

Efecto de dos extractos acuosos de meliáceas sobre *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) en condiciones de laboratorio

Effect of two aqueous extracts of meliaceae on *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) under laboratory conditions

Rosa Liliana Encina Romero¹, María Bernarda Ramírez de López^{2*} y César Darío Pino Quintana²

¹ Ing. Agr. Egresada de la Orientación Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Asunción (UNA). San Lorenzo, Paraguay.

² Ing. Agr., M.Sc. Docente Investigadora del Departamento de Protección Vegetal de la FCA, UNA. San Lorenzo, Paraguay.

*Autor para correspondencia (mramirez@agr.una.py).

Recibido: 04/11/2011; Aceptado: 12/12/2011.

RESUMEN

El trabajo consistió en evaluar el efecto de dos extractos acuosos de Meliáceas, *Azadirachta indica* A. Juss y *Melia azedarach* L., sobre ácaros pertenecientes al género *Tetranychus* spp. El experimento se realizó en el Departamento de Protección Vegetal, División de Entomología, de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, bajo condiciones controladas de temperatura 25 ± 5 °C, humedad $70 \pm 5\%$ y 12 hs luz. Los ácaros criados en macetas con plantas de poroto (*Vigna unguiculata*), fueron transferidos a placas de Petri, las cuales contenían discos de hojas de 3 cm de diámetro previamente sumergidas en los diferentes extractos de Meliáceas, con dosis de 1; 5 y 10 g en 100 mL de agua destilada y un testigo absoluto. La variable medida fue la mortalidad de los ácaros. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48, 72 y 96 hs después de la aplicación de los extractos. Los extractos de *A. indica* y *M. azedarach* presentaron efecto acaricida sobre *Tetranychus* spp. La dosis más alta de *A. indica* y *M. azedarach* fueron las más eficaces en el control de *Tetranychus* spp. La *A. indica* y la *M. azedarach* demostraron mejor eficacia sobre *Tetranychus* spp a las 96 horas.

Palabras clave: *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, ácaros.

ABSTRACT

This study was to evaluate the effect of two aqueous extracts of the Meliaceae *Azadirachta indica* A. Juss and *Melia azedarach* L. on mites of the genus *Tetranychus* spp. The experiment was conducted at the Department of Plant Protection, Division of Entomology, de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, under controlled conditions of temperature 25 ± 5 °C, humidity $70 \pm 5\%$ and 12 hours light . Mites reared on bean pots (*Vigna unguiculata*), were transferred to Petri dishes, which contained leaf discs 3 cm in diameter previously dipped in the different extracts of Meliaceae whith doses of 1, 5 and 10 g in 100 mL of distilled water and an absolute control. The measured variable was the mortality of mites. Evaluations were performed at 24, 48, 72 and 96 hours after application of the extracts. Extracts of *A. indica* and *M. azedarach* showed acaricidal effect on *Tetranychus* spp. The highest dose of *A. indica* and *M. azedarach* were most effective in the control of *Tetranychus* spp. The *A. indica* and *M. azedarach* showed better efficacy on *Tetranychus* spp at 96 hours.

Key words: *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, mites.

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de plaguicidas durante las últimas décadas, ha ocasionado problemas de resistencia en ácaros, como *Tetranychus urticae* Koch. Éste es uno de los miembros de la familia Tetranychidae, se caracteriza por atacar a más de 180 especies de plantas y es una de las especies que mayor daño ocasiona a los cultivos de importancia agrícola.

Por otro lado existen varias especies vegetales, mundialmente conocidas por su actividad plaguicida. Varios trabajos realizados con la *Azadirachta indica* A. Juss comúnmente conocida como Neem, han demostrado su actividad acaricida. Otra de las especies vegetales que ha sido centro de investigaciones, por su actividad contra *Tetranychus* spp., es la *Melia azedarach* L. comúnmente conocida como Paraíso.

El control de los ácaros se ha limitado a la utilización de acaricidas de síntesis química de alta residualidad y permanencia que se constituyen en barrera para la comercialización de productos agrícolas y su uso desmedido ha causado serios problemas como toxicidad a otros organismos, resistencia, resurgencia de plagas, aparición de plagas secundarias por eliminación de sus enemigos naturales, etc. Estas consecuentes dificultades han creado un interés mundial en el desarrollo de estrategias alternativas, incluyendo la búsqueda de nuevos tipos de insecticidas como son los plaguicidas botánicos.

