



Actividad tóxica del aceite esencial de laurel y del cineol sobre *Brevicoryne brassicae* L. en repollo

Toxic activity of laurel essential oil and cineole on *Brevicoryne brassicae* L. over cabbage

Andrea Kahan ¹
Susana Padín ²
Mónica Ricci ¹
Jorge Ringuelet ³

Elsa Cerimele ³
Susana Ré ³
Cynthia Henning ³
Inés Basso ²

Originales
Recepción: 30/06/2008
Aceptación: 26/08/2008

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la actividad tóxica del aceite esencial de laurel (*Laurus nobilis* L.) y del cineol, monoterpene cíclico considerado un aleloquímico puro, sobre *Brevicoryne brassicae* L. en repollo (*Brassica oleracea* var. capitata L.). Las concentraciones de aceite esencial utilizadas fueron: 1; 1,5; 2 y 3%, y para cineol: 0,5; 1,5 y 2,5%, ambas formuladas en solución acuosa con 2% de oleato de polietilenglicol como emulsionante. Se utilizaron dos técnicas de aplicación: papeles impregnados y pulverización directa. A las 24 horas del tratamiento se evaluó el porcentaje de mortalidad. Los resultados se analizaron por ANOVA de dos vías y Test de Tukey. Se encontraron diferencias significativas para los productos evaluados en todas las concentraciones ensayadas. Las técnicas de aplicación no dieron diferencias significativas. La mayor mortalidad correspondió a 52% para el aceite esencial de laurel y 27,5% para cineol a las mayores concentraciones en ambos casos. Se concluye que los productos ensayados podrían ser una herramienta para el Manejo Integrado de Plagas para control de áfidos en cultivos hortícolas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate toxic activity of laurel essential oil (*Laurus nobilis* L.) and of cineole, an acyclic monoterpene considered as pure allelochemical compound, on *Brevicoryne brassicae* L. over cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata L.). Laurel essence concentrations were 1, 1.5, 2 and 3%; cineole concentrations were 0.5, 1.5 and 2.5%, both formulated in distilled water with 2% polyethyleneglicol oleate as emulsifier. Two application techniques were used: direct pulverization and impregnated papers. Mortality percentage was analyzed 24 hours after treatments. Results were analyzed by ANOVA and Tuckey test. Significant differences were observed for the evaluated products in all concentrations tested. Application techniques showed no significant differences. The highest mortality obtained was 52% for laurel essence and 27.5% for cineole. Tested products could be used as a promisory tool for integral pest management in aphid control on vegetable crops.

Palabras clave

mortalidad • *Brevicoryne brassicae* L.
• cineol • aceite esencial de laurel • repollo

Keywords

mortality • *Brevicoryne brassicae* L. • cineole • laurel essential oil • cabbage

1 Cát. Zoología Agrícola.

2 Cát. Terapéutica Vegetal.

3 Cát. Bioquímica y Fitoquímica.

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. 60 y 119. C. C. 31. (1900) La Plata. Buenos Aires. Argentina. anedka1911@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

En los últimos treinta 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 de los insecticidas de síntesis en el origen de resistencia en insectos plaga y sobre la mortalidad de los organismos benéficos en los distintos ecosistemas (2).

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 (21). Estos aleloquímicos presentan más de un mecanismo de acción sobre los insectos, pueden ser tóxicos, inhibidores del crecimiento, de la reproducción o de la oviposición, antialimentarios y/o repelentes (1, 14).

Los aceites esenciales de las plantas constituyen una fuente rica de sustancias químicas bioactivas con un gran potencial como fitoterápicos dado que poseen un escaso efecto sobre los organismos benéficos (6, 7). El aceite esencial extraído del laurel (*Laurus nobilis* L.) tiene efecto repelente y actividad biológica sobre cucarachas (*Periplaneta americana* L.) (10) y sobre los áfidos *Myzus persicae* Sulz., *Brevicoryne brassicae* L. y *Cavariella aegopodii* Scop. (8, 13). El cineol, uno de los principales componentes de la esencia de laurel, es un monoterpene cíclico considerado un aleloquímico puro. Es un compuesto con probada actividad repelente y tóxica sobre algunos áfidos como *M. persicae* y *B. brassicae* (14, 19).

