

Estudio preliminar del efecto acaricida de seis extractos metanólicos sobre la araña bimaclada, *Tetranychus urticae* Koch

Preliminary study of the acaricidal effect of six methanolic extracts against two-spotted mite, Tetranychus urticae Koch

Víctor Tello Mercado^{1*}, Siulan Jacob Chung¹, Robinson Vargas Mesina²

RESUMEN

Se evaluó el efecto acaricida de seis extractos metanólicos elaborados a partir de ñaca (*Baccharis tola* Phil.), chana (*Chuquiraga atacamensis* O.K.), lampaya (*Lampaya medicilis* Phil.), kipa (*Fabiana densa* Remy), umatola [*Parastrephia lucida* (Meyen) Cabr.] y yareta (*Azorella compacta* Phil.) sobre la araña bimaclada, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) en condiciones de laboratorio. Las aplicaciones fueron de tipo directa y residual mediante el uso de una torre Potter. Los extractos de ñaca (2,5% p/v) y umatola (1,5% p/v) presentaron la mayor actividad acaricida por contacto directo, con 94% de mortalidad, mientras que para huevos los extractos de chana y yareta (ambos al 5% p/v) presentaron 100% de mortalidad. Los únicos extractos que presentaron una mortalidad superior al 50% por contacto residual fueron los de yareta y chana (ambos al 10% p/v). Todos los extractos presentaron un efecto repelente, el que fue disminuyendo en el tiempo, a excepción del extracto de kipa que mantuvo diferencias altamente significativas luego de las 72 horas postaplicación. El orden de susceptibilidad calculado mediante las CL₅₀ mediante el análisis Probits de mayor a menor es yareta>umatola>kipa>lampaya>ñaca>chana.

Palabras clave: toxicidad, repelencia, efecto ovicida, CL₅₀, CL₉₀.

ABSTRACT

Acaricide effect of six methanolic extracts prepared from Ñaca (Baccharis tola Phil.), Chana (Chuquiraga atacamensis OK.), Lampaya (Lampaya medicilis Phil.), Kipa (Fabiana densa Remy), Umatola [Parastrephia lucida (Meyen) Cabr.] and Yareta (Azorella compacta Phil.) was evaluated on two-spotted spider mite, Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae) under laboratory conditions. Applications were direct and residual type using a Potter spray tower. Ñaca (2.5% w/v) and Umatola (1.5% w/v) extracts showed the highest acaricidal activity by direct contact with a 94% mortality, whereas Yareta and Chana extracts (both at 5% w/v) showed 100% egg mortality. The only extracts that showed mortality greater than 50% by the residual contact were Yareta and Chana (both 10% w/v). All extracts showed a repellent effect which was decreasing over time, except for Kipa extract that remained differences highly significant after 72 hours post-application. The decreasing susceptibility order calculated using LC₅₀ through Probit analysis was yareta>umatilla>kipa>lampaya>ñaca>chana.

Key words: toxicity, repellency, ovicidal effect, LC₅₀, LC₉₀.

Introducción

La araña bimaclada, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es considerada uno de los fitoácaros más polífagos y una plaga clave para muchos cultivos (Roh *et al.*, 2011). Sus plantas hospederas (alrededor de 800 especies) comprenden hortalizas, frutales, maíz, algodón y una amplia gama de ornamentales (Migeon y Dorkeld, 2013). El daño provocado por este ácaro consiste en la remoción del contenido celular, quedando la célula

prácticamente vacía, con escaso contenido de material intracelular, dando un aspecto de hoja con puntuaciones cloróticas y bronceada, reduciendo el área de actividad fotosintética, causando la abscisión de las hojas y por último la muerte de la planta (Badawy *et al.*, 2010).

El control de *T. urticae* en ornamentales y en la mayoría de los cultivos se realiza casi exclusivamente con agroquímicos. Sin embargo, el mayor problema que se enfrenta con el control químico es su rápida habilidad para desarrollar resistencia, debido a alta

¹ Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Arturo Prat. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile.

² Centro Regional de Investigación La Cruz, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Casilla 3, La Cruz, Chile.

* Autor para correspondencia: victor.tello@unap.cl

fecundidad, endogamia, reproducción partenogenética (pseudoarrenotoquia) y un ciclo de vida muy corto que produce muchas generaciones por año (Van Leeuwen *et al.*, 2010). De hecho, el desarrollo de resistencia a acaricidas por parte de *T. urticae* está ampliamente demostrado a nivel mundial, donde los casos reportados superan los 200, incluyendo fenazaquin (Moghadam *et al.*, 2011); clorpirifós (Zamani *et al.*, 2014); abamectina (Memarizadeh *et al.*, 2013); incluyendo acaricidas de última generación como spiroticlofen que pertenece a la nueva familia de ácidos tetrónicos spirocíclicos (ketoenoles) (Demaeght *et al.*, 2013).