Dentro de un manejo integrado de plagas se pueden recurrir al uso de extractos botánicos con propiedades acaricidas y/o repelentes, ya que tienen un corto efecto residual y pueden poseer compatibilidad con el control biológico. Además estos extractos tienen una degradación rápida y casi nula residualidad en la planta, suelo, aire y agua lo que ha generado interés de realizar investigaciones en estas áreas.

Los extractos naturales de meliáceas presentan control sobre los ácaros pertenecientes al género *Tetranychus* spp., en este sentido, se considera la importancia del conocimiento del efecto de los extractos sobre estos arácnidos. La misma sería de ayuda para trabajos investigativos posteriores sobre el control alternativo en ácaros. En base a lo expuesto, y atendiendo a esta necesidad, el objetivo general del presente trabajo fue evaluar el efecto de los extractos acuosos de *A. indica* y *M. azedarach* sobre *Tetranychus* spp.

METODOLOGÍA

El experimento fue realizado en el laboratorio del Departamento de Protección Vegetal, División Entomolo-

-gía de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción, ubicada en el Departamento Central, ciudad de San Lorenzo, Paraguay. El periodo experimental comprendió los meses de abril a octubre del 2011.

Para la investigación se utilizaron ácaros del género *Tetranychus* spp., hojas de poroto (*Vigna unguiculata*) variedad Pyta'í, hojas de Paraíso (*Melia azedarach* L.) y Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) respectivamente.

Para la cría de ácaros, fueron sembradas 3 semillas de poroto por cada maceta de bolsa (PVC de 40 micrones). El sustrato utilizado fue arena gorda + hojarascas, en proporción 1:1, previamente esterilizados con tratamiento físico de agua caliente.

Los adultos del ácaro *Tetranychus* spp. fueron colectados de hojas de *Ipomea* spp. (Ysypo'í), del Departamento de Horticultura, de la FCA/UNA. Fueron colocados en placas plásticas, para luego ser trasladados al laboratorio de Entomología. La identificación del género se realizó con estereoscopio, con ayuda de llaves de identificación establecida por Flechtmann (1977). Posteriormente con un pincel de cerda fina, fueron transferidas 10 hembras de ácaros, en cada hoja de los plantines de poroto (de 10 días de emergencia), donde fueron criadas durante 7 generaciones en condiciones controladas de temperatura 25 ± 5 °C, humedad de $70 \pm 5\%$, y con 12 horas de luz.

Las hojas de Neem y Paraíso fueron obtenidas de árboles del campus de la Universidad Nacional de Asunción, ubicada en la ciudad de San Lorenzo. Se recolectaron las hojas de Neem y Paraíso, excluyendo las ramas mediante la utilización de un pico de loro (implemento utilizado para la poda de árboles y arbustos de gran porte). Las muestras fueron colocadas en bolsas de polietileno, en las que fueron almacenadas para su transporte hasta el laboratorio.

Las hojas recolectadas fueron secadas en una estufa regulada a 60 °C durante 72 hs, hasta la pérdida total del agua. Posterior al secado de las hojas, se procedió a molerlas en un molino a cuchillas (**Figura 1**), utilizándose este material para las suspensiones en agua destilada según metodología empleada por Castiglioni et al. (2002).

Los extractos fueron preparados mezclando 1, 5 y 10 g del polvo de Neem y Paraíso (**Figura 2**), separadamente en recipientes con 100 mL de agua destilada. Las mezclas fueron dejadas en reposo durante 24 hs para extracción de sustancias secundarias hidrosolubles, siendo posteriormente filtradas con tela organza, descartándose la parte sólida y utilizándose solo la parte líquida.



Figura 1. Molino a cuchillas utilizado para la obtención del polvo fino, para las suspensiones en agua destilada. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.



Figura 2. Extractos de Meliáceas en recipientes con 100 mL de agua destilada. Laboratorio de Entomología. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.

Con la finalidad de mantener la turgencia de los discos de hojas de poroto, se procedió a la preparación del sustrato. Se utilizó 20 g de agar por cada litro de agua destilada.

Para el cargado del medio gelatinoso se distribuyó en cantidades homogéneas de aproximadamente 30 mL en cada una de las placas de Petri de 10 cm de diámetro y con 2 cm de altura (previamente esterilizadas con hipoclorito de sodio al 5% y alcohol al 70%).

Una vez que el agar iba tomando consistencia, se procedió a cortar los bordes, dejando espacio suficiente para rodearla con agua destilada, para evitar el escape de los ácaros de las placas.

Para la aplicación de los extractos fueron previamente cortados discos de hojas de Poroto con 3 cm de diámetro (con la ayuda de un sacabocados de plástico). Metodología adaptada de Parecis et al. (2009).

