

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE
VALPARAISO**

Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas

Instituto de Química

**Desarrollo de Formulaciones de Pesticidas Botánicos y
su Utilización en el Control de Plagas de Importancia
Para la V Región**

Tesis Para Optar al Grado de Licenciado en Química y Químico Industrial

Por :

Carolina Valero Godoy

Profesor Guía : Gonzalo Buono-Core Varas

2002

1 Aspectos teóricos

1.1 Introducción

1.2 Los plaguicidas. ⁽¹⁾ ⁽³⁾

Los pesticidas ayudan a combatir los daños causados por las plagas y son muy beneficiosos. Sin ellos no se podría haber dado el gran aumento de producción de alimentos de la llamada "revolución verde" que ha permitido alimentar, cada vez mejor, a una población mundial que ha ido creciendo continuamente. El uso de pesticidas se multiplicó de 1950 a 1986. Los países en vías de desarrollo también los han ido empleando cada vez más y en la actualidad, consumen la cuarta parte de este tipo de productos.

Otra importante utilidad de los pesticidas ha sido la lucha contra epidemias, como el tifus o la malaria, transmitidas por insectos u otros parásitos humanos, pero gracias a los pesticidas, han disminuido de forma muy importante. Aunque los pesticidas tienen también sus riesgos. Si acaban con las plagas es porque son sustancias tóxicas, y su uso excesivo e inapropiado puede causar contaminación, tanto del ambiente como de los mismos alimentos y en algunos casos, daños en la salud.

La llamada resistencia genética se produce porque entre los muchos individuos que componen la población de una plaga algunos poseen genes que hacen que el pesticida no sea tóxico para ellos y estos individuos soporten la acción del pesticida sin morir. Son precisamente estos que no han muerto los que tienen descendencia y forman las nuevas poblaciones de la plaga que heredan el gen de resistencia y la acción del pesticida contra ellas será mucho menor. Como en los insectos y en general en los organismos de las plagas, las generaciones se suceden unas a otras con rapidez y el tamaño de las poblaciones es muy grande, la resistencia genética se extiende en unos pocos años.

Otro de los principales problemas asociados al uso de pesticidas es el que estos matan, no solo a la plaga, sino también a otros insectos beneficiosos como abejas u otros organismos. De esta forma pueden hacer desaparecer a los enemigos naturales de la

plaga o provocar que estos se trasladen a otros lugares porque ya no encuentra alimento en ese campo y después de un breve periodo, la población de la plaga rebrota y además en mayor cantidad que antes al no tener enemigos naturales.

Algunos pesticidas tienen estructuras químicas muy estables y tardan años en descomponerse a formas menos tóxicas. En las zonas en las que se aplican estas sustancias las concentraciones del insecticida son cada vez mayores y aunque haya pasado tiempo desde la última aplicación el pesticida seguirá presente impregnándolo todo.

En muchos casos estos productos son, además, difíciles de eliminar por los organismos porque son poco solubles en agua y tienden a acumularse en los tejidos grasos. Cuando un organismo se alimenta de otro el pesticida se va acumulando en mayores proporciones en los tramos finales de la cadena trófica. De esta forma un pesticida que se encuentra en concentraciones muy bajas, nada peligrosas, en un bosque o un lago, termina estando en concentraciones decenas o cientos de veces más altas en los tejidos grasos de los animales, como aves rapaces o peces o mamíferos depredadores que están situados en lo más alto de la cadena trófica.

1.3 Tipos de plaguicidas.

Los pesticidas son productos que matan al organismo tratado y se diferencian según el organismo al que afectan clasificándose en: ⁽⁹⁾

Acaricidas (ácaros)

Insecticidas (insectos)

Molusquicidas (moluscos)

Nematicidas (nemátodos)

Rodenticidas (roedores)

Fumigantes (amplia acción)

Fungicidas (hongos)

Bactericidas (bacterias)

Viricidas (virus)

Herbicidas (malezas)

Los insecticidas pueden clasificarse también según su lugar de ataque: ⁽⁹⁾

Sistema nervioso

Formación de la cutícula

Imitadores de hormonas

Feromónas

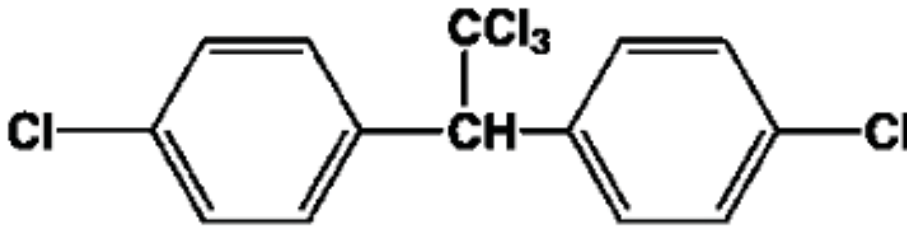
Los insectos son los que más plagas ocasionan. Escarabajos, orugas, moscas, mosquitos y muchos otros tipos de insectos causan grandes daños en las cosechas y transmiten enfermedades. Más de la mitad de los pesticidas son del grupo de los insecticidas. ⁽¹⁾