Los semioquímicos son candidatos promisorios para lograr un manejo de plagas amistoso con el medio ambiente (Roh *et al.*, 2011). Muchos metabolitos secundarios derivados de plantas son tóxicos contra *T. urticae* (Afify *et al.*, 2012). Extractos etanólicos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) fueron tóxicos contra adultos de *T. urticae* (Afify *et al.*, 2011). Aceite de *Santalum austrocaledonicum* (Santalaceae) produjo un efecto disuasivo de la oviposición en hembras de *T. urticae* (Roh *et al.*, 2011). Aceites esenciales de las mirtáceas *Callistemon viminalis*, *Eucalyptus bicostata*, *Eucalyptus maidenii*, *Eucalyptus sideroxylm* y *Eucalyptus approximans* incrementaron significativamente la mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* y disminuyeron el número total de huevos. Por otra parte *Callistemon sieberi*, *E. bicostata*, *E. ovata*, *E. sideroxylm*, *Eucalyptus mannifera*, *E. dives*, *E. elata*, *E. condonocarpa*, *Kunzea ericoides*, *Melaleuca armillaris* y *M. fulgens* demostraron un efecto repelente a este ácaro (Roh *et al.*, 2013). Por lo tanto, dentro de este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos acaricida y repelente de seis extractos metanólicos obtenidos a partir de plantas de la región cordillerana del norte de Chile sobre *T. urticae*.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Las plantas utilizadas en estudio fueron ñaca (*Baccharis tola* Phil.) (Asteraceae), chana (*Chuquiraga atacamensis* O.K.) (Asteraceae), umatola (*Parastrephia lucida* (Meyen) Cabr. (Asteraceae), kipa (*Fabiana densa* Remy) (Solanaceae), lampaya (*Lampaya medicinalis* Phil.) (Verbenaceae) y yareta (*Azorella compacta* Phil.) (Apiaceae). Estas plantas

fueron colectadas en las localidades de Colchane y Cariquima, Región de Tarapacá, Chile (19°16' Latitud Sur y 68°38' Longitud Oeste, 3.715 m s n m).

Obtención de los extractos metanólicos

Los extractos metanólicos fueron obtenidos a partir de la parte aérea de las plantas en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Salud, perteneciente a la Universidad Arturo Prat, Campus Playa Brava, Iquique, Chile. El secado de las plantas se realizó bajo sombra en un lugar fresco y aireado, luego fue pulverizado en un molino multiuso (Sindelen, L-2001, Chile), pesado (150-200 g) y extraído con 600 mL de metanol usando un equipo Soxhlet (manto calefactor marca Fisatom, Class 650 modelo 23, Brasil) por 12 horas aproximadamente. Finalizada la extracción se filtró y se eliminó el solvente en un rotavapor (marca Heidolph, modelo Laborota 4001, Alemania) a presión y temperatura reducida, obteniéndose aproximadamente 35 g de cada extracto.

Crianza de *Tetranychus urticae*

La crianza de *T. urticae* se realizó en las dependencias del Centro Regional de Investigación (CRI)-La Cruz, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Los ácaros fueron criados en laboratorio por varias generaciones antes de ser usados en los bioensayos, para asegurar su susceptibilidad. Las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* variedad Apolo) infestadas con ácaros se mantuvieron en una sala de crianza a 27±2 °C, 60-80% de HR y fotoperíodo de 16:8 L:O (luz: oscuridad, respectivamente). Las plantas se regaron cada dos días y las senescentes fueron remplazadas por plantas nuevas.

Ensayo de toxicidad por contacto directo en adultos

Todos los ensayos se realizaron en el laboratorio de toxicidad del CRI-La Cruz del INIA. Discos de hojas de poroto de 2 cm de diámetro fueron cortadas con un sacabocados y puestas en una placa Petri de 10 cm de diámetro con fondo de rejilla sobre una cama de algodón humedecido y cada una de ellas puestas en una bandeja sobre una esponja con agua para mantener la humedad y la turgencia de la hoja. Diez adultos fueron transferidos a cada disco de hoja

(metodología adaptada de Flores *et al.*, 2007). El escape de las arañas fue prevenido rodeando cada hoja con un pegamento (Point Sticky Glue®, Point Chile, SA). De acuerdo con pruebas preliminares se determinó las concentraciones a aplicar para cada extracto, ñaca: 2,5; 1,5; 1,0; 0,7; 0,45 y 0,25% p/v; chana: 1,5; 1,0; 0,7; 0,45 y 0,25% p/v; kipa: 1,5; 0,7; 0,4; 0,2 y 0,1% p/v; lampaya: 3,5; 1,5; 0,7; 0,4 y 0,15% p/v; umatola: 1,5; 0,7; 0,5; 0,3 y 0,15% p/v y yareta: 1,5; 0,7; 0,5; 0,25 y 0,1% p/v. Se evaluaron cuatro controles, uno correspondiente al metanol (99,8%), otro al agua para descartar la posible mortalidad por mojamiento, acaricida [180 mg de abamectina (Vertimec®) en 10 mL de agua] para validar el procedimiento y por último un control absoluto para descartar mortalidad por manipulación. Cada tratamiento fue asperjado con 2 mL de cada concentración mediante la utilización de una torre Potter (Makers Burkards Manufacturing Co Ltd., Rickmansworth, U.K.) con una presión de trabajo de 55 KPa y con un tiempo de asperjado de 5 segundos. Cada placa Petri fue puesta en cámara de crianza a 26 ± 2 °C, 55-60% HR y con un fotoperíodo de 16:8 L:O. La unidad experimental correspondió a un disco de hoja con 10 arañas hembras adultas, repitiéndose cada tratamiento cinco veces. Se cuantificó la mortalidad de *T. urticae* a las 24, 48 y 72 h después de la aplicación, considerando como muerto al ácaro que no mostraba actividad motora al ser tocado con una aguja de disección (Kim *et al.*, 2004).