Los discos de hojas fueron inmersos durante cinco segundos en los respectivos extractos de Meliáceas, con

una leve agitación, y luego colocadas sobre papel absorbente para el secado, a temperatura ambiente durante 30 minutos, conforme a la metodología descrita por Grafton et al. (1983), posteriormente las hojas se colocaron en el sustrato agar, en el interior de placas de Petri.

Finalmente adultos de *Tetranychus* spp. de 3 días de emergencia, fueron transferidos de plantas de poroto a los discos de hojas (**Figura 3**) tratadas con extractos de Meliáceas. Estas fueron mantenidas en condiciones controladas de temperatura $25 \pm 5^\circ\text{C}$, y la humedad $70\% \pm 5$, con 12 hs de luz.



Figura 3. Transferencia de *Tetranychus* spp. a discos de hojas de poroto. Laboratorio de Entomología. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.

El diseño experimental fue de completamente al azar, con 7 tratamientos y 10 repeticiones. Cada unidad experimental, estuvo constituida por una placa de Petri con 10 ácaros, totalizando 100 ácaros por tratamiento.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANAVA), luego se comparó las medias entre los tratamientos, mediante el Test de Tukey, con un nivel de significancia de 5%. Los promedios de porcentaje de mortalidad fueron sometidos al Análisis de Regresión Lineal (Mstat y Microsoft Excel).

Los tratamientos y dosis empleados en el estudio comparativo de la eficacia de los extractos de Neem y Paraíso para el control de *Tetranychus* spp. fueron; T1: Neem 10 g/100 mL de agua destilada; T2: Neem 5 g/100 mL de agua destilada; T3: Neem 1 g/100 mL de agua destilada; T4: Paraíso 10 g/100 mL de agua destilada; T5: Paraíso 5 g/100 mL de agua destilada; T6: Neem 1 g/100 mL de agua destilada; T7: Testigo absoluto 100 mL de agua destilada.

Se contabilizó el número de ácaros muertos por cada unidad experimental, luego de 24, 48, 72 y 96 hs después de la aplicación de extractos de Meliáceas, considerándose muerto al ácaro que no presentaba

movimiento perceptible, después de tocarlo con las cerdas de un pincel fino, bajo la observación estereoscópica, según metodología de Young-Joon et al. (2004).

La eficacia de los extractos fue calculada contabilizándose los ácaros muertos por cada unidad experimental, corrigiéndose con la fórmula de Abbott (1925), a expresarse originalmente en porcentaje, considerándose eficaces los tratamientos que superan el 80% de mortalidad corregida.

$$MC = \frac{Mtr - Mte}{100 - Mte} \times 100$$

Donde: **MC:** porcentaje de mortalidad corregida; **Mtr:** número de ácaros muertos en el tratamiento con el producto; **Mte:** número de ácaros muertos en el testigo absoluto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la evaluación de los porcentajes de mortalidad de ácaros, realizada a las 24 hs posteriores a la aplicación de los extractos de Meliáceas, se observan diferencias entre los tratamientos (**Tabla 1**). Siendo estadísticamente similares los tratamientos; 1, 4, 5 y 6. Los Tratamientos 2 y 3 son similares estadísticamente, presentan los menores promedios de mortalidad con respecto a los demás tratamientos.

En la segunda evaluación realizada a las 48 hs después de la aplicación de los extractos de Meliáceas, se observa el mayor porcentaje de mortalidad de 60,64% en el T₁, siendo estadísticamente similares a los tratamientos 1, 4, 5 y 6. Los tratamientos 2 y 3 fueron los que presentaron menores índices de mortalidad de 27,66% y 13,83% respectivamente.

Tabla 1. Eficacia de extractos, tratamientos, dosis, promedio de mortalidad en (%) de *Tetranychus* spp., a las 24, 48, 72 y 96 hs de aplicación de los extractos. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.

Tratamiento	Descripción	Dosis g / 100ml de agua destilada	% Eficacia			
			24 hs ^(*)	48 hs ^(*)	72 hs ^(*)	96 hs ^(*)
T ₁	Neem	10	28,13a	60,64a	79,73a	95,77a
T ₂	Neem	5	4,12bc	27,66bc	40,54c	64,79bc
T ₃	Neem	1	3,13bc	13,83cd	37,84c	45,1c
T ₄	Paraíso	10	28,13a	57,428a	66,22ab	85,92ab
T ₅	Paraíso	5	27,08a	37,23abc	45,95bc	66,20bc
T ₆	Paraíso	1	22,92ab	43,62ab	36,49 c	39,44c

* Medias seguidas por letras distintas en las columnas difieren estadísticamente entre sí por el Test de Tukey al 5% de probabilidad de error.