Desde hace milenios los hombres utilizan sustancias como cenizas, azufre, compuestos arsenicales, tabaco molido, cianuro de hidrógeno, compuestos de mercurio, zinc y plomo, etc., para luchar contra los insectos. Forman el grupo de los llamados insecticidas de la 1ª generación. Son productos en general muy tóxicos, poco efectivos en la lucha contra la plaga y muy persistentes en el ambiente (hasta 50 años). Hoy día se usan muy poco y muchos de ellos están incluso prohibidos por su excesiva toxicidad. ⁽¹⁾

Los avances de la ciencia y de la industria química hicieron posible la aparición de mejores insecticidas que se suelen denominar de la 2ª generación. Son un variado conjunto de moléculas que se clasifican en grupos según su estructura química. Las tres familias más importantes son los organoclorados (clorocarbonados), los organofosfatos y los carbamatos. ⁽¹⁾

Al principio de la II Guerra Mundial (1940), se inició la Era Química con la introducción de un concepto totalmente nuevo de químicos para el control de insectos: insecticidas sintéticos orgánicos, que eran muy tóxicos para los insectos, siendo el primero y el más conocido el DDT (Figura N° 1) (compuesto organoclorado). ⁽⁴⁾

Figura N° 1: Compuesto organoclorado; Diclorodifeniltricloroetano (DDT).

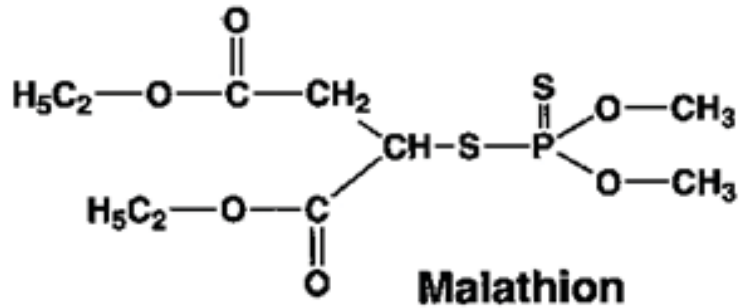


Gracias a este se pudo controlar químicamente muchas plagas; pero es la responsabilidad de algunas de estas sustancias químicas la acumulación en cadenas tróficas, la disminución de la fertilidad humana, la capacidad de resistencia de algunos insectos, e incluso, la pérdida de inteligencia en nuestra especie. Muchos de estos productos han tenido, también, efectos ambientales negativos debido a su persistencia. El DDT y otros pesticidas son contaminantes importantes que intoxican a los seres vivos impidiendo o dificultando su reproducción, como ha sucedido con las aves rapaces. ⁽¹⁾

Posteriormente aparecieron como insecticidas los compuestos organofosforados, carbamatos y piretroides. ⁽⁴⁾

Los organofosforados poseen dos rasgos distintivos: generalmente son mucho más tóxicos para los vertebrados que otras clases de insecticidas, y son químicamente inestables o no persistentes. Es esta última característica la que los trajo al uso agrícola como suplentes de los compuestos organoclorados. ⁽⁴⁾

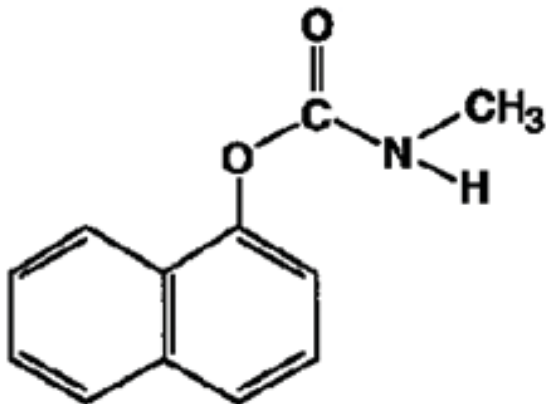
Figura N° 2: Compuesto organofosforado; o,o-dimetil fosforo dotioate de dietil mercapto succinato (Malatión).



Los carbamatos tienen un modo de acción similar a los organofosforados que es principalmente de intoxicar el sistema nervioso central del insecto.

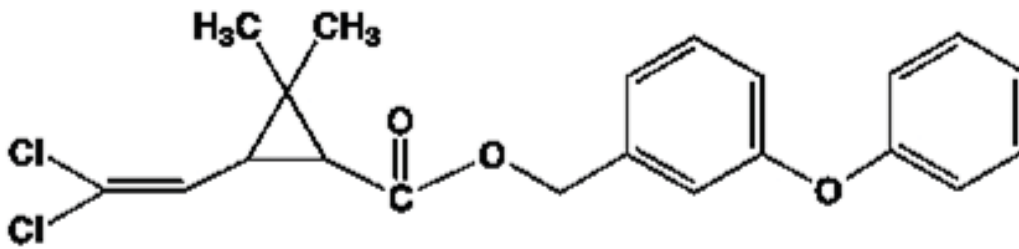
Presentan dos cualidades que lo han hecho el más popular: su baja toxicidad oral y dérmica en mamíferos y el amplio control de insectos. ⁽⁴⁾

Figura N° 3: Familia de los carbamatos; 1-naftil-N-metil carbamato (Carbaril).