Ensayo de toxicidad por contacto directo en huevos

Diez hembras adultas fueron transferidas a discos de hojas de poroto de 2 cm de diámetro siguiendo la misma metodología aplicada en el ensayo de toxicidad por contacto directo en adultos. Las hembras fueron dejadas por 4 horas para la oviposición, siendo removidas cuando al menos 20 huevos por disco fueron puestos. La unidad experimental correspondió a un disco de hoja con 10 huevecillos, repitiéndose cada tratamiento cinco veces. De acuerdo con pruebas preliminares se determinaron cinco concentraciones para cada extracto: 5; 3,5; 2,5; 1,5 y 0,7% p/v, evaluándose también cuatro controles, la única diferencia fue el control químico, que en este ensayo correspondió a 2 g de fenazaquin (Magister 20 SC®) en 10 mL de agua. Cada tratamiento fue asperjado con 2 mL

de cada concentración mediante la utilización de una torre Potter. Cada placa Petri fue puesta en cámara de crianza a 26 ± 2 °C, 55-60% HR y con un fotoperíodo de 16:8 L:O. Se realizó un conteo de los huevos no eclosionados cuando los controles (a excepción del acaricida) presentaron el 90% de los huevos eclosionados, aproximadamente al sexto día de la ovipostura y aplicación de los extractos.

Ensayo de toxicidad por contacto residual en adultos

Discos de hojas de frijol de 4 cm de diámetro fueron cortadas con un sacabocados y sumergidos en 2 mL de solución. Para cada extracto se evaluaron tres concentraciones, 5, 7 y 10% p/v, para el control se utilizó solo el solvente, metanol (99,8%). Luego de ser secados por 5 minutos a temperatura ambiente, cada disco fue trasladado a una placa Petri de 5 cm de diámetro sobre una cama de algodón mojado con 25 mL de agua para mantener la turgencia de las hojas, volviéndose a mojar cada vez que fue necesario. Se trasladaron 10 arañas a cada disco foliar y se dispusieron en cámara de crianza a 26 ± 2 °C, 55-60% HR y un fotoperíodo de 16:8 L:O. El escape de las arañas fue prevenido rodeando cada hoja con pegamento. La unidad experimental correspondió a un disco de hoja con 10 arañas hembras adultas, repitiéndose cada tratamiento cinco veces. La mortalidad se cuantificó a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación. El criterio de muerte se aplicó de acuerdo a Kim *et al.* (2004).

Ensayo de repelencia

Discos de hojas de poroto de 4 cm de diámetro fueron cortadas con un sacabocados procurando dejar la nervadura de la hoja al medio del disco foliar y puestos en una placa Petri de 10 cm de diámetro siguiendo la misma metodología de los ensayos anteriores. Con una lámina de papel aluminio (Aluza®) se cubrió la mitad del disco foliar. Mediante torre Potter se aplicaron 2 mL de los extractos. De acuerdo con pruebas preliminares, solo se aplicó una concentración correspondiente a 3% p/v. Se evaluaron dos controles, uno correspondiente al metanol (99,8%) y otro al agua, para descartar la posible mortalidad por mojamiento. Después de la aplicación de los extractos se retiró la lámina de papel aluminio, dejándose secar por 5 minutos, para luego depositar 10 arañas adultas en la

nervadura media del disco foliar. El efecto repelente fue calculado mediante el porcentaje de adultos que se mantuvieron fuera de la mitad aplicada, en tres períodos de evaluación: 24, 48 y 72 horas. La unidad experimental correspondió a un disco de hoja con 10 arañas hembras adultas, repitiéndose cada tratamiento cinco veces. Cada placa Petri fue puesta en cámara de crianza a 26 ± 2 °C, 55-60% HR y 16:8 L:O.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado para todos los ensayos fue completamente al azar. Se utilizó la fórmula de Abbot para corregir la mortalidad natural encontrada en el testigo (Abbot, 1925). La eficacia de los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de significancia de $\alpha=0,05$, previa normalización de los datos mediante la transformación raíz cuadrada del arcoseno del porcentaje ($\sqrt{x\%^{-1}}$), con el fin de asegurar una homogeneidad de varianzas. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$). En el ensayo de repelencia se realizaron pruebas de t-Student de medias pareadas ($\alpha=0,05$) para evaluar las diferencias entre ácaros encontrados en el lado aplicado y no aplicado (Lahlou, 2004) y

análisis de varianza (ANOVA), entre tratamientos. La separación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Concentraciones letales

Para calcular las CL_{50} y CL_{90} , y las pendientes de las regresiones entre mortalidad (probit) y concentración (log) se utilizó el procedimiento PROC PROBIT disponible en el programa computacional SAS (SAS Institute Inc., Cary NC, USA).

Resultados y Discusión

Ensayo de toxicidad por contacto directo en adultos

De los 31 tratamientos aplicados, 16 causaron mortalidades superiores al 50%. Estos fueron elegidos para presentarlos en la Tabla 1, ya que según Broussalis *et al.* (1998), un valor sobre el 50% de mortalidad es considerado promisorio en estudios de la actividad plaguicida en extractos de plantas. En la Tabla 1 se muestra claramente que existen diferencias significativas entre los tratamientos a las 24 h ($F_{17;72}=27,47$; $P<0,0001$), 48 h ($F_{19;80}=21,35$; $P<0,0001$) y 72 h ($F_{19;80}=19,90$; $P<0,0001$).