La tercera evaluación realizada a las 72 hs después de la aplicación de los extractos, se observa que los tratamientos 1 y 4 presentan los mayores porcentajes de mortalidad, con 79,73% y 66,22% respectivamente. Los tratamientos 3 y 6 presentan los menores índices de mortalidad, siendo estadísticamente similares a los tratamientos 2 y 5 (**Tabla 1**).

Trabajos realizados por Brito et al. (2006) con producto comercial a base de Azadiractina Natuneem al 1%, obtuvieron un índice de mortalidad de 56% en el control de *T. urticae*, que difiere con el presente trabajo donde se observó un 37,84% de mortalidad de *Tetranychus* spp.

En la cuarta evaluación realizada a las 96 hs, se observa que el tratamiento 1 y 4 estadísticamente son similares, presentando una mortalidad del *Tetranychus* spp., de 95,77% y 85,92% respectivamente. Por otro lado se puede observar que los tratamientos 2, 3, 5 y 6 no presen-

-tan diferencias estadísticas.

En investigaciones realizadas por Cochetto et al. (s.f.) obtuvieron un porcentaje de mortalidad de 59% con extractos de Paraíso al 10%, a las 120 hs de evaluación sobre *T. urticae*, sin embargo en el experimento realizado en el laboratorio de Entomología, con la misma concentración del extracto mencionado se logró una mayor eficacia con 85,92%.

El extracto de Paraíso al 5% a las 96 hs posteriores a la aplicación de los extractos (Cuadro 1) controló 66,20% de *Tetranychus* spp., mayor a lo señalado por Castiglioni et al. (2002), quienes obtuvieron un índice de mortalidad de 58,2 % en *T. urticae* a las 120 hs de evaluación.

En base a los resultados obtenidos, hubo relación entre las dosis, tiempo de acción y porcentaje de mortalidad. En el gráfico de Regresión (**Figura 4**), se puede observar la

variación del porcentaje de mortalidad en función al tiempo de acción, demostrando una correlación entre las variables, a mayor tiempo de acción, mayor porcentaje de mortalidad.

Estos datos coinciden con Flores et al. (2007) quienes en su experimento de susceptibilidad de *T. urticae*, corroboraron que el efecto tóxico de la azadiractina junto con el azufre va incrementándose en forma proporcional al tiempo.

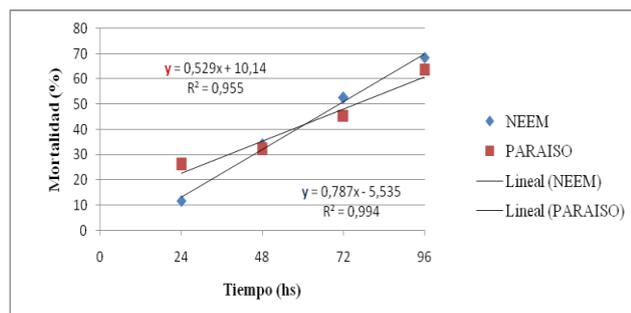


Figura 4. Análisis de Regresión de mortalidad en función al tiempo de acción, de los extractos de Meliáceas. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.

Además, se observa que cuanto mayor es la dosis utilizada, el porcentaje de mortalidad aumenta, observándose un índice superior de mortalidad con la dosis de 10 g/100 mL en comparación a las demás dosis, demostrando un nivel de correlación entre las variables (Figura 5).

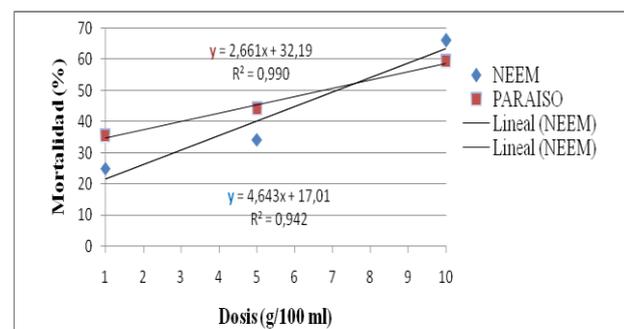


Figura 5. Análisis de mortalidad en función a las dosis de las Meliáceas. FCA/UNA. San Lorenzo, 2011.

