* (Ricci et al., 2002; Padín et al., 2007).

Los áfidos constituyen una de las plagas que afectan a los cultivos más importantes del mundo. Existen tres razones por las cuales causan pérdidas económicas de gran magnitud. Primero, por su reproducción clonal con generaciones telescopadas, que les permite producir en corto tiempo niveles poblacionales que ocasionan un alto impacto económico. Segundo, son vectores de virus que provocan severos daños a los cultivos. Tercero, han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia (detoxificación) por el uso

intensivo de insecticidas y de variedades mejoradas con genes de resistencia (Figeroa et al., 2007)

Los áfidos constituyen una causa permanente de perjuicio económico para los agricultores. Estos pequeños insectos son considerados plaga debido a características distintivas de su biología y a la capacidad que poseen para localizar y explotar las plantas huéspedes (Powell et al., 2006). El desarrollo de la partenogénesis les confiere una clara ventaja reproductiva por duplicar la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m), cuando se los compara con individuos que poseen reproducción sexual (Dixon, 1998). Las poblaciones de verano, que son partenogenéticas y vivíparas, pueden duplicarse en tres (3) días. Este incremento poblacional está sujeto al efecto de factores bióticos y abióticos que pueden modificarlo sustancialmente (Karley et al., 2004). Cuando las condiciones son favorables, baja densidad de áfidos y alta calidad de la planta huésped, predominan las formas ápteras maximizando la capacidad reproductiva. Una vez que la colonia aumenta, la calidad nutricional de la planta declina, estimulando la producción de formas aladas que colonizan y explotan nuevos hospederos (Mueller et al., 2001). Muchos áfidos están altamente especializados en la selección de sus plantas huéspedes, utilizando una o pocas especies de plantas relacionadas botánicamente (especialistas), mientras que otros poseen la habilidad de colonizar distintas especies de plantas no emparentadas botánicamente (generalistas) (Ward et al., 1998).

El pulgón de las crucíferas, *B. brassicae*, es un áfido cosmopolita distribuido ampliamente en todas las regiones templadas y cálidas del mundo. Se caracteriza por ser especialista de la familia Brassicaceas (Cividanes, 2002; Pereira y Lomônaco, 2001) y es considerado uno de los más perjudiciales y de presencia permanente en cultivos de Brassica (Theunissen, 1989).

B. brassicae causa daños directos por su actividad alimentaria a través de la cual produce deformaciones, y daños indirectos debidos a la transmisión de virus. El pulgón de las crucíferas es vector de 20 virus en un amplio rango de plantas (Satar et al., 2005). Esta plaga es generalmente controlada con insecticidas de síntesis. La utilización extensiva de los mismos provoca daños ambientales que son indeseables. Esto originó en los últimos años, el desarrollo de sistemas de producción sustentables, con un menor uso de pesticidas, dentro de este contexto los cultivos que demuestran poseer algún mecanismo de resistencia genética, constituyen un importante componente en sistemas de manejo integrado de plagas. (Pink, et al., 2003).

El Objetivo del presente trabajo fue evaluar el aceite esencial de *L. nobilis* y del cineol como aleloquímico puro sobre *B. brassicae* sobre plantas de repollo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Para la obtención del extracto vegetal se utilizaron hojas de laurel, provenientes de plantas cultivadas en el campo didáctico de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad nacional de La Plata, Argentina.

Crianza y selección de insectos: Las poblaciones iniciales de *B. brassicae* fueron recolectadas en cultivos de repollos existentes en la zona hortícola del Partido de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. La crianza de áfidos se realizó sobre plantines de repollo, en vidriera experimental a 25 ± 5 ° C de temperatura y $70 \pm 5\%$ de humedad relativa.

Obtención de los extractos vegetales: Los aceites esenciales de laurel y cineol fueron extraídos de hojas de *L. nobilis* sometidas a destilación por arrastre con vapor de agua, recogiendo la esencia en trampas tipo clewenger (GÜENTHER, 1948). La identificación de los principales componentes de las esencias se realizó por cromatografía en fase gaseosa con inyector capilar (1: 100), dos columnas de 60 m x 0.25 mm de diámetro y 0.25 micrones de espesor de capa fina una de metil silicona y otra de Carbowax 20 M) y detectores de ionización de llama (FID). La cuantificación se realizó según el porcentaje de áreas e identificación de los picos por comparación con testigos (BANDONI, *et al.*, 1993)

Técnica de aplicación: Los tratamientos se realizaron por dos técnicas de aplicación: por pulverización directa y con papeles impregnados. En técnica de pulverización directa se utilizó un micropulverizador accionado por bomba de vacío "Cience 2091", con motor "Degat" MA 33/4 N° 2547 de 1/3 H.P. V 220 A3 a 1450 rpm. En el caso de papel impregnado las formulaciones se aplicaron con micropipeta sobre un papel de filtro a razón de 60 ml por envase. Las concentraciones ensayadas fueron: 10×10^{-3} , 15×10^{-3} , 20×10^{-3} y 30×10^{-3} $\mu\text{l/ml}$ de aire para la esencia de laurel, mientras que para cineol las concentraciones fueron 5×10^{-3} , 15×10^{-3} y 25×10^{-3} $\mu\text{l/ml}$ de aire.