Tabla 1. Mortalidad (%media \pm error estándar) de adultos de *Tetranychus urticae* expuestos a distintas concentraciones de los extractos evaluados mediante aplicación directa, observaciones realizadas a las 24, 48 y 72 h (n=50).

Tratamiento	24 h	48 h	72 h
	% (media \pm E.E.)		
C. Acaricida	1,00 \pm 0,00 a	1,00 \pm 0,00 a	1,00 \pm 0,00 a
Ñaca 2,5%	0,94 \pm 0,02 ab	0,94 \pm 0,02 abc	0,94 \pm 0,02 abc
Umatola 1,5%	0,94 \pm 0,06 ab	0,94 \pm 0,06 ab	0,94 \pm 0,06 ab
Chana 1,5%	0,88 \pm 0,05 abcd	0,88 \pm 0,05 abcd	0,94 \pm 0,02 abc
Lampaya 3,5%	0,88 \pm 0,05 abcd	0,88 \pm 0,05 abcd	0,88 \pm 0,05 abcd
Kipa 1,5%	0,88 \pm 0,06 abc	0,88 \pm 0,06 abcd	0,88 \pm 0,06 abcd
Yareta 1,5%	0,84 \pm 0,05 abcd	0,84 \pm 0,05 abcd	0,88 \pm 0,04 abcd
Ñaca 1,5%	0,82 \pm 0,04 abcd	0,86 \pm 0,05 abcd	0,86 \pm 0,05 abcd
Yareta 0,7%	0,82 \pm 0,04 abcd	0,84 \pm 0,05 abcd	0,88 \pm 0,05 abcd
Lampaya 1,5%	0,74 \pm 0,06 bcd	0,78 \pm 0,04 abcd	0,80 \pm 0,03 abcd
Umatola 0,7%	0,70 \pm 0,14 abcd	0,70 \pm 0,14 abcd	0,70 \pm 0,14 abcd
Kipa 0,7%	0,70 \pm 0,09 bcd	0,72 \pm 0,11 abcd	0,72 \pm 0,11 abcd
Chana 1%	0,60 \pm 0,10 cd	0,64 \pm 0,10 bcd	0,64 \pm 0,10 bcd
Ñaca 1%	0,52 \pm 0,04 cd	0,54 \pm 0,12 d	0,54 \pm 0,12 d
Umatola 0,5%	0,52 \pm 0,10 d	0,60 \pm 0,09 cd	0,60 \pm 0,09 cd
Metanol	0,02 \pm 0,02 e	0,02 \pm 0,02 e	0,02 \pm 0,02 e
C. agua	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e
C. absoluto	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e

¹Medias con distinta letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P<0,05$). ²E.E.: Error estándar.

El control acaricida fue significativamente diferente a todos los demás controles y estos al resto de los tratamientos. La exposición a los extractos por 48 y 72 horas fue significativamente superior a la exposición por 24 horas. Tal como señalan Pamo *et al.* (2004) en su estudio, la mortalidad aumenta a medida que se amplía la dosis así como también el transcurso del tiempo (días), esto debido a que los plaguicidas botánicos presentan una velocidad de acción más lenta en comparación con los insecticidas sintéticos. Mientras que los controles en los tres períodos de evaluación mantuvieron sus porcentajes de mortalidad.

Ñaca, umatula y chana pertenecen a la familia botánica Asteraceae, la que ha sido repetidamente reportada por poseer compuestos insecticidas. Esta familia es filogenéticamente joven y se caracteriza por su gran diversidad fitoquímica rica en metabolitos secundarios como terpenoides, flavonoides, ácidos cafeicos, ésteres y alcaloides (Tripathi *et al.*, 2000). Compuestos que probablemente estén presentes en estas plantas y por ende extractos, los cuales les proporciona esta actividad acaricida. Zhang *et al.* (2008) mostraron que extractos acetónicos de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) a una concentración de 5 mg mL⁻¹ fueron altamente tóxicos contra el ácaro *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval, causando una mortalidad del 100% a las 48 h después de aplicado el extracto.

Ensayo de toxicidad por contacto directo en huevos

En la Tabla 2 se presentan los tratamientos que generaron una mortalidad en huevos de *T. urticae* superiores al 50%. Los tratamientos mostraron diferencias significativas ($F_{19,64}=81,22$; $P<0,0001$). Los extractos con mayor mortalidad y por ende los que presentaron mayor efecto ovicida fueron los extractos de chana y yareta (5% p/v), cuyos valores de mortalidad fueron estadísticamente iguales al control químico. El resto de los controles fueron significativamente diferentes a los tratamientos.

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Amizadeh *et al.* (2013), quienes mostraron que aceites esenciales extraídos de hojas de *Eucalyptus microtheca* F. Muell. (Myrtaceae) y *Salvia sahendica* Boiss. & Buhse (Lamiaceae) tuvieron una acción tóxica sobre huevos de *T. urticae*.

Tabla 2. Mortalidad (%media ± error estándar) de huevos de *Tetranychus urticae* no eclosionados expuestos a distintas concentraciones de los extractos evaluados mediante aplicación directa (n=50).

