

UTILIZACIÓN DE *RYANIA SPECIOSA* VAR *CHOCOENSIS* (TRIANA Y PLANCH) PARA EL CONTROL DE *TOXOPTERA CITRICIDUS* (KIRKALDY, 1907) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Alberto A. Méndez Barceló,¹ Robert T. González Mina² y Carlos H. Castillo Barbosa²

¹ Universidad de Las Tunas, Ave. Carlos J. Finlay s/n, Buenavista, Las Tunas, Cuba, mendez@ult.edu.cu

² Universidad del Pacífico Ave. Simón Bolívar no. 54A-10, Los Laureles, Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia

RESUMEN

Se evaluó la capacidad biocida de extractos de tallos y hojas de *Ryania speciosa* var. *Chocoensis* (Triana y Planch) para el control de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy en condiciones de laboratorio. Se determinó la CL_{50} al exponer individuos a concentraciones de 0,20; 0,70; 1,20; 1,70 y 2,00 g/100 mL y de 0,50; 1,20; 1,80; 2,40 y 2,95 g/100 mL, a extractos de tallos con etanol al 70 % y de hojas al 75 %, respectivamente por 36 h por medio de bioensayos con 30 áfidos en placas Petri debidamente codificadas. La efectividad letal se midió por la ausencia de movilidad al recibir estímulos punzantes en el abdomen en dos ocasiones por 15 s. El testigo fue con etanol al 1 %. No hubo discriminación de sexos. La determinación de la CL_{50} de 236 mg/L y 68 mg/L, para extractos obtenidos de tallos y hojas, respectivamente a las 36 h, hubo un mayor grado de toxicidad y velocidad de acción para los extractos de hojas. La sintomatología en los áfidos fue la falta de coordinación de movimientos a las 2 h de exposición a los extractos, una reducción de sus movimientos a las 12 h, aborto de ninfas a las 18 h y falta total de movimientos entre las 24 y 36 h.

Palabras claves: extractos vegetales, *R. speciosa*, *T. citricidus*, control biológico

ABSTRACT

The biocide ability from stems and leaves extracts of *Ryanae speciosa* var. *Chocoensis* (Triana y Planch) for controlling *Toxoptera citricidus* Kirkaldy was evaluated in laboratory conditions. LC_{50} was determined by exposing individuals to concentrations of 0.20, 0.70, 1.20; 1.70 and 2.00 g/100 mL of stems extracts with 70% ethanol, and 0.50, 1.20, 1.80, 2.40 and 2.95 g/100 mL of leaves extracts with 75% ethanol for 36 hours, using in both bioassays properly coded petri dishes with 30 aphids each. Lethal effectiveness was measured by the absence of mobility response to the abdomen stimulation punctures carried out twice for 15 seconds consecutively. Control treatment was 1% ethanol. There was no sex discrimination. The determination of the LC_{50} of 236 and 68 mg/L for extracts obtained from stems and leaves, respectively, showed the greatest degree of toxicity at 36 hrs. Leaves extract showed a highest speed of action. Symptoms on aphids was the lack of movements coordination within two hrs of exposure to the extracts, reduction of their movements within 12 hrs, abortion of nymphs at 18hrs and total absence of movement between 24 and 36 hrs.

Key words: botanical extracts, *R. speciosa*, *T. citricidus*, biological control

INTRODUCCIÓN

La citricultura es un subsector agrícola en Colombia que hasta 2004 participaba con el 34,5 % de la producción total de frutas. Los departamentos Cundinamarca, Valle del Cauca y Quindío presentan las mayores producciones que representan el 41,2 % de la producción cítrica colombiana [Anónimo, 2005]. El limón, *Citrus*

limon (L.) Burm es una de las especies de cítricos más importantes en la canasta familiar; sin embargo, es altamente susceptible al ataque de *Toxoptera citricidus* Kirkaldy, que se presenta con altos niveles poblacionales y además es un eficiente vector del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) [Anónimo, s/a].

En el Valle del Cauca *T. citricidus* es la especie de áfido que más incide en áreas de cítricos con una distribución del 77 % [Trochez, 2002]. En las actuales circunstancias es necesario encontrar alternativas de control de los agentes causales de plagas. En ese sentido *Ryania speciosa* var. *Chocoensis* (Triana y Planch), arbusto de la familia Flacourtiaceae, adaptado a la zona húmeda del Chocó Biogeográfico, se ha informado que posee varios componentes con capacidad biocida esencialmente el alcaloide rianodina. Alonso (1999) informó su uso en extractos acuosos de raíz y polvo a partir de tallos y hojas, para el control de *Diaphania hyalinata* Lin. y *Trips tabaci* Lind.; también se ha usado en lepidópteros [Anónimo, 2008].

En el presente trabajo se pretende determinar la acción biocida de extractos secos de tallos y hojas de esa especie botánica a escala de laboratorio para luego extenderlos a las áreas de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biología de la Universidad del Pacífico en la ciudad de Buenaventura, departamento Valle del Cauca, Colom-

bia, con una temperatura y humedad relativa medias de 28 ± 2 °C y 94 ± 4 %, respectivamente, y un fotoperíodo de 12 h luz natural y 12 h oscuridad en el período de junio de 2008 a abril de 2009.

