

ESTUDIO DE COMPATIBILIDAD *IN VITRO* DE LOS ACEITES ESENCIALES CON LECAFOL®

Amorós, M.E.¹; Umpiérrez, M.L.¹; Paullier, J.2; Rossini, C.¹

¹ Laboratorio de Ecología Química, Facultad de Química, UdelaR, Montevideo-Uruguay.

² INIA Las Brujas, Canelones-Uruguay.

Mail de correspondencia: mlumpierr@fq.edu.uy

Palabras clave: *Lecanicillium lecanii*, control biológico, insecticidas botánicos

Introducción

La problemática sanitaria es una importante limitante tecnológica en la producción hortícola comercial. Como ya se mencionó, la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* es una plaga de gran importancia económica para el cultivo del tomate en nuestro país. Los plaguicidas de origen botánico como los aceites esenciales (AE) y el control biológico mediante hongos entomopatógenos resultan ser alternativas interesantes para el control de este insecto.

Los AE de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Eupatorium buniifolium* (chirca) han demostrado ser potenciales controladores de dicho insecto (Sección "Evaluación de la aplicación de aceites esenciales para el control de mosca blanca en tomate).

Los hongos entomopatógenos son enemigos naturales que causan enfermedades a los insectos plaga. Estos microorganismos invaden el cuerpo del insecto ocasionándole la muerte. El uso de estos agentes microbianos para reducir las poblaciones y los efectos perjudiciales de la plaga, constituye un método de control biológico de gran valor por su alta inocuidad para la salud humana y el medio ambiente. LECAFOL® es el nombre comercial del insecticida biológico fabricado por LAGE y Cía, una formulación en polvo de aplicación foliar y de uso en cultivos bajo invernáculo. Una cepa de *Lecanicillium lecanii* es el ingrediente activo de este formulado. Este producto se ha probado como efectivo controlador de *T. vaporariorum* (Figura 1a y 1b) (Paullier & Folch, 2012).

Un Manejo Integrado de Plagas debe considerar la integración de diferentes medidas de control, por este motivo es relevante conocer la viabilidad de utilización conjunta de las diferentes estrategias. El **objetivo** de este trabajo fue la evaluación de la compatibilidad *in vitro* del desarrollo de *L. lecanii* frente a los vapores de los AE de chirca y ajeno.

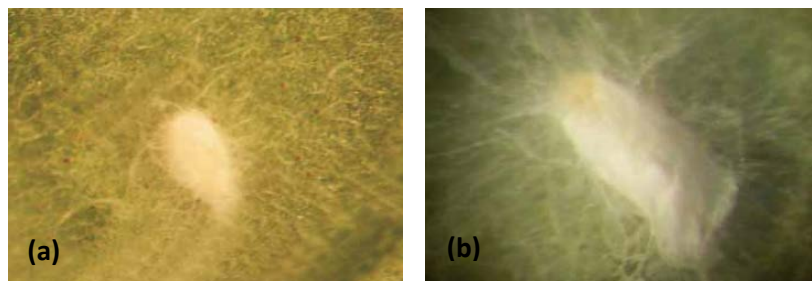


Figura 1: Ninfas (a) y adultos (b) de mosca blanca infectados por *L. lecanii*.

Metodología

Evaluación de inhibición de crecimiento de micelio por exposición a los vapores del AE

Se realizaron ensayos *in vitro* donde se evaluó el crecimiento de micelio del hongo expuesto a distintas concentraciones de volátiles de los AE. Los mismos fueron ejecutados en las instalaciones del Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones de la Facultad de Química (UdelaR). El diseño del ensayo se basó en el trabajo de Alvarez-Castellanos *et al.* (2001).

Se utilizaron placas de Petri de plástico (9 cm de diámetro) con medio PDA (10 mL) que fueron inoculadas con el hongo por picadura en 8 puntos. Sobre las tapas de las placas se colocaron discos de papel de filtro estériles de 1 cm de diámetro (1 a 5 dependiendo de las dosis a ser aplicadas) impregnados con distintas cantidades del AE puro (tratamiento) o con agua destilada estéril (control). En un primer ensayo, los tratamientos consistieron en la aplicación de 1, 10, 25 y 50 μL de AE de ajeno o chirca por placa. En el caso del AE de chirca, se realizó un segundo ensayo aumentando las dosis a 50, 100, 250 y 500 μL dado que para en el primer ensayo no se observó efecto. Se utilizaron los AE obtenidos como se detalla en la Sección “Evaluación de la aplicación de aceites esenciales para el control de mosca blanca en tomate”, de esta publicación.