Tratamiento	% (media ± E.E.) ¹
C. Acaricida	100,00±0,00 a
Chana 5%	100,00±0,00 a
Yareta 5%	94,00±0,04 a
Chana 3,5%	81,00±0,04 b
Umatola 5%	73,00±0,03 bc
Yareta 3,5%	69,00±0,04 bc
Ñaca 5%	67,00 ±0,06 bc
Yareta 2,5%	66,00±0,04 bc
Kipa 5%	66,00±0,04 bc
Lampaya 5%	64,00±0,04 bc
Umatola 3,5%	60,00±0,04 bc
Ñaca 3,5%	56,00±0,07 c
Chana 2,5%	55,00±0,07 c
Metanol	2,00±0,01 d
C. agua	2,00±0,01 d
C. absoluto	0,00±0,00 d

¹Medias con distinta letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P<0,05$).

²E.E.: Error estándar.

Ensayo de toxicidad por contacto residual en adultos

Los tratamientos presentaron diferencias significativas a las 24 h ($F_{19,80}=9,07$; $P<0,0001$), 48 h ($F_{19,80}=7,51$; $P<0,0001$) y 72 h ($F_{19,80}=6,56$; $P<0,0001$). En la Tabla 3 se observa que la mayoría de los extractos, en sus concentraciones evaluadas, no tienen efectos acaricidas por contacto residual, presentando mortalidades menores a 40%, a excepción de la yareta y chana al 10%, que presentan una mortalidad superior al 50% en los tres períodos de evaluación (24, 48 y 72 h) Ambos extractos presentan esta mortalidad en las concentraciones más altas evaluadas (correspondiente a 100.000 ppm), siendo esta cantidad comercialmente poco viable, ya que se necesitarían excesivas cantidades de material vegetal para la elaboración de los extractos. La toxicidad directa es siempre más alta que la toxicidad residual sobre todos los estados de *T. urticae*, según Vargas *et al.* (2001).

Nuestros resultados coinciden con los de Laborda *et al.* (2013), quienes encontraron una marcada reducción de la mortalidad cuando aplicaron aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Salvia officinalis*, forma residual sobre hembras adultas de *T. urticae* comparado con las aplicaciones por contacto directo.

Tabla 3. Mortalidad (%media \pm error estándar) de adultos de *Tetranychus urticae* expuestos a distintas concentraciones de los extractos evaluados mediante aplicación residual, observaciones realizadas en tres períodos (24, 48 y 72 h) (n=50).

Tratamiento	% Media \pm E.E. ²		
	24 h	48 h	72 h
Yareta 10%	68,00 \pm 0,07 a	68,00 \pm 0,07 a	68,00 \pm 0,07 a
Chana 10%	54,00 \pm 0,10 ab	54,00 \pm 0,10 ab	55,00 \pm 0,08 ab
Chana 7%	36,00 \pm 0,02 abc	39,00 \pm 0,03 abc	39,00 \pm 0,03 abc
Yareta 7%	36,00 \pm 0,02 abc	37,00 \pm 0,04 abc	41,00 \pm 0,08 abc
Umatola 10%	26,00 \pm 0,05 abcd	28,00 \pm 0,08 abcd	28,00 \pm 0,08 abcd
Yareta 5%	24,00 \pm 0,02 bcd	24,00 \pm 0,04 abcde	26,00 \pm 0,04 abcd
Lampaya 10%	23,00 \pm 0,07 bcde	23,00 \pm 0,09 bcde	23,00 \pm 0,08 bcde
Ñaca 10%	20,00 \pm 0,07 bcde	23,00 \pm 0,09 bcde	23,00 \pm 0,09 bcde
Chana 5%	14,00 \pm 0,07 cde	14,00 \pm 0,07 cde	14,00 \pm 0,07 cde
Kipa 10%	14,00 \pm 0,05 cde	16,00 \pm 0,05 bcde	20,00 \pm 0,06 bcde
Lampaya 5%	12,00 \pm 0,10 cde	12,00 \pm 0,04 cde	18,00 \pm 0,09 bcde
Kipa 5%	10,00 \pm 0,06 cde	11,00 \pm 0,07 cde	19,00 \pm 0,07 bcde
Umatola 7%	8,00 \pm 0,04 cde	8,00 \pm 0,02 cde	10,00 \pm 0,03 cde
Kipa 7%	6,00 \pm 0,02 cde	6,00 \pm 0,02 cde	12,00 \pm 0,06 cde
Umatola 5%	6,00 \pm 0,02 cde	6,00 \pm 0,02 cde	6,00 \pm 0,02 cde
Lampaya 7%	4,00 \pm 0,04 de	8,00 \pm 0,05 cde	12,00 \pm 0,04 cde
Metanol	4,00 \pm 0,04 de	4,00 \pm 0,04 de	6,00 \pm 0,06 de
Ñaca 7%	2,00 \pm 0,02 de	10,00 \pm 0,06 cde	10,00 \pm 0,04 cde
Ñaca 5%	2,00 \pm 0,02 de	2,00 \pm 0,02 de	2,00 \pm 0,02 de
Control	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e	0,00 \pm 0,00 e

¹Medias con distinta letra dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey (P<0,05). ²E.E.: Error estándar.

