

## Evaluación en laboratorio de un aceite mineral y extractos crudos vegetales en huevos y adultos de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae, gusano del manzano)

FERRERO, ADRIANA; CARIAC, MARIANA; GUTIERREZ, MERCEDES; LAUMANN, RAÚL Y CERVellini, PATRICIA

En este trabajo se evaluó la efectividad de un aceite mineral (Dapsa-Dru) y extractos crudos de semillas de algodón (*Gossypium hirsutum*, Fam. Malvaceae) y de soja (*Glycine max*, Fam. Leguminosae) en los distintos estadios del desarrollo embrionario y en adultos de ambos sexos de *C. pomonella* L. Por otra parte, se evaluó el efecto toxicológico de dichos aceites en el primer estadio de huevo de *C. pomonella* L.

Considerando el comportamiento de cada aceite se observa que existen diferencias altamente significativas en el índice de mortalidad causado en al menos algún estadio (ANOVA; Dapsa:  $p=0,0002$  - algodón:  $p=1,93E-10$  - soja:  $p=0,0004$ ). El aceite mineral Dapsa resultó ser más efectivo en anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,01$ ). Al igual que con Dapsa, el extrato de soja mostró mayor efectividad en anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,01$ ). En cambio, el extracto de algodón mostró el siguiente orden de efectividad: cabeza negra > cabeza blanca > anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,05$ ). Considerando la efectividad del aceite mineral y los extractos vegetales en cada estadio, no se obtuvieron evidencias significativas de que existan diferencias en el índice de mortalidad en cabeza blanca ( $p=0,42$ ) y cabeza negra ( $p=0,57$ ). Sin embargo, para el estadio de anillo rojo, el orden de efectividad fue: soja > Dapsa > algodón (Bonferroni;  $p<0,05$ ). El orden de efectividad de los aceites evaluados teniendo en cuenta la  $DL_{50}$  fue: algodón = soja > Dapsa. Los aceites mostraron ser tóxicos para los adultos de ambos sexos. Cada uno de los productos ensayados mostraron diferencias significativas respecto con el promedio de vida de los controles (DUNNET;  $p<0,05$ ). Las hembras del grupo de control vivieron en promedio 14,97 días, mientras que en las hembras tratadas con Dapsa, soja y algodón fue de 13,03; 11,67 y 10,38 días respectivamente. Los machos del control vivieron en promedio 11,27 días, mientras que los tratados con Dapsa, soja y algodón fue de 9,95; 8,22 y 5,1 días respectivamente. En las hembras el extracto de algodón provocó una disminución significativamente mayor en la longevidad promedio que el Dapsa (TUKEY;  $p<0,01$ ). En los machos, el orden de efectividad fue algodón > soja > Dapsa (TUKEY;  $p<0,05$ ).

FERRERO, ADRIANA; CARIAC, MARIANA; GUTIERREZ, MERCEDES; LAUMANN, RAÚL Y CERVellini, PATRICIA: Laboratorio de Zoología de Invertebrados II - Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia - Universidad Nacional del Sur. San Juan 670. (8000) Bahía Blanca. República Argentina.

**Palabras claves:** *Cydia pomonella*, efectividad de aceite mineral y extractos vegetales.

### INTRODUCCIÓN

*Cydia pomonella* L. (gusano del manzano) es la plaga principal en cultivos de fru-

tales de pepita en todo el mundo (RIEDL *et al.*, 1995). En la República Argentina dicha especie está presente desde el comienzo de la fruticultura, encontrándose ampliamente

difundida en el Valle de Río Negro y Neuquén (CICHÓN, 1993) como así también en otras regiones de nuestro país (ESPUL *et al.*, 1966).

El uso de insecticidas botánicos y biopesticidas ha tomado gran importancia debido al conocimiento de los efectos perjudiciales de los insecticidas sintéticos. Estos pesticidas, además de ocasionar contaminación ambiental y daños consecuentes en la salud, son también tóxicos para organismos no destinatarios como depredadores y polinizadores (KUMAR & BHATT, 1999).