Se colocaron con pincel en la zona del cuello 10 pulgones adultos, en cada plántula al estado de 3 hojas verdaderas. Las concentraciones de cineol utilizadas fueron 0.5, 1.5 y 2.5%, mientras que para laurel las concentraciones fueron de 1, 1.5, 2 y 3%, ambas en solución acuosa utilizando 2% de oleato de polietilenglicol como emulsionante. Se realizaron 10 repeticiones para cada tratamiento y cada concentración con sus respectivos testigos.

A las 24 horas del tratamiento se evaluó el porcentaje de mortalidad.

Análisis estadístico: Para el análisis estadístico se utilizó un ANOVA de dos vías y Test de Tukey ($\alpha = 0.05$)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio estadístico de los porcentajes de mortalidad obtenidos cuando se utilizó *L. nobilis*, demostró que para *B. brassicae* no existen diferencias respecto a las técnicas de aplicación, en cambio, para las concentraciones de esencias empleadas arrojó diferencias significativas como se observa en la fig. 1 y fig. 2. Para las diferentes soluciones utilizadas, se hallaron diferencias significativas tanto para los productos evaluados (laurel y cineol; F: 24,31; p: 0,0000) como para las concentraciones ensayadas (F:170,83; p: 0,0000). La máxima mortalidad (52%) se obtuvo con un 3% de laurel, mientras que con la utilización del cineol la máxima mortalidad (27,5%) se produjo con un 2,5 % de la sustancia activa.

Se resalta que el efecto tóxico es aditivo al efecto repelente que ya fue probado por Ricci et al., 2002; y si bien el cineol es el responsable de efecto repelente, el efecto tóxico puede atribuirse a otro componente del aceite esencial de laurel (Tabla 1)

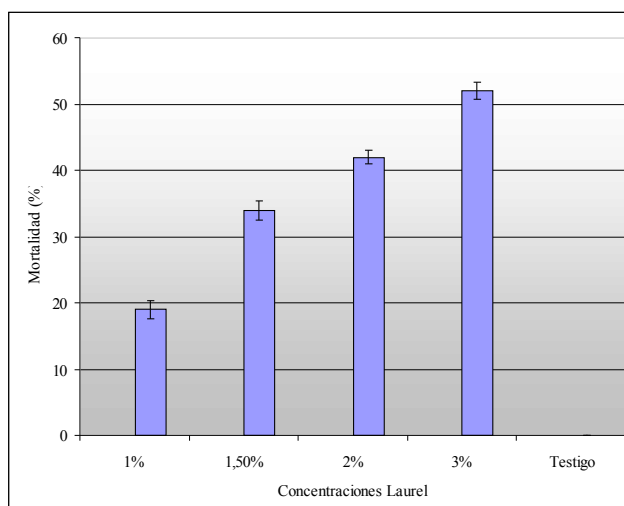


Figura 1. Porcentajes de mortalidad logrados con las distintas concentraciones de laurel (*L. nobilis*).

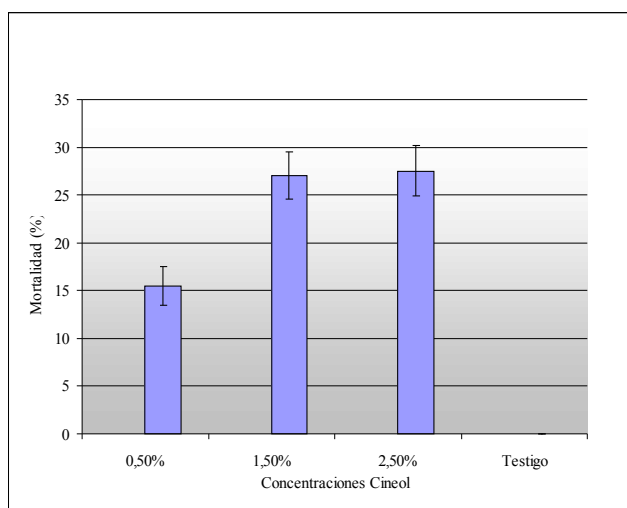


Figura 2. Porcentajes de mortalidad logrados con las distintas concentraciones de cineol (aleloquímico puro).

| Compuesto | Porcentaje |
|------------------|------------|
| alfa tuyeno | 0,3 |
| alfa pineno | 2,1 |
| canfeno | 0,1 |
| sabineno | 4,2 |
| mirceno | 0,3 |
| Beta pineno | 2,0 |
| limoneno | 0,9 |
| 1,8 cineol | 29,3 |
| linalol | 31,3 |
| Beta cariofileno | 1,0 |

Tabla 1. – Componentes de los aceites esenciales de *L. nobilis*

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que los aceites esenciales podrían ser una herramienta para el Manejo Integrado de Plagas en el control de áfidos en cultivos hortícolas, disminuyendo el impacto ambiental de los insecticidas de síntesis.