Tabla 4. Actividad repelente (% media \pm error estándar) de los extractos evaluados sobre *Tetranychus urticae* en tres períodos de evaluación (24, 48 y 72 h) (n = 50).

Tratamiento	24 h		48 h		72 h	
	No tratado ²	Tratado ²	No tratado ²	Tratado ²	No tratado ²	Tratado ²
	% Media \pm Error Estándar					
Control agua ¹	0,54 \pm 0,14 a AB	0,46 \pm 0,14 a AB	0,54 \pm 0,12 a AB	0,46 \pm 0,12 a AB	0,56 \pm 0,12 a AB	0,44 \pm 0,12 a AB
Metanol ¹	0,52 \pm 0,07 a B	0,48 \pm 0,07 a A	0,52 \pm 0,07 a B	0,48 \pm 0,07 a A	0,40 \pm 0,14 a B	0,60 \pm 0,14 a A
Chana 3% ¹	0,88 \pm 0,04 a AB	0,12 \pm 0,04 b AB	0,84 \pm 0,05 a AB	0,16 \pm 0,05 b AB	0,80 \pm 0,09 a AB	0,20 \pm 0,09 b AB
Ñaca 3% ¹	0,94 \pm 0,04 a A	0,06 \pm 0,04 b B	0,90 \pm 0,03 a AB	0,10 \pm 0,03 b AB	0,84 \pm 0,06 a AB	0,16 \pm 0,06 b AB
Lampaya 3% ¹	0,94 \pm 0,02 a A	0,06 \pm 0,02 b B	0,80 \pm 0,08 a AB	0,20 \pm 0,08 b AB	0,66 \pm 0,08 a AB	0,34 \pm 0,08 a AB
Kipa 3% ¹	0,88 \pm 0,04 a AB	0,12 \pm 0,04 b AB	0,88 \pm 0,04 a AB	0,12 \pm 0,04 b AB	0,88 \pm 0,04 a A	0,12 \pm 0,04 b B
Umatola 3% ¹	0,90 \pm 0,06 a A	0,10 \pm 0,06 b B	0,90 \pm 0,06 a A	0,10 \pm 0,06 b B	0,88 \pm 0,06 a A	0,12 \pm 0,06 b B
Yareta 3% ¹	0,84 \pm 0,08 a AB	0,16 \pm 0,08 b AB	0,84 \pm 0,07 a AB	0,16 \pm 0,07 b AB	0,82 \pm 0,07 a AB	0,18 \pm 0,07 b AB

¹Medias con distinta letra minúscula entre lado tratado y no tratado son estadísticamente diferentes según prueba t-Student (P<0,05).

²Medias con distinta letra mayúscula en la misma columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey (P<0,05).

Ensayo de repelencia

En la evaluación realizada a las 24 horas cada uno de los extractos tiene un efecto repelente sobre *T. urticae*, a diferencia de los controles metanol ($t_{(8)}=-0,44$; $P=0,6730$) y agua ($t_{(8)}=-0,67$; $P=0,5206$), donde no existen diferencias significativas entre el lado tratado y no tratado de la hoja. Los extractos de chana ($t_{(8)}=-7,87$; $P<0,0001$), kipa ($t_{(8)}=-7,87$;

$P<0,0001$), lampaya ($t_{(8)}=-10,63$; $P<0,0001$) y ñaca ($t_{(8)}=-9$; $P<0,0001$) presentan diferencias altamente significativas entre los lados tratados y no tratados. Siendo el extracto de ñaca y lampaya los que presentaron mayores porcentajes de individuos en el lado no tratado de la hoja, con tan solo 6%, es indicativo que tienen un mayor efecto repelente. Mientras que las diferencias entre los lados tratados y no tratados de los extractos de yareta y umatola ($t_{(8)}=-4,65$;

$P < 0,05$ y $t_{(8)} = -6,32$; $P < 0,05$; respectivamente) fueron solo significativas. Los ácaros se agregaron mayoritariamente en la parte no tratada, luego de las 24 horas, posteriormente ellos comenzaron a distribuirse en ambos lados, tratados y no tratados. En la evaluación de las 48 horas los extractos de kipa ($t_{(8)} = -7,87$; $P < 0,0001$) y Ñaca ($t_{(8)} = -9,23$; $P < 0,0001$) mantuvieron su efecto repelente con diferencias altamente significativas entre ambos lados. Para el resto de los extractos también se encontraron diferencias significativas [(chana: $t_{(8)} = -5,93$; $P < 0,001$), (umatola: $t_{(8)} = -6,32$; $P < 0,0001$) y (yareta: $t_{(8)} = -5,42$; $P < 0,001$)]. El extracto de lampaya presentó el mayor porcentaje de individuos en el lado tratado ($t_{(8)} = -3,88$; $P < 0,05$). Al igual que en el período de evaluación de 24 horas los controles a las 48 y 72 no presentan diferencias entre los lados tratados y no tratados, siendo el desplazamiento uniforme por toda la hoja [(agua 48 h: $t_{(8)} = -0,77$; $P = 0,4649$; 72 h: $t_{(8)} = -0,94$; $P = 0,3762$), (metanol 48 h: $t_{(8)} = 1,04$; $P = 0,3294$; 72 h: $t_{(8)} = -0,44$; $P = 0,6730$)]. El extracto de lampaya, en este período de evaluación, no presentó diferencias significativas entre los lados ($t = -2,71$; $g.l. = 8$; $P < 0,0268$), perdiendo la actividad repelente demostrada a las 24 horas.