Se realizaron 3 placas por tratamiento y cada placa se consideró una réplica (se promedió el diámetro de las 8 colonias de cada placa). Las placas se sellaron con Parafilm® M y se incubaron invertidas en estufa (22 °C, oscuridad) durante 6 días (Figura 2).

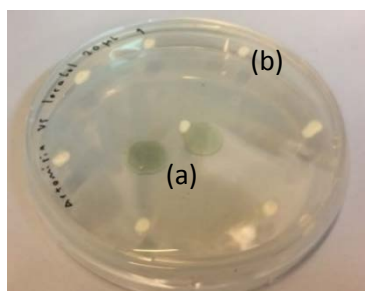


Figura 2: Diseño de bioensayo para la evaluación de la actividad de volátiles sobre *L. lecanii*, donde los tratamientos son aplicados en 2 papeles de filtro (a) sobre la tapa de la placa y el hongo es inoculado en 8 puntos sobre la base de la misma en medio PDA (b); las placas se incuban invertidas como muestra la figura.

Al finalizar el ensayo se midió con calibre (precisión, 0.05 mm) el diámetro de cada colonia (D) como variable indicativa del crecimiento micelial. Se calculó para cada colonia el Porcentaje de Inhibición (% IT) como:

$$\%IT = \frac{(\text{diámetro } C - \text{diámetro } T) * 100}{\text{diámetro } C}$$

A partir de estos datos se calcularon las concentraciones inhibitorias de AE necesarias para reducir en un 50 % el crecimiento micelial (CI_{50}).

Resultados

Los resultados mostraron que los volátiles a 50 μL por placa del AE de ajeno inhibieron totalmente el crecimiento del hongo (Figuras 3a y 4a). En base al % IT (Figura 5) la CI_{50} calculada fue de 0.12 (0.11-0.13) mg/cm^3 . Umpiérrez *et al.* (2012) reportaron que la DL_{50} para los volátiles de este AE frente a *T. vaporariorum* es de 0.12 (0.09-0.14) mg/cm^3 , por lo que a una concentración efectiva para controlar el 50 % de los adultos de mosca el crecimiento micelial de *L. lecanii* se podría ver afectado, disminuyendo la eficiencia de control del LECAFOL®.

Sin embargo, los volátiles de chirca no inhibieron el crecimiento del hongo en dosis 10 veces más altas (Figuras 3b y 4b), por lo que se puede considerar que este AE resultaría inactivo para *L. lecanii*. Los volátiles del AE de chirca fueron reportados como activos sobre adultos de mosca blanca, con una DL_{50} de 0.06 (0.02-0.11) mg/cm^3 . Por lo tanto, este AE podría ser potencialmente utilizado como una herramienta en el control de mosca en conjunto con el LECAFOL® sin perjudicar el desarrollo de micelio del hongo.

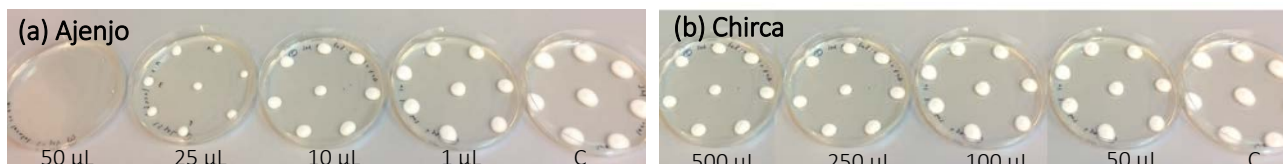


Figura 3: Evaluación de inhibición de crecimiento de micelio de *L. lecanii* por exposición a los vapores AE. Se muestran las placas inoculadas en 8 puntos, luego de 6 días de incubación. (a) *L. lecanii* expuesto a distintas concentraciones de AE de ajeno. (b) *L. lecanii* expuesto a distintas concentraciones de AE de chirca.