Para estandarizar la elaboración de extractos secos a partir de tallos y hojas se evaluó una variante del protocolo propuesto por Mc Laughlin *et al.* (1998), citado por Bobadilla *et al.* (2005). Los extractos etanólicos de tallo al 96, 80 y 70 %, con dos maceraciones: una cada 24 h, en relación 2:1 (solvente/material vegetal) se filtró y el solvente se evaporó en baño de arena. El extracto obtenido se pesó y se disolvió hasta obtener concentración del 4 % con etanol al 57 %. Se prepararon extractos etanólicos de hoja al 96, 70 y 55 %, con dos maceraciones: una cada 8 h en relación 1:1. La evaporación del solvente y disolución del extracto se llevó a cabo según el mismo procedimiento utilizado para la obtención de los extractos a partir de tallos. Las soluciones de los extractos a base de tallos y hojas al 4 % se usaron como solución madre para obtener las concentraciones evaluadas, en relación peso:volumen.

Para la determinación de la CL_{50} se utilizaron 360 áfidos expuestos a las concentraciones mostradas a continuación

Extractos de tallo (g/100 mL)					Extractos de hoja (g/100 mL)				
0,20	0,70	1,20	1,70	2,00	0,50	1,20	1,80	2,40	2,95

Las observaciones se realizaron cada 1 h durante las primeras 6 h y cada seis hasta las 36 h.

Para probar las concentraciones se aplicaron 0,8 mL de cada una y se homogenizó en la superficie del fondo de placas Petri codificadas con 30 pulgones cada una. Para determinar la muerte de los individuos se utilizó la no respuesta de estos al recibir dos estímulos en el abdomen durante 15 s. No hubo discriminación de sexos en los bioensayos.

Los extractos etanólicos se evaluaron en un diseño completamente al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones. Los valores obtenidos en el ensayo se analizaron estadísticamente a través de un análisis de varianza (Anova) con nivel de confianza del 95 % y métodos de estadística descriptiva.

El cálculo de la concentración letal media transformado (CL_{50}) para las 24 y 36 h se evaluó mediante un análisis Probit 5,0 y Regresión Lineal Simple [Zar, 1974, citado por Mejía *et al.*, 2001 y Díaz *et al.*, 2008].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mortalidad de áfidos expuestos a diferentes concentraciones y tiempos de exposición se expresa en la *Tabla 1*. Tanto para extracto de tallo como de hojas existió mortalidad a la segunda hora en todas las concentraciones, excepto el testigo, y a 0,50 g/100 mL en extracto de hoja, y 0,20; 1,20 g/100 mL y el testigo en extracto de tallo. Durante el experimento no se reportó mortalidad con ninguna concentración del total de individuos expuestos (30).

Los mayores mortalidades se observaron a las 36 h para todos los extractos, a excepción de las concentraciones de 1,60 y 2,00 g/100 mL a las 24 y 30 h, respectivamente; en tallo a 0,5 g/100 mL, a las 30 h en extracto de hoja.

La acción letal más rápida se logró con el extracto de hoja, principalmente en las primeras 6 h; sin embargo, esta situación tendió a igualarse a partir de las 18 h. Las concentraciones letales a las 24 y 36 h (*Tabla 2*) muestra una CL_{50} de 236 y 68 mg/L en extractos de tallo y hoja, respectivamente, lo que expresa que las hojas poseen mayor toxicidad.

Tabla 1. Mortalidad de áfidos en tiempos de exposición bajo diferentes concentraciones de extractos de tallo y hoja

Parte	Concentración (g/100 mL)	Tiempo (horas)										
		1	2	3	4	5	6	12	18	24	30	36
Hojas	0,50	0	0	0	0	5	9	13	15	16	20	20
	1,20	0	5	6	6	8	11	14	17	17	17	20
	1,80	0	5	10	13	15	15	18	19	20	21	24
	2,40	0	3	6	10	13	17	21	22	23	24	25
	2,95	0	3	9	11	14	16	21	21	23	24	25
	Testigo	0	0	0	0	1	2	3	5	9	12	15
Tallos	0,20	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6
	0,70	0	1	1	1	1	1	2	3	4	10	15
	1,20	0	0	0	0	4	4	8	13	17	20	22
	1,60	0	7	7	7	7	12	20	23	24	24	24
	2,00	0	1	1	3	3	5	14	17	23	26	26
	Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	7

Tabla 2. Concentración Letal Media (CL₅₀ mg/L) transformadas de extractos de tallo y hoja a las 24 y 48 h.