Propiedades repelentes de algunos extractos probablemente juegan un rol importante en su efecto tóxico en hembras de *T. urticae*. Es importante destacar que las hembras comienzan a oviponer en ambos lados luego de 48 horas, si bien es cierto, el número de huevos es significativamente alto en el control agua ($t = -0,94$; $g.l. = 8$; $P = 0,3762$) y control metanol ($t = 1,04$; $g.l. = 8$; $P = 0,3294$) en relación con el resto de los extractos, pero aun así las hembras prefieren los lados no aplicados para alimentarse y oviponer (datos no mostrados).

Roh *et al.* (2013) demostraron el efecto repelente de los aceites esenciales de las mirtáceas *Callistemon sieberi*, *Eucalyptus bicostata*, *E. ovata*, *E. sideroxylm*, *E. mannifera*, *E. dives*, *E. elata*, *E. condonocarpa*, *Kunzea ericoides*, *Melaleuca armillaris* y *M. fulgens* sobre *T. urticae*. Análisis espectroscópicos de cromatografía de masa revelaron que los principales componentes de *E. bicostata* y *E. sideroxylon* fueron 1,8-cineol, limoneno, and α -pineno. Estos terpenos mostraron efectos repelentes significativos sobre los ácaros, resultando en un número reducido de huevos en las zonas tratadas.

Concentraciones letales para cada extracto metanólico

Los adultos de *T. urticae* fueron más suseptibles al extracto de yareta con una concentración letal más baja en comparación con el resto de los extractos evaluados, mientras que la menor sensibilidad la presentó el extracto de chana (Tabla 5). Las ecuaciones de las rectas de regresión fueron: chana: $y = 0,67 + 3,15x$; ñaca: $y = 0,53 + 1,98x$; lampaya: $y = 0,51 + 1,61x$; kipa: $0,75 + 1,89x$; umatola: $y = 1,04 + 2,50x$ y yareta: $y = 0,96 + 1,90x$. De acuerdo con el análisis de las CL_{50} podemos aseverar que *T. urticae* presentó una susceptibilidad, de forma decreciente, a: yareta > umatola > kipa > lampaya > ñaca > chana. A nivel de CL_{50} , el extracto de chana no presentó traslape con los IC de los extractos de kipa y umatola, existiendo diferencias entre ellos. Mientras que en la CL_{90} solo hubo diferencias entre los extractos de ñaca y kipa.

Yang *et al.* (2007) determinaron el efecto acaricida contra *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) del extracto etanólico de *Boenninghausenia sessilicarpa*

Tabla 5. Concentraciones letales ($CL_{50, 90}$ en % p/v) para cada uno de los extractos evaluados estimado por Análisis Probit sobre poblaciones de adultos de *T. urticae* (n=250).

Tratamiento	CL_{50}^1	IC 95% ²	CL_{90}	IC 95% ²	Pendiente		
					\pm E.E. ³	$(\chi^2)^4$	GI ⁵
Chana	0,65 b	0,49-0,84	1,64 ab	1,16-3,59	3,15 \pm 0,43	52,35	1
Ñaca	0,61 ab	0,30-0,97	2,71 ac	1,47-26,15	1,98 \pm 0,45	19,79	1
Lampaya	0,52 ab	0,43-0,62	3,30 ab	2,44-5,07	1,61 \pm 0,17	93,34	1
Kipa	0,40 ac	0,34-0,47	1,90 b	1,44-2,73	1,89 \pm 0,17	131,07	1
Umatola	0,39 ac	0,35-0,44	1,28 ab	1,06-1,65	2,5 \pm 0,22	132,21	1
Yareta	0,32 ab	0,10-0,66	1,52 ab	0,72-65,95	1,90 \pm 0,43	19,12	1

¹Las concentraciones letales ($CL_{50,90}$) seguidas de letras iguales no son significativamente diferentes, basado en que los IC al 95% se traslapan. ²IC: intervalos de confianza; ³E.E.: error estándar de la media; ⁴(χ^2): chi cuadrado; ⁵GI: grados de libertad.

(Rutaceae) (sesquiterpenoides y monoterpenoides, principalmente) obteniendo una CL_{50} en hembras adultas con $1,1033 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (0,11% p/v).

Los acaricidas sintéticos normalmente contienen un único ingrediente activo, sin embargo, al igual que otros extractos y aceites vegetales, las especies evaluadas en este estudio presentan una mezcla compleja de compuestos. Estos constituyentes ejercerían una amplia gama de efectos fisiológicos y de comportamiento sobre *T. urticae*, por lo que es difícil que desarrollen resistencia en contra de estos compuestos.