BIBLIOGRAFÍA

- Akhtar, Y. & M. B. Isman. 2003. Decreased response to feeding deterrents following prolonged exposure in the larvae of a generalist herbivore, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behaviour*. 16(6): 811-831.
- Akhtar, Y. & M. B. Isman. 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of Applied Entomology*. 128: 32-38.
- Bandoni A. Ed. 2000. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Editorial Universidad Nacional de La Plata. 410 pp.
- Cividanes, F. J. 2002. Tabelas de vida de fertilidade de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em condições de campo. *Neotropical Entomology*. 31(3): 419-427.
- Dixon, A.F.G. 1998. *Aphid Ecology: An optimization approach*. London. Chapman & Hall (Eds). 300 pp. 2nd ed.
- Figuroa, C. C.; N. Prunier-Leterme, C. Rispe, F. Sepúlveda, E. Fuentes Contreras, B. Sabater Munoz, J. C. Simon and D. Tagu. 2007. Annotated expressed sequence tags and xenobiotic detoxification in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *The Authors Insect Science*. 14: 29-45.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oil for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.

- Jones, G.; C. A. M. Campbell; J. Hardie; J. A. Pickett; B. J. Pye & L. J. Wadhams. 2003. Integrated management of Two-spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* on hop using Hop β -acid as an antifeedant together with the predatory mite *Phytoseiulus permisilis*. *Biocontrol Science and Technology*. 13: 241-252.
- Kahan, A. E.; M. Ricci; S. Padín & E. Cerimele. 2004. Respuesta comparativa del efecto repelente de la esencia de *Laurus nobilis* L. sobre *Myzus persicae* Sulz. y *Cavariella aegopodii* Scop. (Hemiptera: Aphididae). *Agro-Ciencia*. 20(2): 113-117.
- Karley, A. J., W. E. Parker, J. W. Pitchford & A. E. Douglas. 2004. The mid-season crash in aphid populations: why and how does it occur?. *Ecological Entomology*. 29: 383-388.
- Kern, M. 2002. Food, feed, fibre, fuel and industrial products of the future: challenges and opportunities. Understanding the strategic potential of plant genetic engineering. *J. Agronomy & Crop Science*. 188: 291-305.
- Machado, V. L. L.; M. S. Palma & O. M. Da Costa. 1995. Ação repelente das frações de óleos essenciais da folha de louro (*Laurus nobilis* L) em ninfas e adultos de *Periplaneta americana* L. (Blattaria: Blattidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 24: 13-20.
- Mueller, C. B., I. S. Williams & J. Hardie. 2001. The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecology Entomology*. 26: 330-340.
- Padín 2007 agregar
- Padín, S. B.; E. M. Ricci; A. E. Kahan; S. Ré. & C. Henning. 2002. Comportamiento repelente del aceite esencial de *Laurus nobilis* L. sobre *Brevicoryne brassicae* L. y *Myzus persicae* Sulz. (Homoptera: Aphididae) en repollo. *Ceiba*. 43(2): 23-27.
- Pereira, C. D. y C. Lomônaco. 2001. Plasticidade fisiológica e comportamental de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em duas variedades de *Brassica oleracea* L. *Neotropical Entomology*. 30(1): 29-35.
- Pink, D. A. C., N. B. Kilt, P. R. Ellis, S. J. McClement, J. Lynn & G. M. Tatchell. 2003. Genetic control of resistance to the aphid *Brevicoryne brassicae* in the wild species *Brassica fruticulosa*. *Plant breeding*. 122: 24-29.
- Powell, G., C. R. Tosh & J. Hardie. 2006. Host plant selection by aphids: Behavioral, Evolutionary, and applied. *Annual Review of Entomology* 51: 309-330.
- Real Farmacopea Española. 1997. 1ª. ED. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid 1944 p.
- Ricci, M.; A. Kahan; S. Padín, C. Henning; P. Sceglío y P. Catalano. 2002. Utilización de metabolitos secundarios como repelentes de *Myzus persicae* Sulz. y *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae) en cultivo de repollo. *Proceeding XXIV Congreso Nacional de Entomología*. Santiago, Chile 12 al 14 de noviembre de 2002. pp 52.
- Satar, S., U. Kersting & M. Ulusoy. 2005. Temperature dependent life history traits of *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hom., Aphididae) on white cabbage. *Turk. J. Agric. For.* 29: 341-346.
- Teranishi, R.; Buttery, R & Sugisawa Hiroshi. 1993. Bioactive Volatile Compounds from Plants. *ACS Symposium Series* 525. ix.

- Theunissen, N. 1989. Integrated control of aphids on field-grown vegetables. In: Aphids, their biology, natural enemies and control. Vol C. (Eds.: A. K. Minks & P. Harrewijn), pp 285-289.
- Ward, S. A., S. R. Leather, J. Pickup & R. Harrington. 1998. Mortality during dispersal and the cost of host-specificity in parasites: How many aphids find host?. *Journal of Animal ecology*. 67: 763-777.