Resultados obtenidos por Lizanas (2005) señalan que la mortalidad de *D. melanogaster* (Díptera: Drosophilidae) utilizado como insecto modelo, fue aumentando paulatinamente con el transcurso de los días, teniendo una estrecha relación con la dosis. Obteniéndose mejores resultados con las dosis más altas de los extractos de Neem.

Por otro lado, fue observado ácaros muertos en la barrera de agua y cobertura de ágar. En el tratamiento 1 se observa una mortalidad de (11,8%), en el tratamiento 2 (2,15%), en el tratamiento 3 (8,6%), en el tratamiento 4

(12,9%), en el tratamiento 5 (3,23%), y (7,52%) en el tratamiento 6. Esto pudo deberse a la acción repelente de los extractos en los ácaros, como menciona Castiglioni et al. (2002).

Brito et al (2006) confirmó el efecto repelente de la formulación comercial Natuneem con ingrediente activo de azadiractina, con la concentración al 1% del producto sobre *T. urticae*, obteniendo un índice de repelencia del 98,75%.

Cocheto et al. (s.f.) estudió el extracto acuoso de Paraíso sobre *T. urticae*, obteniendo 32% de índice de repelencia a las 120 hs de evaluación.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y las condiciones en que fue desarrollada la presente investigación se concluye que:

- Los extractos de *Azadirachta indica* A. Juss y *Melia azedarach* L. poseen efecto acaricida sobre *Tetranychus* spp.
- La dosis más alta de *A. indica* y *M. azedarach* son más eficaces en el control sobre *Tetranychus* spp.
- La *A. indica* y la *M. azedarach* demuestran mejor eficacia a las 96 hs sobre *Tetranychus* spp.

LITERATURA CITADA

- Abbott, WS. 1925. A method computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*. no 18:265-267.
- Brito, HM; Gondim, MG; Oliveira, J; Camara, C. 2006. Toxicidade de Natuneem sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e ácaros Predadores da Família Phytoseidae (en línea). *Cienc. Agrotec.* 30(4):685-691. Consultado 27 de jul. 2010. Disponible en http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/30-4-2006_14.pdf
- Castiglioni, E; Vendramin, JD; Tamai MA. 2002. Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* Koch (Ácari, Tetranychidae) (en línea). Consultado en 20 oct. 2010. Disponible en <http://www.fagro.edu.uy/agrsciencia/VOL6/2/p75-82.pdf>
- Cocheto, GJ; Dirceu, P; Polanczyk, RA; Zinger, FD; Grecco, ED; Holtz, AM; Sobreira, FM. sf. Efeito do extracto de folhas de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), visando seu controle no morangueiro (*Fragaria x ananassa*) (en línea). Universidad Federal do Espírito Santo: Centro

- de Ciências Agrárias: Departamento de Produção Vegetal. Consultado 10 nov. 2010. Disponible en http://www.abhorticultura.com.br/eventos/trabalhos/ev_1/a624_t851_comp.pdf
- Flores, A; Silva G; Tapia M; Casals P. 2007. Susceptibilidad de *Tetranychus urticae* Koch (Ácari: Tetranychidae) Colectada en *Primula obconica* Hance y *Convolvulus arvensis* L. a Acaricidas (en línea). Revista Agricultura Técnica 67(2):219-224. Consultado 18 ago. 2010. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0365-8072007000200014&script=sci_arttext
- Grafton-Cardwell, EG; Hoy, MA. 1983. Comparative toxicity of avermectin b1 to the predator metaseiulus occidentalis (Nesbitt) (Acari: Phytoseidae) and the spider mites Tetranychus urticae Koch and Panonychus ulmi (Koch) (Acari:Tetranychidae). Journal of economic Entomology, Lanham, 76: 1216:1220.
- Lizanas Rojas, DR. 2005. Elaboración y evaluación de extractos del fruto de Melia azedarach L. como insecticida natural (En línea). Consultado 20 ago. 2011. Disponible en http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2005/lizana_d/sources/lizana_d.pdf
- Parecis Silva, PV; Vieira, MR; Gomes Tabet, V; Mamoré Matins, GL. 2009. Produtos naturais com potencial de uso no controle de *Tetranychus urticae* Koch (Ácari: Tetranychidae) (en línea) Faculdade de Engenharia Ilha Solteira. Consultado 20 de nov. 2010. Disponible en http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_00580164144.pdf
- Young-Joon, KL; Si-Heyeock, L; Si-Woo; A. Young-Joon. 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. Pest. Manag. Sci. 60:1001-1006.