Los insecticidas sintéticos han sido utilizados como una táctica de manejo dominante para el control de *C. pomonella* L. (CROFT & RIEDL, 1991). Dado el incremento de resistencia a estos insecticidas y el impacto de los mismos en el ambiente; se reanudó el interés en métodos alternativos de control (GONZALEZ, 1993; PFEIFFER *et al.*, 1993; REED-LARSEN *et al.*, 1989; HASSAN, 1989; BOWER, 1980), entre ellos la utilización de aceites minerales y extractos vegetales (RIEDL *et al.*, 1995; RIDDICK & MILLS, 1995).

Los aceites son productos de uso corriente para el control de plagas siendo utilizados como diluyentes para insecticidas formulados en aplicaciones de bajo volumen (DOWNER *et al.*, 1993), como coadyuvantes de insecticidas (TREACY *et al.*, 1986) o como insecticidas propiamente dichos (WEEB *et al.*, 1994; BARBERÁ, 1976; NAZCA *et al.*, 1981; SELHIME, 1983; CREDLAND, 1992). En comparación con los insecticidas sintéticos, los aceites se destacan por su baja toxicidad para mamíferos, bajo costo y además no han sido reportados fenómenos de resistencia relacionados con estos productos (VARELA *et al.*, 1993; STADLER *et al.*, 1996).

Autores como PASCUAL-VILLALOBOS (1996) y KUMAR & BHATT (1999) refieren que las plantas más estudiadas para el control de insectos-plaga pertenecen a las familias Meliaceae, Leguminosae, Labiatae, Cruciferae, Rutaceae, Malvaceae, Annonaceae, Umbelliferae, Solanaceae, Lauraceae entre otras.

En este trabajo se evaluó la efectividad de un aceite mineral (Dapsa-Dru) y extractos

crudos de semillas de algodón (*Gossypium hirsutum*, Fam. Malvaceae) y de soja (*Glycine max*, Fam. Leguminosae) en los distintos estadios del desarrollo embrionario y en adultos de ambos sexos de *C. pomonella* L. Por otra parte, se evaluó el efecto toxicológico de dichos aceites en el primer estadio de huevo de *C. pomonella* L.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico

Los huevos y adultos utilizados en los bioensayos provienen de una colonia de laboratorio mantenida a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 60-70% HR y luz continua en la Cátedra de Zoología de Invertebrados II (Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS).

Los huevos fueron obtenidos de oviposiciones realizadas sobre papel parafinado en jaulas de cría. Para los bioensayos se utilizaron huevos de distintos estadios de desarrollo que fueron clasificados utilizando el método de los °DD (temperatura base  $10^\circ\text{C}$ ) y caracterizados morfológicamente en estadio de cabeza blanca, anillo rojo y cabeza negra de acuerdo a WYNIGER (1956). Para los bioensayos se utilizaron adultos de 24-48 hs. de edad.

### Bioensayos

Para evaluar la efectividad de los productos, grupos de 20 huevos de cada estadio se topicaron con 0,2 µl de aceite puro, utilizando como control huevos tratados con 0,2 µl de agua destilada. Para cada aceite se realizaron 3 réplicas. Luego de la topicación, los huevos se mantuvieron en cajas de Petri en cuyo fondo se colocaron algodones embebidos en agua para mantener la humedad durante el ensayo.

Para evaluar los efectos toxicológicos en huevos "cabeza blanca", se aplicó la misma técnica pero los aceites fueron suministrados en emulsiones seriadas utilizando como

agente coadyuvante Tween 80 (0,025% en agua destilada). En esta oportunidad se topicaron entre 140 a 180 huevos con cada aceite y se utilizaron como controles huevos tratados con 0,2 µl de la solución de Tween.

Los bioensayos se dieron por terminado cuando las larvas en los controles eclosionaron. La lectura de resultados se realizó calculando el porcentaje de huevos que no desarrollaron (porcentaje de mortalidad).

Para evaluar la efectividad en los adultos, 15 individuos de cada sexo fueron anestesiados con CO<sub>2</sub> (0,1 Kg/cm<sup>2</sup> de presión y flujo de 20,5 l/h) durante 5 minutos para facilitar la aplicación tópica del extracto en la parte ventral del abdomen. Cada insecto recibió 0,1 µl de aceite puro, utilizando como control adultos sin tratar. Luego de aplicados los aceites, los insectos fueron transferidos a recipientes plásticos de 188 cm<sup>3</sup> (mantenidos en condiciones de cría y alimentados con una solución de sacarosa provista con una mecha de algodón), registrándose la mortalidad diariamente hasta que todos los insectos murieron. Se realizaron 4 réplicas para cada aceite en ambos sexos.