Conclusiones

Los extractos de ñaca (2,5% p/v) y umatola (1,5% p/v) presentaron la mayor actividad acaricida por contacto directo con 94% de mortalidad, mientras que para huevos los extractos de chana y yareta (ambas al 5% p/v) presentaron 100% de mortalidad. Los únicos extractos que presentaron una mortalidad

superior al 50% por contacto residual fueron los de yareta y chana (ambos al 10% p/v). Todos los extractos presentaron un efecto repelente, el que fue disminuyendo en el tiempo, a excepción del extracto de kipa que mantuvo diferencias altamente significativas luego de las 72 horas postaplicación. El orden de susceptibilidad calculado mediante las CL_{50} a través del análisis Probits de mayor a menor es yareta>umatola>kipa>lampaya>ñaca>chana. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican el valor acaricida de los extractos evaluados bajo condiciones de laboratorio exclusivamente, y su posible uso para el control de *T. urticae*. Al ser esta investigación un estudio preliminar de los efectos letales y subletales de los extractos de estas plantas altoandinas del norte de Chile, se requiere una mayor dilucidación de los grupos funcionales de las sustancias químicas presentes en los extractos evaluados, mediante una cromatografía de gases, que favorezcan la explicación de los resultados obtenidos.

Literatura Citada

- Abbot, W.S.
1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Afify, A.E.-M.M.R.; El-Beltagi, H.S.; Fayed, S.A.; Shalaby, E.A.
2011. Acaricidal activity of different extracts from *Syzygium cumini* L. Skeels (Pomposia) against *Tetranychus urticae* Koch. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1 (5): 359-364.
- Afify, A.E.-M.M.R.; Ali, F.S.; Turky, T. AF.
2012. Control of *Tetranychus urticae* Koch by extracts of three essential oils of chamomile, marjoram and *Eucalyptus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (1): 24-30.
- Amizadeh, M.; Hejazi, M.J.; Saryazdi, G.A.
2013. Fumigant toxicity of some essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 39 (4): 285-289.
- Badawy, M.E.; El-Arami, S.A.; Abdelgaleil, S.A.
2010. Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 52: 261-274.
- Broussalis, A.; Ferraro, G.; Martino, V.; Pinzón, R.; Coussio, J.; Calle, J.
1999. Argentine plants as potential source of insecticidal compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 219-223.
- Demaeght, P.; Dermauw, W.; Tsakireli, D.; Khajehali, J.; Nauen, R.; Tirry, L.; Vontas, J.; Lümmen, P.; Leeuwen, Van
2013. Molecular analysis of resistance to acaricidal spirocyclic tetrone acids in *Tetranychus urticae*: CYP392E10 metabolizes spirodiclofen, but not its corresponding enol. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43 (6): 544-554.
- Flores, A.; Silva, G.; Tapia, M.; Casals, P.
2007. Susceptibility of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) collected in *Primula obconica* Hance and *Convolvulus arvensis* L. to acaricides. *Agricultura Técnica (Chile)*, 67 (2): 219-224.
- Kim, Y.J.; Lee, S.H.; Lee, S.W.; Ahn, Y.J.
2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science*, 60 (10): 1001-1006.
- Laborda, R.; Manzano, I.; Gamón, M.; Gavidia, I.; Pérez-Bermúdez, P.; Boluda, R.
2013. Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 48: 106-110.
- Lahlou, M.
2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.
- Memarizadeh, N.; Ghadamyari, M.; Zamani, P.; Sajedi, R.H.
2013. Resistance mechanisms to abamectin in Iranian populations of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Acarologia*, 53 (3): 235-246.
- Migeon, A.; Dorkeld, F.
2013. Spider Mites Web: a Comprehensive Database for the Tetranychidae <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>. Consultado: 14/02/2014.
- Moghadam, M.M.; Ghadamyari, M.; Talebi, K.
2011. Resistance mechanisms to fenazaquin in Iranian populations of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 38 (2): 138-145.

- Pamo, T.E.; Tendonkeng, F.; Kana, J.R.; Tenekeu, G.; Taponjhou, L.A.; Payne, V.K.
 2004. The Acaricidal effect of the esencial oil of *Ageratum houstonianum* Mill. Flowers on ticks (*Rhipicephalus lunulatus*) in Cameroon. *South African Journal of Animal Science*, 34 (1): 244-247.
- Roh, H.S.; Lim, E.G.; Kim, J.; Park, Ch.G.
 2011. Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J Pest Sci.* 84: 495-501.
- Roh, H.S.; Lee, B.H.; Park, C.G.
 2013. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 16 (3): 245-249.
- Tripathi, A.K.; Prajapati, V.; Aggarwal, K.K.; Khanuja, S.P.S.; Kumar, S.
 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 93 (1): 43-47.
- Van Leeuwen, Vontas, J.; Tsagkarakou, A.; Dermauw, W.; Tirry, L.
 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40: 563-572.
- Vargas, R.; Chapman, B.; D. Penman
 2001. Toxicity of thuringiensin on immature and adult stages of *Tetranychus urticae* Koch. and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarina: Tetranychidae). *Agricultura Técnica*, 61 (1): 3-14.
- Yang, Q.Y.; Tian, X.Y.; Fang, W.S.
 2007. Bioactive coumarins from *Boenninghausenia sessilicarpa*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 9 (1): 59-65.
- Zamani, P.; Sajedi, R.H.; Ghadamyari, M.; Memarizadeh, N.
 2014. Resistance mechanisms to chlorpyrifos in Iranian populations of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 277-289.
- Zhang, Y-Q.; Ding, W.; Zhao, Z.M.; Wu, J.; Fan, Y.H.
 2008. Studies on acaricidal bioactivities of *Artemisia annua* L. extracts against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). *Agricultural Sciences in China*, 7 (5): 577-584.