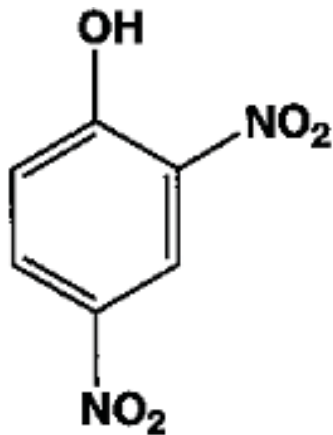
Las piretrinas no se han usado mucho para el sector agrícola, debido a su costo e inestabilidad a la luz solar. Han estado disponible muchos piretroides sintéticos, que son más estables a la luz solar y son más eficaces a bajas concentraciones.

Figura N°4: Familia de las piretrinas; 3-fenoxibencil-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil ciclopropanocarboxilato (Permetrin).



Otros tipos de compuestos usados son los dinitrofenoles, que tienen un alto rango de toxicidad como insecticida, herbicida y fungicida. Su uso fue eliminado debido a su toxicidad inherente. ⁽⁴⁾

Figura N° 5: Familia de los dinitrofenoles, 2,4-Dinitrofenol.



Podemos encontrar también insecticidas botánicos, que son de gran interés debido a que son insecticidas naturales derivados de plantas. Históricamente los compuestos de las plantas han estado en mayor uso que cualquier otro grupo, con la excepción del azufre. El tabaco Piretrinas, Alcanfor y Trementina son algunos productos de las plantas más importantes. ⁽⁴⁾

Las Piretrinas es ahora el insecticida botánico de mayor importancia que se usa, las cuales se extraen de flores que pertenecen al género *Chrysanthemum*. Actúan sobre el sistema nervioso central causando parálisis inmediata (efecto Knock-down) en insectos.

(4)

Los ingredientes activos de estos insecticidas son altamente biodegradables pero precisan de sinergistas (compuestos que potencian la acción del insecticida). (4)

1.4 Efecto sinérgico y activación. (1) (4)

Se habla de efecto sinérgico cuando el efecto provocado por dos sustancias juntas es mayor que la suma de los efectos que produciría cada una por separado. Este efecto se ha comprobado en varios contaminantes que cuando están juntos son mucho más dañinos que la suma de sus efectos separados. Es un fenómeno positivo, ya que se alcanza un control de mayor eficacia, aunque puede aumentar su toxicidad para seres humanos y mamíferos.

La activación ocurre cuando existe sinergismo de una sustancia no tóxica, pero que aumenta el efecto tóxico del componente con que va mezclada.

Muchos de los sinérgicos conocidos tienen la habilidad de interferir con el metabolismo de detoxificación del insecticida, ya que el grado de duración de la acción del insecticida depende de su velocidad de metabolización.

1.5 Fitotoxicidad. (18)

La fitotoxicidad se refiere al daño que el producto o su formulación puede causar a la planta. Esto varía según la especie de planta y su estado de desarrollo, además de la temperatura y la humedad al momento de la aplicación.

Este es un factor importante que se debe tener siempre presente al momento de seleccionar un determinado pesticida para un control sanitario. Para evitar un daño de fitotoxicidad se debe usar el pesticida en los cultivos para los cuales se recomiendan y no aplicar dosis superiores a las indicadas por especialistas.

1.6 Impactos ambientales.

Los pesticidas botánicos son más seguros para el medio ambiente que los pesticidas sintéticos, debido a que sus principios activos tienen la propiedad de degradarse e incorporarse al ciclo de descomposición natural. Mientras que los pesticidas sintéticos, tales como organoclorados, carbamatos, organofosforados, entre otros, pueden permanecer por largo tiempo en el ambiente, además, muchos de ellos son capaces de penetrar hasta la pulpa de los alimentos, representando un riesgo para la salud pública. De esta forma, se podrán disminuir los residuos de agroquímicos en suelos, agua y productos alimenticios. También se logrará disminuir la toxicidad crónica en seres humanos y animales.

En el plano agrícola, cuando hay resistencia de las plagas a los pesticidas sintéticos, la primera respuesta de los productores ante este hecho, es aumentar la dosis y las frecuencias de aplicación. Esta situación, además de traer como consecuencia la pérdida del rendimiento y el aumento de costos en las estrategias de control, provoca un daño irreparable y consecuencias nefastas en la salud de la población.

1.7 Daños de los plaguicidas actuales.

El contacto con pesticidas puede dañar a las personas en algunas circunstancias. Si el contacto es con altas dosis de pesticidas puede producirse la muerte; pero dosis bajas con largos períodos de contacto también pueden provocar enfermedades como algunos tipos de cáncer u otras. ⁽¹⁾

Como en el mundo actual todos estamos expuestos diariamente al contacto y a la ingestión de pequeñísimas cantidades de plaguicidas y otros productos artificiales, la humanidad sufre serias consecuencias a largo plazo. ⁽¹⁾⁽³⁾

Por todas estas razones negativas se ha creado una mayor conciencia ambiental, dando un nuevo enfoque hacia una producción de nuevos insecticidas naturales, basándose en productos menos persistentes y menos nocivos para el medio ambiente. ⁽¹⁾⁽³⁾

Estudios realizados entre plantas e insectos, han demostrado una cierta defensa de la planta hacia algunos insectos. Estos descubrimientos abren el camino a la síntesis de compuestos naturales repelentes. ⁽¹⁹⁾

1.8 Insecticidas botánicos.

Como la naturaleza consta de un gran número de plantas que poseen componentes químicos con diferentes propiedades y que constituyen una fuente importante de ingredientes activos, se ha originado la respuesta del empleo de plaguicidas de origen vegetal como otro elemento para el manejo integral fitosanitario en los agroecosistemas, pues ha sido demostrado su eficiencia en la práctica y también su capacidad de biodegradarse con facilidad sin dejar residuos contaminantes en el medio ambiente. ⁽²⁰⁾

Las sustancias extraídas de algunas plantas pueden actuar como insecticidas y utilizarse de igual manera que los organosintéticos, pero sin tener los mismos efectos sobre el equilibrio natural y riesgos en la salud. Un ejemplo de insecticidas de origen vegetal es el caso de la Piretrina que fue el punto de partida de todos los insecticidas del tipo piretroides.