### Tratamiento de los datos

EFFECTIVIDAD EN LOS DISTINTOS ESTADIOS DE HUEVO. Los datos de porcentaje de mortalidad obtenidos fueron corregidos mediante la fórmula de ABBOT (1925) y transformados como  $\arcsen \sqrt{x/100}$  (índice de mortali-

dad= $\arcsen \sqrt{\text{porcentaje de mortalidad}/100}$ ). Los datos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) y para las comparaciones de medias se utilizó el test de Bonferroni (Zar, 1999).

TOXICIDAD EN HUEVOS "CABEZA BLANCA" (DETERMINACIÓN DE DL<sub>50</sub>). Los datos de dosis-mortalidad para cada bioensayo se analizaron mediante un programa estadístico que utiliza el método PROBIT, calculando las rectas de regresión para los distintos aceites y los valores de DL<sub>50</sub> (dosis letal para el 50% de la población). La comparación de las DL<sub>50</sub> entre los aceites se efectuó basándose en el criterio de superposición de los intervalos de confianza del 90% para este parámetro. Para testear la hipótesis de similitud de las rectas de regresión calculadas e igualdad de las pendientes de las mismas se utilizaron pruebas  $\chi^2$  (Zar, 1999).

EFFECTIVIDAD EN ADULTOS. La evaluación de efectividad de los distintos aceites en adultos se realizó por comparación de la longevidad promedio mediante análisis de la varianza (ANOVA), diseño anidado. Para las comparaciones de medias se utilizaron los tests de Dunnet y Tukey (Zar, 1999).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla I se presentan los resultados obtenidos de efectividad en los bioensayos de tópico con aceites en los distintos estadios de huevo de *Cydia pomonella* L.

Tabla I.—Porcentaje de mortalidad en huevos de distintos estadios de desarrollo de *Cydia pomonella* L. por tratamiento tópico con un aceite mineral y extractos vegetales

Tipo de aceite	Edad °DD	Estadio del desarrollo	Porcentaje de mortalidad (+/-ES)
Dapsa	15 °DD	CB	72,7 (0,57)
	60 °DD	AR	80 (0)
	75 °DD	CN	72 (1,73)
Algodón	15 °DD	CB	73 (0)
	60 °DD	AR	66,3 (1,15)
	75 °DD	CN	74,7 (0,57)
Soja	15 °DD	CB	73 (0)
	60 °DD	AR	98,3 (2,88)
	75 °DD	CN	73,6 (2,64)

Referencias: °DD= grados día - CB= cabeza blanca - AR= anillo rojo - CN= cabeza negra  
ES= error estandar de la media.

Considerando el comportamiento de cada aceite (Figura 1), se observa que existen diferencias altamente significativas en el índice de mortalidad causado en al menos algún estadio (ANOVA; Dapsa:  $p=0,0002$  - algodón:  $p=1,93E-10$  - soja:  $p=0,0004$ ). El aceite mineral Dapsa resultó ser más efectivo en anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,01$ ). RIEDL *et al.* (1995), evaluando aceites minerales de similares características fisicoquímicas al Dapsa-Dru observaron que no existen diferencias significativas en la susceptibilidad en los distintos estadios de huevo. Al igual que con Dapsa, el extrato de soja mostró mayor efectividad en anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,01$ ). En cambio, el extracto

de algodón mostró el siguiente orden de efectividad: cabeza negra > cabeza blanca > anillo rojo (Bonferroni;  $p<0,05$ ).

Considerando la efectividad del aceite mineral y los extractos vegetales en cada estadio (Figura 2), no se obtuvieron evidencias significativas de que existan diferencias en el índice de mortalidad en cabeza blanca ( $p=0,42$ ) y cabeza negra ( $p=0,57$ ). Sin embargo, para el estadio de anillo rojo, el orden de efectividad fue: soja > Dapsa > algodón (Bonferroni;  $p<0,05$ ).

En la tabla II se presentan los resultados obtenidos en los bioensayos con huevos "cabeza blanca".