Los áfidos constituyen una de las plagas que afectan los cultivos más importantes del mundo. Existen tres razones por las cuales causan pérdidas económicas de gran magnitud:

1. Por su reproducción clonal con generaciones telescopadas, que les permite producir en corto tiempo niveles poblacionales que ocasionan un alto impacto económico.
2. Son vectores de virus que provocan severos daños a los cultivos.
3. Han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia (detoxificación) por el uso intensivo de insecticidas y de variedades mejoradas con genes de resistencia (5).

Los áfidos son considerados plaga debido a características distintivas de su biología y a la capacidad que poseen para localizar y explotar las plantas huéspedes (17). El desarrollo de la partenogénesis les confiere una ventaja reproductiva por duplicar la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m) cuando se los compara con individuos que poseen reproducción sexual (4). Las poblaciones de verano, que son partenogenéticas y vivíparas, pueden duplicarse en tres días. Este incremento poblacional está sujeto al efecto de factores bióticos y abióticos que pueden modificarlo sustancialmente (9). 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 (12). 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) (23).

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 (3, 15) y es considerado uno de los más perjudiciales y de presencia permanente en cultivos del género *Brassica* (22).

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 veinte virus en un amplio rango de plantas (20). Esta plaga es generalmente controlada con insecticidas de síntesis. La utilización extensiva de los mismos provoca daños ambientales que son indeseable lo cual originó, en los últimos años, el desarrollo de sistemas de producción sustentables, con un menor uso de pesticidas (16).

En este trabajo se evaluó la toxicidad del aceite esencial de *L. nobilis* y del cineol sobre *B. brassicae* en plantas de repollo (*Brassica oleracea* var. capitata L. cv Cabeza de Hierro).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del aceite esencial de laurel

Se obtuvo a partir de hojas frescas recolectadas de plantas provenientes de la Estación Experimental Julio Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. Éstas fueron sometidas a destilación por arrastre con vapor de agua, en destilador a escala piloto con alambique de 30 L de capacidad. Una vez recogida la esencia se trató con sulfato de sodio para su deshidratación (18).

Obtención del cineol

Se extrajo del aceite esencial de laurel por el método de la resorcina; para tal fin se mezcló la esencia con resorcina, obteniéndose una masa cristalina, que fue tratada con álcali para su posterior separación (11).

Crianza y selección de insectos

Las poblaciones de *B. brassicae* fueron colectadas en cultivos de repollo de explotaciones comerciales existentes en el cinturón hortícola del partido de La Plata, provincia de Buenos Aires. Fueron mantenidas sobre plantas jóvenes de *B. oleracea* en una vidriera experimental bajo condiciones ambientales de $25 \pm 5^\circ\text{C}$ de temperatura y 70-80% de H. R.

Técnicas de aplicación

Se utilizaron dos técnicas: pulverización directa y papeles impregnados, teniendo en cuenta que la técnica de aplicación incide en la eficiencia del producto a evaluar.

- La pulverización se realizó en forma directa sobre plantas de repollo con 3-4 hojas verdaderas, dispuestas en macetas individuales. Para la aplicación 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.

Las plántulas utilizadas en el ensayo se colocaron en envases de 60 cc de capacidad con una mezcla compuesta por tres partes de tierra, una de arena y una de turba. El material fue protegido con un capuchón recubierto en la parte superior con malla fina de red para permitir la respiración tanto de la planta como del áfido. En cada planta inmediatamente antes de la pulverización se colocaron con pincel, en la zona del cuello, diez pulgones adultos. Los principios bioactivos se formularon en solución acuosa empleando como emulsionante 2% de oleato de polietilenglicol (INSOL), y las concentraciones ensayadas fueron: 1; 1,5; 2 y 3% para aceite esencial de laurel y 0,5; 1,5 y 2,5% para cineol.

Cada planta recibió un volumen de 0,4 mL y se efectuaron diez repeticiones para cada tratamiento con los testigos en blanco correspondientes.