Algunas plantas presentan mecanismos de defensa natural contra predadores y patógenos al producir sustancias que las protege contra ellos. Dichas sustancias pueden atacar bacterias dañinas, repeler insectos o interferir en sus ciclos reproductivos.

Existe también una variedad de plantas que proporcionan insecticidas, ya sea de sus flores, hojas y raíces, de los cuales son extraídos sus principios tóxicos, utilizados solos o en mezclas con otros tóxicos o compuestos auxiliares, como lo son los sinergistas. ⁽¹⁸⁾

Esta nueva tendencia en la investigación de formulación de pesticidas a partir de extractos florales de plantas silvestres, como por ejemplo *Chrysanthemum coronarium*, no pone en crisis el agotamiento del recurso y su respectivo impacto en la naturaleza, como también no tienen toxicidad sobre los enemigos naturales. ⁽⁹⁾

1.9 Manzanilla Alemana (*Matricaria recutita* L.). ⁽⁶⁾

Es una planta silvestre de origen Europeo, florece en primavera y verano encontrándose en huertos, jardines, laderas de cerros y potreros.

La especie *Matricaria recutita* L (figura N° 6), conocida comúnmente como Manzanilla alemana o Manzanilla salvaje, es una hierba anual y aromática. Posee tallos ramificados, de 20 a 40 cm de alto con hojas finamente divididas.

La parte de importancia de la Manzanilla es la flor, que es usada para propósitos medicinales, por sus propiedades Anti-inflamatorias, Anti-espasmódicas y Anti-microbiana, para el insomnio, ansiedad, migraña, asma, diarrea, alergias, úlceras digestivas, entre otras. Además presenta múltiples usos en la industria cosmética.

La producción anual es de 5.000 toneladas; siendo Argentina el principal proveedor, ya que exporta 3.000 toneladas por año.

Figura N° 6: Flor de la Manzanilla Alemana (*Matricaria recutita* L.). ⁽¹⁷⁾



El aceite esencial es una mezcla de compuestos polares y no polares entre los que se han encontrado *Flavonoides*, compuestos que tienen propiedades antioxidantes, entre ellos están: chrysoplenina, chrysoplenol, jaceidin, quercimeritina, quercetina y otros.

También se ha aislado de la Manzanilla una nueva lactona del sesquiterpeno, que en ensayos de laboratorio, ha presentado una actividad citotóxica.

En análisis preliminares, por medio de métodos Cromatográficos (cromatografía Gases-Masas), para la identificación de la presencia de compuestos de importancia en extractos purificados de esta especie de Manzanilla alemana (*Matricaria recutita*), se obtuvieron los resultados de acuerdo a su composición relativa (porcentual) observándose una lista de los componentes del extracto en el Cuadro 1: ⁽⁶⁾

Cuadro 1 Lista de los componentes del extracto purificado de manzanilla, tentativamente identificados por GC-MS. ⁽⁶⁾

N° PEAK	NOMBRE DEL COMPUESTO	TPO. RETENCIÓN (MIN)	% RELATIVO
1	2-metil-1hepten-6-ona	3.205	2.32
2	3,3,6-trimetil-1,5-heptadien-4-ona	4.010	0.86
3	Canfor	5.190	0.66
4	N.N.	8.450	0.71
5	(E)(Z)- β -farneseno	9.260	18.60
6	N.N.	11.920	3.98
7	3,5-dimetoxi-4-hidroxi-acetofenona	12.090	3.31
8	7-metoxi-2h-1-benzopiran-2-ona	12.205	1.74

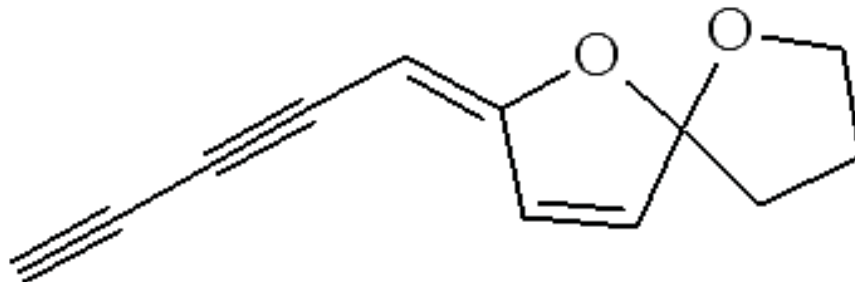
9	2-(2,4-hexadienilideno)-1,6-dioxaspiro{4,4}non-3-eno	14.505	28.04
10	2-(2,4-hexadienilideno)-1,6-dioxaspiro{4,4}non-3-eno	14.575	4.33
11	N.N.	14.945	1.69
12	Z-5-metil-6-heneicosano-11-ona	16.155	21.18
13	N.N.	16.265	2.01
14	Acetato de 1,3,3-trimetil-2-oxabicyclo{2,2,2}octanilo	16.525	6.12
15	N.N.	17.345	2.15
16	Di-n-octil-ftalato	22.660	2.30