Tabla II.—Parámetros calculados a través de las líneas de regresión dosis-mortalidad obtenidas para los aceites ensayados en huevos "cabeza blanca" de *Cydia pomonella*

Aceite	ND	NHD	DL <sub>50</sub> ug/h (IC 90 %)	a ES	b ES	X <sup>2</sup>
Dapsa-Dru	4	180	<b>10,29</b> (5,74-35,06)	-0,65 0,056	0,64 0,15	0,73
Algodón	4	140	<b>1,7</b> (0,99-3,58)	-0,43 0,064	1,86 0,18	1,51
Soja	4	160	<b>1,6</b> (1,37-1,9)	0,25 0,06	1,23 0,15	1,58

Referencias: ND= número de dosis ensayadas - NHD= número total de huevos en cada dosis - DL<sub>50</sub>= dosis letal 50 - ug/H= microgramos de aceite por huevo - IC= intervalo de confianza del 90% - a= ordenada al origen de la línea de regresión - b= pendiente de la línea de regresión - ES= error estándar - X<sup>2</sup>= valor de bondad de ajuste de los datos al modelo lineal.

Del análisis de los mismos se desprende que el orden de efectividad de los aceites evaluados teniendo en cuenta la DL<sub>50</sub> fue: algodón = soja > Dapsa. A diferencia de nuestros resultados, RIEDL *et al.* (1995) encontraron buena actividad ovicida para aceites minerales.

Las rectas de regresión calculadas para los aceites resultaron ser estadísticamente diferentes ( $\chi^2=87,53$ ;  $gl=4$ ;  $p<0,001$ ). Las pendientes de estas rectas también difieren significativamente ( $\chi^2=28,11$ ;  $gl=2$ ;  $p<0,001$ ). Esto indica una respuesta toxicológica distinta de los huevos "cabeza blanca" de *C. pomonella* frente a cada aceite.

Los aceites mostraron ser tóxicos para los adultos de ambos sexos (Figura 3). Cada uno de los productos ensayados mostraron dife-

rencias significativas respecto con el promedio de vida de los controles (DUNNET;  $p<0,05$ ). Las hembras del grupo de control vivieron en promedio 14,97 días, mientras que en las hembras tratadas con Dapsa, soja y algodón fue de 13,03; 11,67 y 10,38 días respectivamente. Los machos del control vivieron en promedio 11,27 días, mientras que los tratados con Dapsa, soja y algodón fue de 9,95; 8,22 y 5,1 días respectivamente.

La reducción porcentual de la longevidad promedio provocada por cada tratamiento se muestra en la tabla III.

En la búsqueda del aceite más efectivo, los resultados obtenidos indican que en las hembras el extracto de algodón provocó una disminución significativamente mayor en la longevidad promedio que el Dapsa (TU-