Extractos	Tiempo exposición (h)	
	24	36
Tallo	432	236
Hoja	204	68

Las ecuaciones de regresión lineal simple y coeficientes de correlación para tallo y hoja a las 24 y 36 h fueron las siguientes:

CL ₅₀ Tallo 24 h:	$y = 4,92 + 2,88x$	$r = 0,97$	$r^2 = 0,9308$
CL ₅₀ Tallo 36 h:	$y = 5,46 + 1,93x$	$r = 0,99$	$r^2 = 0,9701$
CL ₅₀ Hojas 24 h:	$y = 5,46 + 0,89x$	$r = 0,92$	$r^2 = 0,8363$
CL ₅₀ Hojas 36 h:	$y = 5,58 + 0,74x$	$r = 0,89$	$r^2 = 0,7811$

Según Azcon-Bieto y Talón (2000) y Anaya *et al.* (2001), la raíz y el tallo son los órganos de reserva de diferentes sustancias químicas; sin embargo, el mayor grado de toxicidad de extractos de hoja puede explicarse debido a que la hoja es el órgano especializado en el proceso de transformación de energía luminosa en química, y genera como producto final azúcares, que sirven como sustancia primordial para la iniciación de procesos bioquímicos que producen aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos y otros polímeros, de los que se desarro-

llan nuevas rutas de reacciones bioquímicas que inducen a la formación de metabolitos que pueden mostrar acción biocida.

La respuesta de los áfidos fue similar en ambos extractos. En la primera hora de exposición los individuos del testigo mostraron una actividad normal y se posaban sobre la parte interna de la tapa la placa Petri; los expuestos a ambos extractos en todas las concentraciones redujeron su actividad en comparación con el testigo. Entre la segunda y la tercera hora los indivi-

duos del testigo presentaron un comportamiento normal; los expuestos a los extractos mostraron falta de coordinación en sus movimientos, principalmente los tratados a concentraciones por encima de 1g/100 mL. Entre las 4 y 6 h el 70 % de los individuos tratados adoptaron una posición lateral o ventrodorsal, con evidente reducción de movimientos, y solo algunos reaccionaron a los estímulos. A las 18 h se presentó un aborto de ninfas en todas las concentraciones evaluadas de ambos extractos, en tanto que en el testigo se observaron ninfas vivas. Entre las 24 y 36 h los áfidos reaccionaron débilmente al estímulo en el abdomen hasta el final de dicho período.

CONCLUSIONES

- La mejor concentración letal media (CL_{50}) para extractos de tallos y hojas fue de 236 y 68 mg/L, respectivamente.
- Los mejores resultados se obtuvieron con extractos a base de hojas de *R. speciosa*.
- La acción biocida de los extractos de tallo y hoja de *R. speciosa* para el control de *T. citricidus* en limón y en condiciones de laboratorio se manifiesta por la reducción de sus movimientos a las 12 h de exposición, el aborto de ninfas a las 18 h y la falta total de movimientos entre las 24 y 36 h.

REFERENCIAS

- Alonso, O.: «Los insecticidas botánicos: una opción ecológica para el control de plagas», *Pastos y Forrajes* 22 (1): 3-13, Matanzas, Cuba, 1999.
- Anaya, A. L.; G. F. J. Espinosa; O. R. Cruz: *Relaciones químicas entre organismos: Aspectos básicos y perspectivas de su aplicación*, Instituto de Ecología, UNAM, Edit. Plaza y Janés, México, 2001.
- Anónimo: «La cadena de cítricos en Colombia: Una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005», Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, www.agrocadenas.gov.co/citricos/documentos/caracterizacion_citricos.pdf (consultado en noviembre de 2007).
- Anónimo: «Descubrimiento de un nuevo mecanismo de acción insecticida: Un capítulo aparte», s/a. www.research.bayer.es/edicion-19/19_Fitosanidad.pdf (consultado en septiembre de 2008).
- Azcon-Bieto, J.; M. Talón: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, McGraw Hill, España, 2000, pp. 133-263.
- Bobadilla, M.; Fátima Zabala; M. Sisnegas; Gina Zabaleta; J. Mostacero; L. Taramona: «Evaluación larvicida de las suspensiones acuosas de guanábana *Annona muricata* Linnaeus sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae)», *Revista Peruana de Biología* 12 (1): 145-152, 2005, <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v12n1/v12n1a14.pdf> (consultado en septiembre de 2008).
- Díaz, M.; G. Bulus; Y. Pica: «Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad», *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*, México, IMTA, 2004. http://web.idrc.ca/es/ev-84468-201-1-DO_TOPIC.html (consultado en septiembre de 2008).
- Mejía, M.; M. Rodríguez; J. Güemez: «Determinación de la concentración letal media (CL_{50}) y efecto histopatológico del permanganato de potasio, en renacuajos de rana toro *Rana catesbeiana* (Anura: Ranidae)», *Universidad y Ciencia* 17 (34): 65-72. 2001, <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/154/15403402.pdf> (consultado en septiembre de 2008).
- Trochez, A.: «Reconocimiento de áfidos asociados a los cítricos e incidencia del virus de la tristeza de los cítricos en algunas regiones de Colombia», *Revista Regional Novedades Técnicas* no. 2, Colombia, 2002.