La actividad de esta hierba es el resultado estructural de la interacción de muchos componentes. Es más eficaz como hierba entera, que cualquiera de sus componentes individuales aislados.⁽¹³⁾

Uno de los compuestos más importantes es el 2-(2,4-Hexadienilideno)-1,6-Dioxaspiro{4,4}non-3-eno, conocido como EN-IN-Dicicloeter (figura N° 7) con acción anti-inflamatoria contra el edema Dextran.⁽¹⁶⁾

Según estudios del efecto de extracto purificado de manzanilla⁽⁶⁾, el compuesto más importante puede presentar dos formas estructurales isoméricas, E y Z, donde el isómero Z del EN-IN-Dicicloeter es mucho más activo que el isómero E del EN-IN-Dicicloeter, debido al efecto inmediato que el isómero Z tiene sobre el sistema nervioso de los adultos de la Arañita Bimaculada. Además, el isómero Z se encuentra en mayor proporción en el extracto.⁽⁶⁾

Figura N° 7: Estructura del EN-IN-Dicicloeter.



Otros componentes presentes en el aceite esencial son *Chamazuleno* (Figura N° 8) (anti-inflamatorio, antiespasmódico y antialérgico) ⁽¹⁴⁾, *α-Bisabolol* (Figura N° 9) (ejerce un efecto protector contra úlceras pépticas, antiinflamatorio, antibacterial, disminución de la fiebre y antifungal)⁽¹⁴⁾, *Farneseno* (Figura N° 10), *Pinenos*, *Azulenos* (anti-inflamatoria y antiulcerosa). ⁽¹⁵⁾

Figura N° 8: Estructura del Chamazuleno.

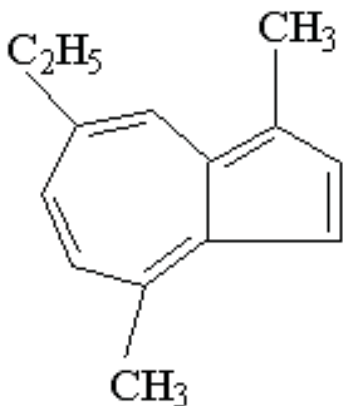


Figura N° 9: Estructura del α-Bisabolol.

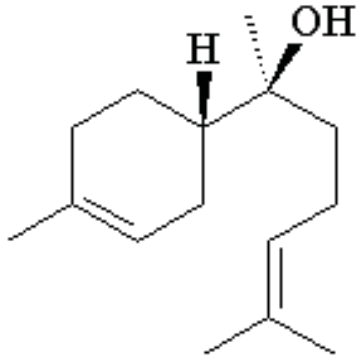
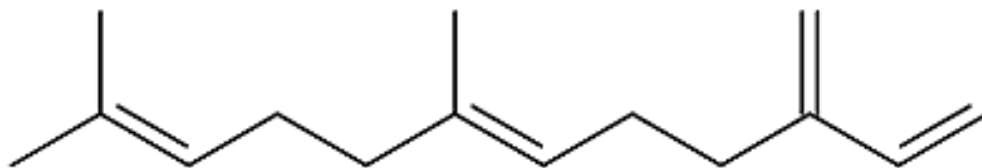


Figura N° 10: Estructura y β -Farnaseno.



1.10 Plagas agrícolas en Chile.

1.10.1 Arañita Bimaculada ⁽²⁾ ⁽⁷⁾

Tetranychus urticae Koch

Orden : Acariformes (Acarina)

Familia : Tetranychidae

Estos artrópodos pertenecen a la clase Acarina. Difícil de visualizar a simple vista, las formas más grandes, hembras adultas, miden alrededor de un milímetro de longitud, su cuerpo es blanquecino a verde claro. Los adultos tienen ocho patas y un cuerpo ovoide,

con dos manchas de color verde oscuro a negras cerca del extremo cefálico del cuerpo (en la región dorsolateral), lo que origina su nombre común (figura N°11). Se reproducen sexualmente o por partenogénesis y los huevos son esféricos, blancos y brillantes (figura N° 12).

Ciclo de vida.

El ciclo de la arañita incluye los estados de huevo, larva, protoninfa, deutoninfas y adulto. Al término del estado de larva (posee 3 pares de patas) y de cada instar ninfal (posee 4 pares de patas) hay un período de inactividad en el cual la arañita muda al estado siguiente. Por lo general, pasan el invierno como adultos en malezas o en el suelo si el invierno es frío. En esas condiciones, las hembras invernantes son de color anaranjado.

-Los huevos tardan 6 a 7 días en eclosionar.

-Las larvas se alimentan 2 a 3 días antes de mudar.

-Las ninfas: protoninfa y deutoninfas a 20 °C mudan a un estado adulto.

-Adulto macho es más pequeño y alargado que la hembra.

Colonización y hábitos.