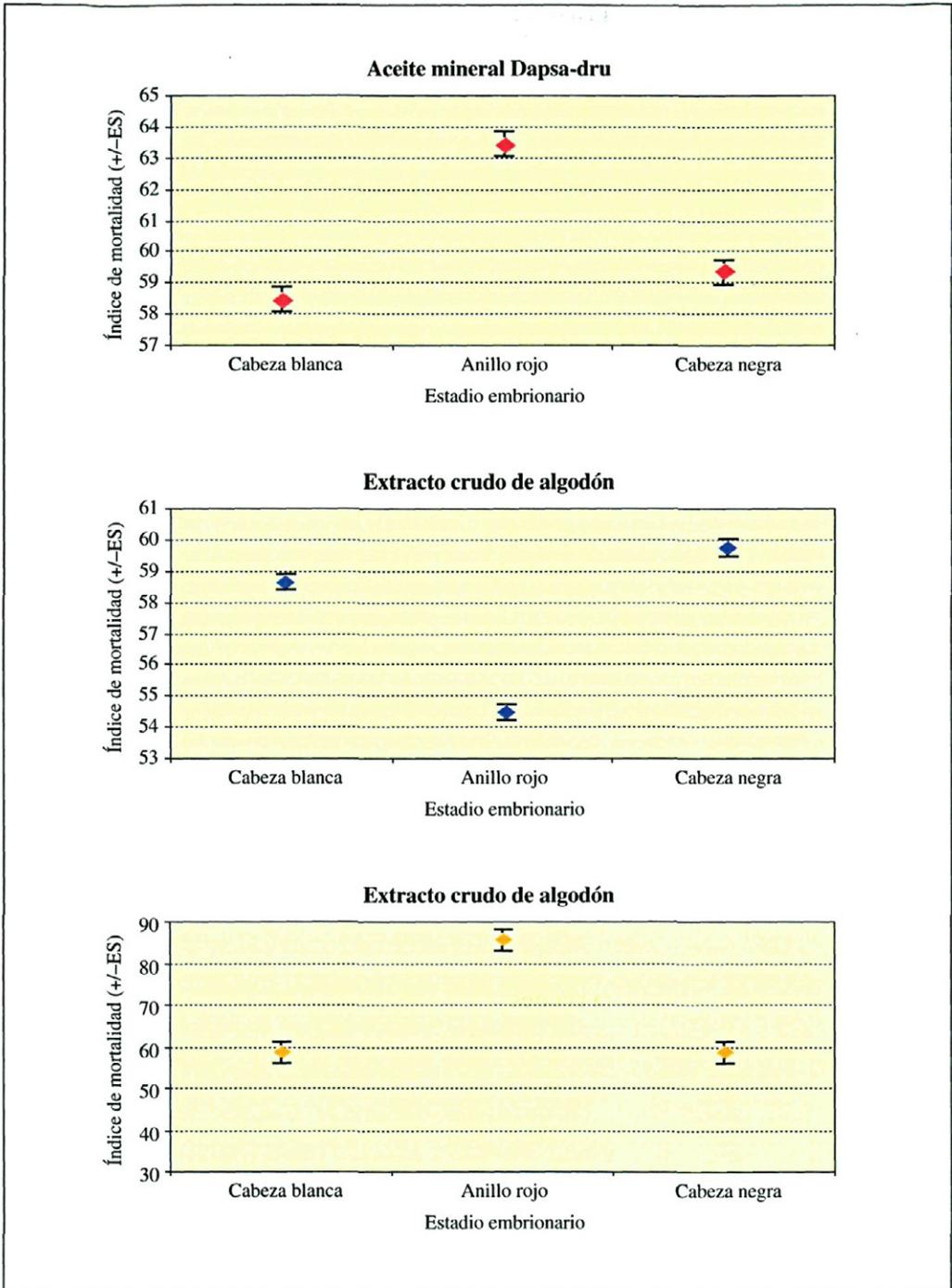


Figura 1.—Efectividad del aceite mineral Dapsa y los extractos crudos de Soja y Algodón en los distintos estadios del desarrollo embrionario de *Cydia pomonella* L.