- Para los ensayos con papeles impregnados, las condiciones del ensayo fueron las mismas que para el tratamiento por pulverización. 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 el aceite esencial 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, equivalentes a las aplicadas por pulverización. A las 24 horas de la aplicación se realizó el recuento de pulgones muertos para ambas técnicas a las diferentes concentraciones ensayadas. Se efectuaron diez repeticiones con los testigos en blanco. En los testigos se utilizó agua con emulsionante (2% de oleato de polietilenglicol). Los valores de mortalidad registrados se transformaron en porcentaje según la fórmula:
Mortalidad (%) = $(10 - \text{n}^\circ \text{ de pulgones muertos}/10)$. Para el análisis estadístico se utilizó un ANOVA de dos vías y Test de Tukey ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de analizar estadísticamente los porcentajes de mortalidad se comprobó que existieron diferencias significativas para las concentraciones utilizadas, tanto para laurel (F: 92,40; $p < 0,0001$) como para cineol (F: 55,98; $p < 0,0001$). En cambio no hubo diferencias para las técnicas utilizadas (tabla 1, pág. 45). Según se observa en los gráficos 1 y 2 (pág. 45), los mayores porcentajes de mortalidad correspondientes al 52 y 27,5% para aceite esencial de laurel y cineol, respectivamente, se obtuvieron a las mayores concentraciones. En los testigos no se observó mortalidad.

Tabla 1. Componentes del análisis de varianza y significancia estadística para P = 0,05

FV	SC	gl	CM	F	P
Técnica aplicación	16,0	1	16,0	0,18	0,6743
Concentraciones laurel	33264,0	4	8316,0	92,4	0,0000
Técnica * concentraciones	584,0	4	146,0	1,62	0,1755
Error	8100,0	90	90,0		
Total	41964,0	99			
Técnica aplicación	20,0	1	20,0	0,4	0,53
Concentraciones cineol	10010,0	3	3336,67	66,0	0,0000
Técnica * concentraciones	830,0	3	276,66	5,47	0,0019
Error	3640,0	72	50,55		
Total	14500,0	79			

FV: Fuentes de variación; SC: Suma de Cuadrados; gl: grados de libertad; CM: Cuadrado medio; F: estadístico F para P = 0,05.

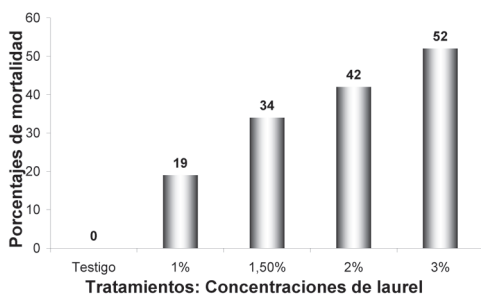


Gráfico 1. Porcentaje de mortalidad de *B. brassicae* con respecto al testigo y al aceite esencial de laurel.

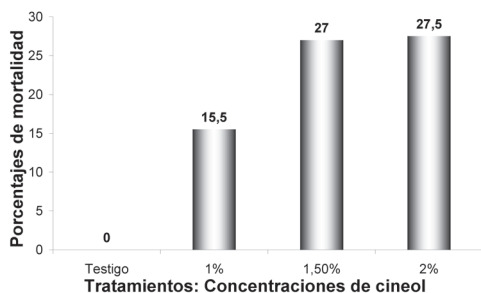


Gráfico 2. Porcentaje de mortalidad de *B. brassicae* con respecto al testigo y al cineol.

Para el aceite esencial de *Laurus nobilis*, las concentraciones intermedias, correspondientes al 1,5 y 2% de esencia no mostraron diferencias significativas, logrando una mortalidad del 34 y 42%, respectivamente (tabla 2, pág. 46). Cuando se utilizó el cineol como aleloquímico puro, se diferenció únicamente la menor concentración del resto, ya que a 1,5 y 2,5% de cineol no se hallaron diferencias significativas, alcanzando una mortalidad del 27 y 27,5%, respectivamente, muy por debajo de los valores alcanzados por el aceite esencial de laurel.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad obtenida con las concentraciones de laurel y cineol.