Las arañitas no vuelan y son capaces de avanzar muy lentamente, por lo tanto, la colonización de un cultivo es usualmente asistida por medios mecánicos. Esto incluye la maquinaria asociada al cultivo, tránsito del personal y migración producida por el viento. Viven en colonias bajo la superficie de las hojas, conteniendo cada colonia centenares de individuos. El término "arañita" proviene de la tendencia a producir una telaraña en las hojas infestadas. Esta red es una forma fácil de distinguirlos de otros tipos de ácaros. Pueden colonizar desde un huésped silvestre localizado al margen del campo. Cuando se traslada desde estas áreas hacia el cultivo, la velocidad de infestación es generalmente baja. Durante períodos de calor y sequedad, el daño puede ser más

evidente debido al stress de la planta, ya que estas condiciones son altamente favorables para las arañas.

Normalmente se alimentan del follaje nuevo que se encuentra cercano al tronco o suelo, produciendo áreas cloróticas que se ven en ambas caras de la hoja. Cuando las colonias son numerosas, es posible observar una especie de tela.

Hospederos.

En cítricos se ha encontrado en limoneros. Es una plaga muy polífaga que se puede encontrar presente en numerosas especies: ciruelo, damasco, ají, poroto, frutilla, kiwi, arándano y frambueso, entre otros. También se encuentra asociada a diferentes hortalizas, forrajeras, cucurbitáceas, plantas ornamentales y malezas.

Daño.

Los ácaros seccionan la savia. La pérdida de clorofila conduce primero a un moteado blanquecino o amarillento en la superficie superior de las hojas y eventualmente a una decoloración uniforme, bronceada o amarillenta, provocan la defoliación de la hoja e incluso la muerte de la planta.

Control de la plaga.

Para combatir esta plaga se utilizan acaricidas que son productos fitosanitarios, algunos de estos que se encuentran en el mercado son: Acaristop SC50, Acarol 500 EC, Cyhexatin 60 flow, Dicofol 25 WP, Morestan 70% WP, Omie & E, Omite 30 W y Stopper. ⁽²¹⁾

No se requieren muchas acciones específicas de control. De observarse un posible incremento de la plaga, el lavado con detergente o aplicaciones de aceite mineral en horas de poco calor controlan esta especie. ⁽²³⁾

Se ha demostrado que el extracto floral de *Matricaria recutita* presenta efecto letal sobre *Tetranychus urticae*.⁽⁶⁾

Todos estos estudios han demostrado también la potencialidad de estos extractos naturales para ser desarrollados en formulaciones comerciales, para uso en plagas urbanas y agrícolas.

El control natural lo efectúan depredadores como: *Oligota pygmaea* Sol., *Stethorus histrio* Chazeau., *Euseius fruticolus* y *Cydnodromus (Neoseiulus) Chilensis*.⁽²³⁾

Figura N° 11: *Tetranychus urticae* Koch, Arañita Bimaculada.



Figura N° 12: Huevos de *Tetranychus urticae* Koch, Arañita Bimaculada.



1.10.2 Falsa Araña Roja de la Vid ⁽²⁾ ⁽⁷⁾ ⁽¹⁰⁾

Brevipalpus chilensis Baker

Orden : Acariformes

Familia : Tenuipalpidae

Es una plaga cuarentenaria de importancia económica en los rubros hortofrutícolas, especie nativa y de importancia económica principalmente en variedades tintas de vid vinífera.

La hembra adulta tiene un cuerpo de forma ovalada y muy aplanada dorsoventralmente y de tamaño cercano a 0.5 milímetros de longitud. Es de color rojo oscuro con manchas negras (Figura N° 13). Los huevos son ovoidales algo aplanados, brillantes y de color rojo (figura N° 14). El macho es de menor tamaño que la hembra y su cuerpo es algo más triangular.

Ciclo de vida.

El ciclo biológico dura aproximadamente 22 a 25 días, incluye los estados de huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto. Inverna como hembra fertilizada protegida bajo

el ritidomo, en el interior de las escamas de las yemas y bajo las amarras de los cargadores. Junto con la brotación de la vid, las hembras se movilizan hacia yemas y hojas nuevas, donde se inicia la primera postura primaveral y primera parte del verano, Se estima que en la uva vinífera existen no menos de 6 generaciones anuales. Las dos primeras generaciones primaverales demoran cada una unos 25 días en desarrollarse y las siguientes entre 18 a 22 días. Los machos son muy escasos durante las 5 primeras generaciones para después aumentar en forma brusca, alcanzando casi a existir una relación sexual 1:1 desde fines de enero. Las hembras se reproducen, por tanto, partenogénicamente durante toda la primavera y la mayor parte del verano, con gran potencial reproductor, oviponiendo no menos de 250 huevos.

-Huevo: Es de forma elíptica, su color es rojo anaranjado, brillante, cuando está recién ovopositado. Son colocados con uno de sus extremos pegado a la superficie de la hoja o del resto de muda sin nada que lo sujete. La fertilidad de los huevos es bastante elevada, llegando en algunos casos al 100%.

-Larva: Tiene tres pares de patas. La vida de la larva es relativamente corta teniendo como período activo de 1 día a un máximo de 6. La etapa de muda puede ocurrir de 2 días como mínimo a 5 como máximo; al efectuar la muda, la larva inserta su quelícero en la hoja para no caerse juntando sus patas anteriores hacia adelante y las traseras pegadas al hysterosoma.

-Protoninfa: Tiene 4 pares de patas, es de tamaño superior al de la larva. La protoninfa, al igual que todos los estados de desarrollo, tiene el cuerpo cubierto de setas, la fase activa del estado protoninfa dura como mínimo 2 días y como máximo 6 días. El período de muda va de 3 a 5 días.