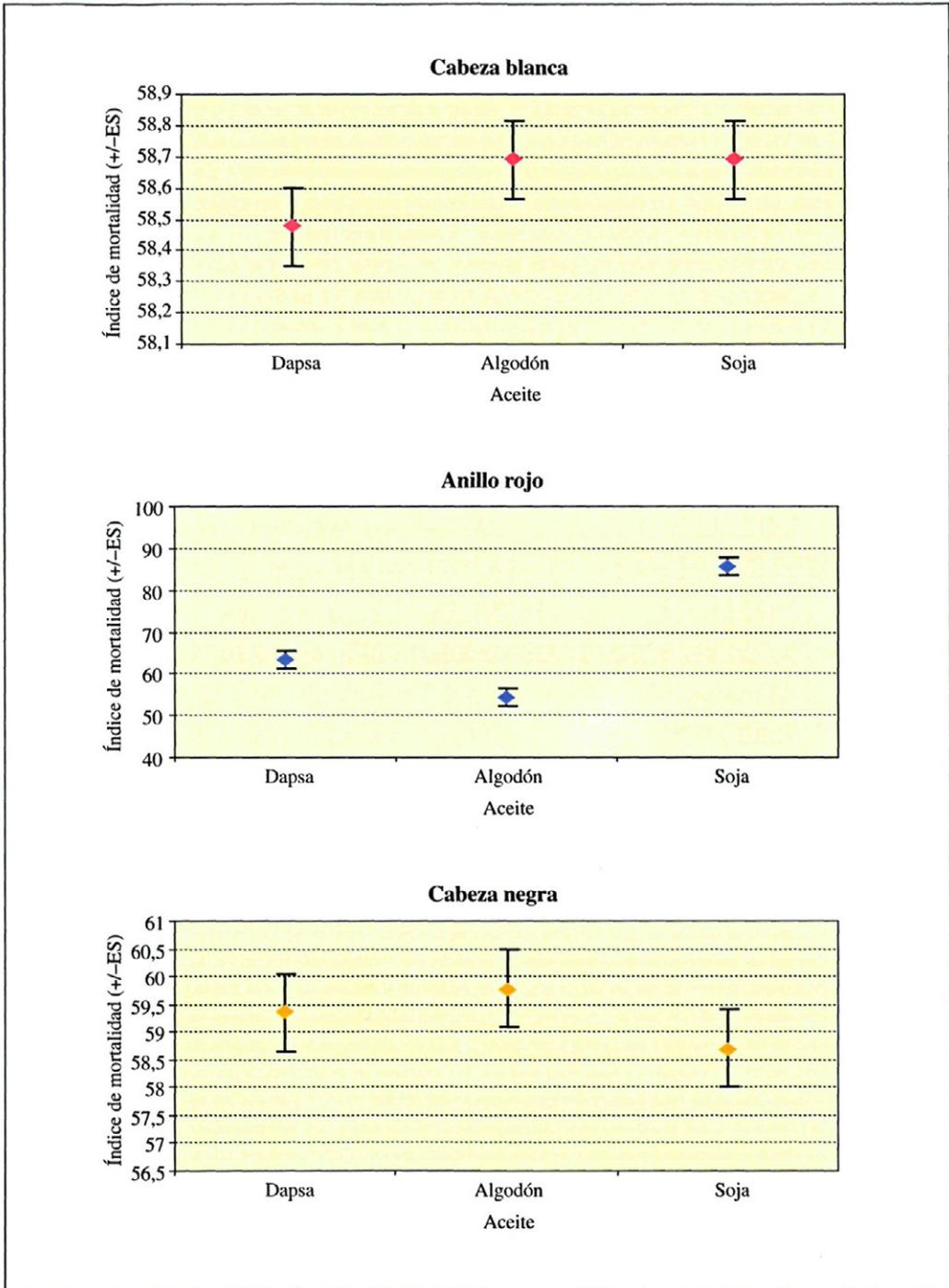


Figura 2.—Efectividad de los distintos aceites en cada uno de los estadios embrionarios de *Cydia pomonella* L.