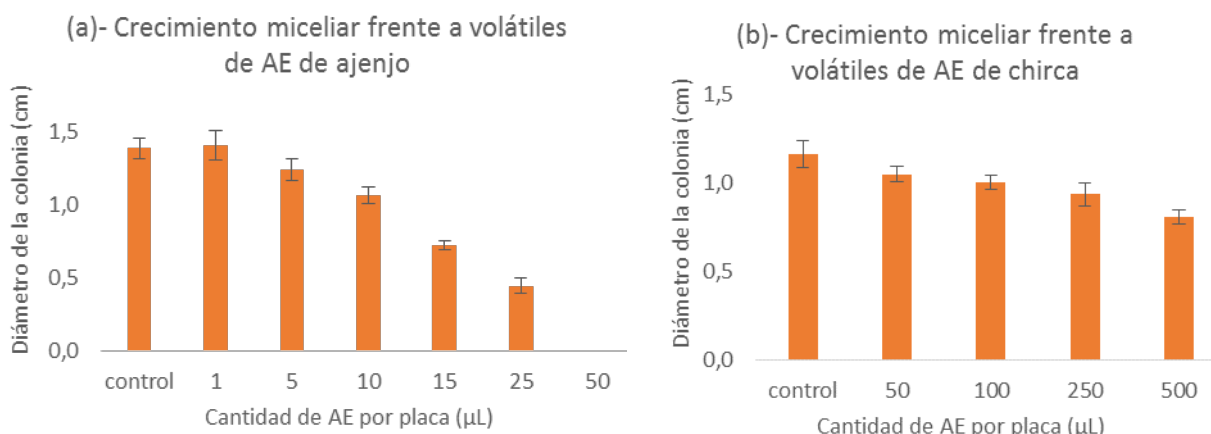


Figura 4 (a) y (b): Crecimiento de micelio (cm) de *L. lecanii* a los 6 días post-inoculación, frente a diferentes concentraciones de los AE de ajeno y chirca. Los resultados se muestran como el promedio del diámetro de las colonias \pm desviación estándar.

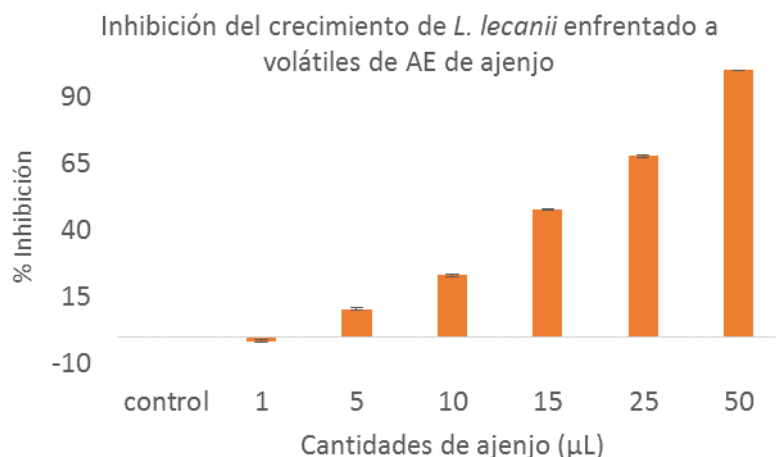


Figura 5: Porcentaje de inhibición del crecimiento de micelio de *L. lecanii* generado por los volátiles del AE de ajeno.

Conclusiones

- El AE de chirca podría ser utilizado como una herramienta en el control de mosca en conjunto con el LECAFOL® sin perjudicar el desarrollo de micelio del hongo.
- El AE de ajeno también podría ser utilizado en esquemas de manejo que contemplen los tiempos de crecimiento del hongo y la residualidad del AE.
- Como trabajo futuro deberán hacerse ensayos de compatibilidad por contacto directo del hongo con el AE y evaluar el efecto sobre la germinación de las esporas del mismo.

Referencias bibliográficas

- Alvarez-Castellanos, P., C. Bishop, and M. Pascual-Villalobos, *Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (Chrysanthemum coronarium) against agricultural pathogens*. *Phytochemistry*, 2001. **57**: p. 99-102.
- Paullier, J. and C. Folch, *Primer insecticida biológico formulado en Uruguay. Nueva herramienta de control de la mosca blanca*. *Revista INIA* 2012. **30**: p. 36-38.
- Umpiérrez, M.L., et al., *Essential oils from Asteraceae as potential biocontrol tools for tomato pests and diseases*. *Phytochemistry reviews*, 2012. **11**(4): p. 339-350.