-Deutoninfa: Es muy parecida a la protoninfa y difiere únicamente en su tamaño. Una vez que la deutoninfa alcanza su desarrollo total, entra en la fase de inactividad, lo que le permite llegar a su estado inicial de adulto. La duración de la fase activa de la deutoninfa varía de 1 a 8 días. El período de muda va de 1 a 6 días.

-Hembra adulta: El color de la hembra es rojo, pero puede variar del rojo pálido al rojo intenso. Generalmente la hembra adulta presenta una mancha negra en el hysterosoma.

El imago hembra, al igual que los otros estados de desarrollo, tiene el cuerpo cubierto de setas, pero éstas a diferencia de las otras, son en su totalidad filiforme y la longitud de ellas es bastante reducida. Una vez que la hembra sale del estado de deutoninfa empieza a poner huevos desde el primer día. Se ha observado también que hay arañas que no ponen huevos en toda su vida, otras empiezan a depositar huevos después que han pasado varios días. Su vida es bastante larga, habiéndose observado algunas que han alcanzado más de 60 días. La hembra es el individuo de mayor tamaño de esta especie.

La cópula es una función que no es muy común observar, puesto que el número de machos es bastante más reducido que el de las hembras. El macho se introduce bajo el cuerpo de la hembra, en esta posición quedan unidos por un tiempo relativamente largo. La especie *Brevipalpus chilensis* Baker pone huevos sin necesidad de macho que fecunde la hembra, o sea, por partenogénesis.

-Macho: Es muy parecido a la hembra, pero se diferencia un poco de la hembra en el tamaño y en la forma del cuerpo. El macho tiene mas movilidad que la hembra. Los machos localizan a las deutoninfas que están mudando y esperan pacientemente alrededor de ellas, y una vez que estas emergen al estado adulto se efectúa la cópula.

El proceso de muda de la especie *Brevipalpus chilensis* Baker es muy similar al de otras especies de arañas. El ácaro busca un lugar que sea protegido y lo mas escondido posible para efectuar este proceso. Antes de comenzar con la muda propiamente tal, la araña empieza a perder su movilidad. Una vez que entra en el período de muda la araña adopta una posición característica, con las patas delanteras estiradas hacia adelante y juntas, las patas posteriores las estira hacia atrás y las pega al hysterosoma. Durante este período, el ácaro inserta su quelícero en el tejido de la hoja con el objeto de fijarse en ella y no caerse. La muda tiene por objeto permitir a las arañas crecer y completar en esta forma su desarrollo, ya que una vez que han alcanzado su estado adulto no vuelve a ocurrir éste.

Colonización y hábitos.

Se concentran en el follaje de la vid, pudiendo alcanzar poblaciones de hasta más de mil ejemplares por hoja en uvas tintas. Se ubican en el envés de la hoja, a ambos lados de la nervadura, para después extenderse al resto de la lámina inferior. Luego, se extienden al mismo racimo produciendo el daño.

Cuando empiezan a caer las hojas, las arañitas comienzan a emigrar hacia los sarmientos y a la base de las yemas, localizándose en mayor cantidad en las ramas madres donde se introducen entre la corteza formando numeroso grupos. Durante el período invernal, las arañitas tienen una movilidad bastante reducida y el cuerpo parece que se les aplanara, lo que les permite una mejor acomodación entre las grietas de la corteza. La invernación es ejecutada solamente por individuos en estado adulto.

En los cítricos se encuentra preferentemente el período, bajo los sépalos o sobre la superficie del fruto. En general, es un ácaro de movimientos lentos.

Hospederos.

Los cítricos limonero, mandarino y naranjo. También se encuentra como plaga de vides, kiwi y otros frutales de importancia económica, malezas y ornamentales como ligustrino.

Daño.

En el racimo producen manchas pardas en el raquis y pedicelos, provocando deshidratación de las bayas, afectando seriamente la producción.

Frutos. Elevadas poblaciones pueden producir un plateado y textura áspera de la superficie de limones debido al resquebrajamiento de la epidermis.

En mandarinas, en las áreas afectadas se observan pequeñas manchas amarillas sobre frutos verdes que prácticamente desaparecen con la coloración del fruto maduro. Sin embargo, uno de los problemas más relevantes es su carácter cuarentenario que

ocasiona el rechazo de las partidas que presenten el ácaro durante los procesos de exportación.

Control de la plaga.

Actualmente el control de este ácaro, se basa en la utilización exclusiva de acaricidas los que en promedio representan un 25-40% de los costos de las medidas fitosanitarias. Además, el uso continuado de acaricidas ha llevado al apareamiento de resistencia, lo que ha estimulado el empleo de mayores dosis y frecuencias de aplicación, agudizando con ello el deterioro del medio ambiente y salud humana.

En general huertos en los que se aplica agua y detergente, presentan bajas densidades del ácaro. Con el fin de controlarlo específicamente para producción destinada a la exportación se aplica aceite mineral durante el otoño. ⁽²³⁾

En Chile, el control natural de las arañas fitófagas de frutales y hortalizas, lo efectúan principalmente las arañas depredadoras endémicas *Neoseiulus (Amblyseius) chilensis (Dosse)* y *Euseius (Amblyseius) fructicolus* ⁽²⁾ y *Typhlodromus Pyri Scheuten*. ⁽²²⁾

Figura N° 13: *Brevipalpus chilensis* Baker, Falsa Arañita Roja De La Vid.