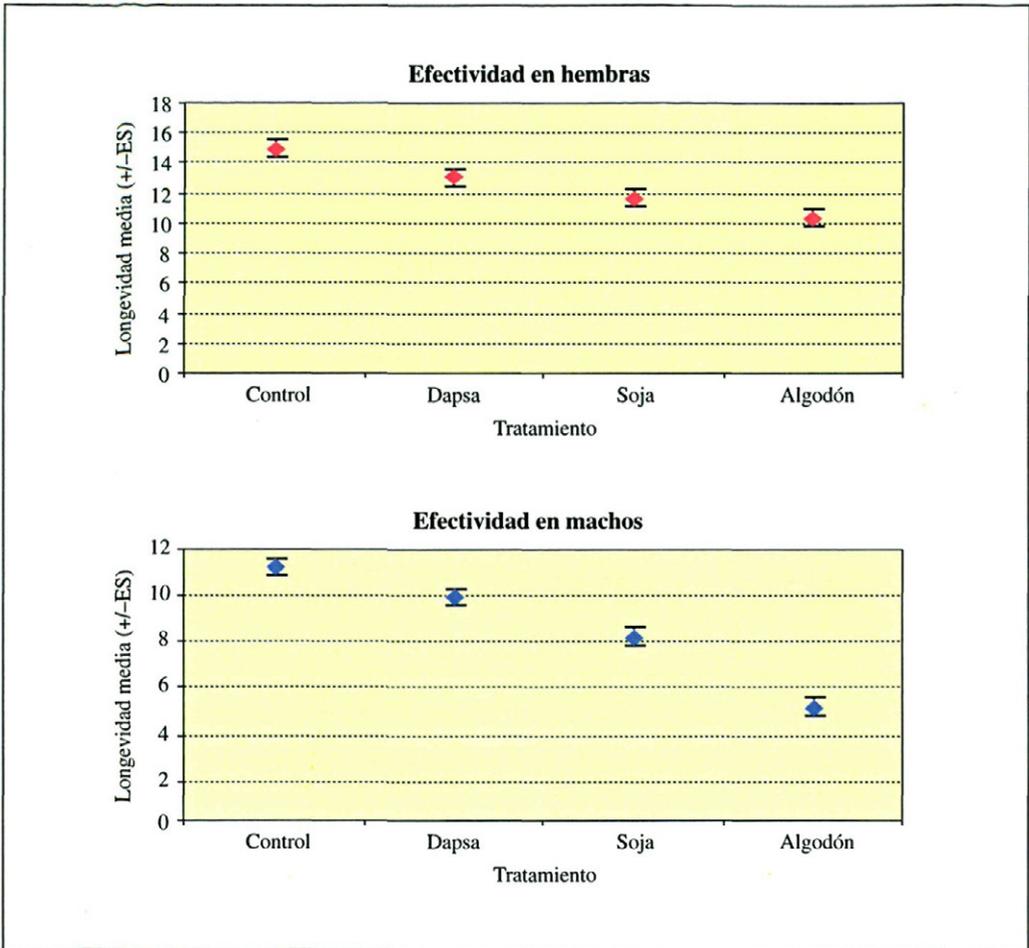


Figura 3.—Efectividad de un aceite mineral y extractos crudos vegetales en adultos de ambos sexos de *Cydia pomonella* L.

KEY;  $p < 0,01$ ). En los machos, el orden de efectividad fue algodón > soja > Dapsa (TUKEY;  $p < 0,05$ ).

Las diferencias encontradas en los valores de  $DL_{50}$  y en la respuesta frente a los distintos aceites podrían estar influenciadas por

Tabla III.—Reducción porcentual de la longevidad promedio en adultos respecto al control

Tratamiento	Reducción porcentual	
	Hembras	Machos
Algodón	30,65	54,75
Soja	22,05	27,15
Dapsa	12,94	11,71

características fisicoquímicas de los mismos, tales como densidad, viscosidad, volatibilidad en el caso de los hidrocarburos y por la presencia de diferentes compuestos con actividad biocida en el caso de los extractos naturales. Se ha demostrado que la viscosidad de los aceites minerales correlaciona significativamente con la toxicidad, no así el residuo sulfonable, la densidad o la temperatura de destilación (STADLER *et al.*, 1996). SMITH & PEARCE (1984) establecieron que el efecto ovicida de los aceites se produce fundamentalmente a través del descenso de la tasa respiratoria y depende no solo de la cantidad de

aceite que cubre el huevo sino también del tiempo en el cual éste se volatiliza desde la superficie. De acuerdo a los resultados obtenidos, sería indispensable estudiar con más detalle las variables fisicoquímicas, biológicas y composiciones químicas relacionadas con la toxicidad de los aceites evaluados, con la finalidad de obtener los conocimientos necesarios para efectuar un uso racional de esta herramienta alternativa para el control de insectos-plaga.