Concentraciones laurel (%)	Mortalidad (%)	Concentraciones cineol (%)	Mortalidad (%)
Testigo	0 a	Testigo	0 a
1	19 b	0,5	15,5 b
1,5	34 c	1,5	27 c
2	42 c	2,5	27,5 c
3	52 d		

Letras iguales no se diferencian estadísticamente según Test de Tukey ($P \leq 0,05$)

Con respecto a las técnicas de aplicación, no evidenciaron diferencias significativas. Esto permitiría la aplicación de la sustancia bioactiva sin necesidad de depositarla por pulverización sobre el órgano de cosecha, con las consecuentes ventajas al evitar los cambios en las propiedades organolépticas del repollo y la acumulación en el mismo de sustancias químicas.

Estudios realizados por Padín et al. (13) comprobaron el efecto repelente del aceite esencial de laurel sobre *B. brassicae* y *M. persicae* en repollo, oscilando los valores obtenidos entre 60-90%. Kahan et al. (8) lograron resultados similares sobre *M. persicae* y *C. aegopodii* en plantas de pimiento, lechuga y apio. Esto demuestra que si bien el efecto tóxico superó levemente el 50%, dicho valor se complementaría con la actividad repelente.

Los resultados de mortalidad obtenidos con la aplicación del cineol, uno de los componentes mayoritarios del aceite esencial de laurel, arrojaron valores bajos de mortalidad en relación con los obtenidos con el aceite esencial de *L. nobilis*. Ricci et al. (19) evaluaron el efecto repelente del cineol sobre los áfidos *M. persicae* y *B. brassicae* en cultivos de repollo, logrando valores del 96% cuando se aplicó en solución acuosa a una concentración del 2,5%. Aunque los valores de mortalidad obtenidos por cineol son inferiores a los logrados por el aceite esencial de laurel, su acción tóxica podría ser aditiva al efecto repelente.

CONCLUSIONES

- ❖ El aceite esencial de laurel aplicado sobre *B. brassicae* en cultivo de repollo presentó valores de mortalidad que resultan promisorios para ser incorporados como una estrategia de control dentro del Manejo Integrado de Plagas. El mayor efecto insecticida obtenido por la esencia de *L. nobilis* con respecto al cineol podría ser atribuido a otros metabolitos presentes en el aceite esencial que adicionan efecto tóxico al producido por el cineol.
- ❖ Se destacan los beneficios de la técnica de papeles impregnados con respecto a la pulverización. De esta forma se evitaría el contacto directo del principio biológicamente activo sobre el material a cosechar y, por lo tanto, no se alterarían las características organolépticas de la hortaliza.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. _____; 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.
3. 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.
4. Dixon, A. F. G. 1998. *Aphid Ecology: An optimization approach*. 2nd ed. London. Chapman & Hall (Eds). 300 p.
5. Figueroa, C. C.; N. Prunier-Leterme; C. Rispe; F. Sepúlveda; E. Fuentes Contreras; B. Sabater Munoz; J. C. Simon; D. Tagu. 2007. Annotated expressed sequence tags and xenobiotic detoxification in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *The Authors Insect Science*. 14: 29-45.
6. Isman, M. B. 2000. Plant essential oil for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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). *Annais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 24: 13-20.
11. Montes, A. L. 1961. *Análisis de los productos aromáticos*. Colección Científica del INTA. 541 p.
12. 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.
13. 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*. Universidad El Zamorano. Honduras. 43(2): 23-27.
14. _____; E. M. Ricci; C. Henning; S. Ré; J. Ringuelet; E. Cerimele. 2007. Insecticidas botánicos para el control de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) en *Brassica oleracea* var. capitata. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas*. España. 33 (2): 187-193.
15. Pereira, C. D.; 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.
16. 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.
17. Powell, G.; C. R. Tosh; J. Hardie. 2006. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary and applied. *Annual Review of Entomology*. 51: 309-330.

18. Real Farmacopea Española, 1997. 1ª Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid. 1949 p.
19. Ricci, M.; A. Kahan; S. Padín; C. Henning; P. Sceglío; 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. p 52.
20. 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.
21. Teranishi, R.; Buttery, R.; Sugisawa Hiroshi. 1993. Bioactive Volatile Compounds from Plants. ACS Symposium Series 525.
22. 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). p. 285-289.
23. 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.