## REFERENCIAS

- ABBOT, W. S.; 1925: A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267.
- BARBERÁ, C.; 1976: Pesticidas Agrícolas. Ed. Omega. 3<sup>o</sup> Ed. Barcelona. 555pp.
- BOWER, C. C.; 1980: An evaluation of the potential of diflubenzuron for integrated pest control in apples. *Gen. Appl. Ent.* **12**: 41-48.
- CICHÓN, L. I.; 1993: Consideraciones en el control de carpocapsa en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Curso Internacional de Sanidad en frutales de pepita, cap. 4. 29 pp.
- CREDLAND, P. F.; 1992: The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *J. Stored Prod. Res.* **28** (1): 1-9.
- CROFT, B. A. & RIEDL, H. W.; 1991: Chemical control and resistance to pesticides of the codling moth. En: Helle, W.; van Deer Gest, L.P.S. & Evenhuis, H.H (eds.) *Tortricid pest, their biology, natural enemies and control.* **5**: 371-387. Elsevier, Amsterdam.
- DOWNER, R. A.; HALL, F. A.; ESCALLON, E. C. & CHAPPLE, A. C.; 1993: The effects of diluent oils on the electrostatic atomization of some insecticides (en Berger, P.D.; Diversetti, B. N. and Hall, F. R., *Pesticide formulations and application systems*; Amer. Soc. for Testing and Materials, Philadelphia, 13, pp. 203-215).
- ESPUL, J. C.; CUCCHI, N. J. A. & LA RED, F. C.; 1966: Bioecología y control del gusano de la pera y la manzana *Carpocapsa pomonella* L., en Mendoza. *Rev. Inv. Agropec. INTA, Serie 5, Vol III*, **9**: 105-141.
- GONZALEZ, R. H.; 1993: Uso de la feromona sexual para la detección y el control de la polilla de la manzana (Lepidoptera: Tortricidae). *Rev. Frutícola.* **14** (1): 5-13.
- HASSAN, S. A.; 1989: Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidae). *Entomophaga* **34** (1): 19-27.
- KUMAR, S. & R. I. BHATT; 1999: Field evaluation of plant extracts, oil and neem products against mango hopper (*Amritodus atkinsoni* Lethierry) and thrips (*Scirtothrips mangiferae* Hood). *Allelopathy Journal* **6** (2): 271-276.
- NAZCA, A. J.; TERAN, A. L.; FERNANDEZ, R. V. Y PASQUALINI, A. J.; 1981: Animales perjudiciales y benéficos a los cítricos en el noroeste argentino. Centro de Investigaciones sobre Regulaciones de Poblaciones de Organismos Nocivos (CIRPON). Argentina, 350 pp.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; 1996: Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación. Colección Monografías INIA, núm. 92. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación.
- PFEIFFER, D. G.; KAAKEH, W.; KILLIAN, J. C.; LACHANCE, M. W. & KIRSCH, P.; 1993: Mating disruption for control damage by codling moth in Virginia apple orchards. *Entomol. Exp. Appl.* **67**: 57-64.
- REED-LARSEN, D. A. & BROWN, J. J.; 1989: Embryonic castration of the codling moth, *Cydia pomonella* by an endoparasitoid, *Ascogaster quadridentata*. *J. Insect Physiol.* **36** (2): 111-118.
- RIDDICK, E. & MILLS, N.; 1995: Seasonal activity of carabids (Coleoptera: Carabidae) affected by microbial and oil insecticides in an apple orchard in California. *Environ. Entomol.* **24** (2): 361-366.
- RIEDL, H.; HALAJ, J.; KREOWSKI, W. B. & WESTIGARD, P.; 1995: Laboratory evaluation of mineral oils for control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Entomol.* **88** (1): 140-147.
- SELHIME, A. G.; 1983: Oils sprays control citrus rust mite. *Proc. Florida State Hort. Soc.* **96**: 21-23.
- SMITH, E. H. & PEARCE; 1948: The mode of action of petroleum oils as ovicides. *J. Econ. Entomol.* **41**: 173-180.
- STADLER, T.; SCHANG, M. M. Y ZERBA, E.; 1996: Caracterización fisicoquímica y toxicológica de algunos aceites minerales de uso fitosanitario. *RIA*, **27** (1): 67-80.
- TREACY, M. F.; BENEDICT, J. H.; SCHMIDT, K. M.; 1986: Toxicity of insecticide residues to the boll weevil: comparison of ultra-low volume oils vs. conventional-water and water-oils sprays. *Southest Entomol.* **11**: 19-24.
- VARELA, L. G.; WELTER, V. P.; JONES, V. P.; BRUNNER, J. F. & RIEDL, H.; 1993: Monitoring and characterization of insecticide resistance in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in four western states. *J. Econ. Entomol.* **51**: 288-291.
- WEBB, R. E.; MCLANE, W. H.; FINNEY, J. A.; VENABLES, L.; WHITE, G. B.; WIEBER, A. M. & COHEN, D. L.; 1994: Destruction of gypsy moth egg masses (using surfactants, detergents, oils or conventional insecticides) for quarantine and community action programs. *J. Entomol. Sci.* **29** (3): 305-317.
- WYNIGER, R.; 1956: On the effect of abiotic factors in the development of the egg of the codling moth. *Mitt. Schwiz. Entomol. Ges.* **29**: 41-57.
- ZAR, J. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. 660 pp.

(Recepción: 6 marzo 2001)  
(Aceptación: 9 mayo 2001)