Figura N° 14: Huevos de *Brevipalpus chilensis* B.



1.11 Formulación de pesticidas.

Una formulación es una mezcla física de uno o más compuestos químicos biológicamente activos con ingredientes inertes que proporcionan un resultado eficaz y económico en pestes. ⁽⁵⁾

El producto puede ser aplicado por métodos prácticos para permitir su efectividad y que su uso sea efectivo y barato. ⁽⁵⁾

La formulación de un insecticida es el producto final que adquiere el usuario y este se componen de una o varias sustancias activas, es decir, las sustancias que son eficaces en el combate de uno o varios organismos dañinos. Igualmente, entre los componentes posibles han de mencionarse varios aditivos, agentes auxiliares, disolventes y agua: ⁽⁸⁾

El o los ingredientes activos (IA) o producto tóxico propiamente tal.

Un diluyente inerte, que actúa como vehículo o acarreador.

Aditivos, que son sustancias químicas que mejoran la estabilidad, uso y eficacia del ingrediente activo en la formulación.

Tipos de aditivos: ⁽⁵⁾

Mojantes
Dispersantes
Emulsificantes
Penetrantes
Humectantes
Adherentes

Para formular un pesticida se debe tener en cuenta las propiedades físicas y químicas del extracto refinado que se utilizará como ingrediente activo ya que este es el que tiene las propiedades biológicas: ⁽⁵⁾

Estado físico (a temperatura ambiente)
Punto de fusión
Densidad
Viscosidad
Solubilidad
Estabilidad
Olor y color
Toxicidad
Tamaño de partícula

1.11.1 Tipos de formulaciones.

Algunos productos permiten preparar formulaciones relativamente simples (bromuro de metilo por ejemplo). Pero en su gran mayoría requieren una formulación relativamente compleja pues deben ser utilizados mediante su dilución previa en agua o en aceite. En

ocasiones, ciertos problemas de plagas se prestan para la utilización de productos secos, líquidos o gaseosos. Hay una variada gama de formulaciones específicas para determinados compuestos, usos o plagas. ⁽³⁾

A la formulación se debe sumar su presentación o fraccionamiento y envases como elementos que incorporan aspectos de facilidad de aplicación, eficacia y seguridad.

Las formulaciones se clasifican en 3 tipos generales según su forma física: ⁽⁵⁾

Formulaciones secas: polvos secos (PD), gránulos (G), polvos mojables (PM), polvos solubles (PS), cebos tóxicos, tabletas, etc.

Formulaciones líquidas: concentrados emulsionables (CE), líquidos solubles (LS), líquidos miscibles (LM), concentrados solubles (CS), microcápsulas, suspensiones dispersables (CS), aerosoles, etc.

Formulaciones gaseosas.

1.11.1.1 Formulaciones líquidas.

Concentrado emulsionable (CE): ⁽³⁾ ⁽⁵⁾

Muchos ingredientes activos no son solubles en agua pero pueden disolverse en diferentes solventes orgánicos, aromáticos o alifáticos (alcohol, kerosén, etc), normalmente se les ha denominado hasta ahora como líquidos emulsionables.

Estos productos llevan como soporte un solvente y las sustancias acompañantes que mejora sus características, tales como agentes emulsificantes.

La mayoría de los solventes utilizados no son solubles en agua y se mezclan con ella con dificultad, pero la presencia de los emulsificantes permite que puedan mezclarse en forma muy homogénea, formando emulsiones de aspecto lechoso. Una vez hecha la emulsión es necesario mantener cierta agitación para conservar la homogeneidad de la misma dentro del tanque del equipo de aplicación.

Un Concentrado Emulsionable es una formulación muy versátil pues se presta para distintas aplicaciones. Puede penetrar en materiales porosos (papel, madera, suelos, etc),

pueden manipularse con facilidad, pero por ser líquidos presentan algunos riesgos para operarios.

Los Concentrados Emulsionables a menudo son más fototóxicos que los polvos mojables debido a los solventes orgánicos componentes de la formulación. Los mismos solventes aceleran el deterioro de elementos de plástico y caucho utilizados en equipos de protección personal y en los de aplicación (mangueras, juntas, guantes, botas, pinturas anticorrosivas, etc).

El Concentrado Emulsionable es la formulación más utilizada al nivel de campo, ya que su manejo es facilitado por ser mezclado con agua para la dilución.

2 Hipótesis de trabajo.

“El desarrollo de distintas formulaciones sobre la base de extractos florales de la especie *Matricaria recutita* L, puede ayudar a combatir plagas agrícolas, por presentar actividad tóxica sobre ácaros como *Tetranychus urticae* K. y *Brevipalpus chilensis* B.”

3 Objetivos generales y específicos

3.1. Objetivo general:

Desarrollo de una formulación de plaguicida derivado de la Manzanilla Alemana (*Matricaria recutita* L.), para uso en plagas agrícolas.

3.2. Objetivo específico:

Elaboración de formulaciones como concentrado emulsionable sobre la base de extractos florales de la especie *Matricaria recutita* L.

Evaluación de la actividad acaricida de las distintas formulaciones sobre *Brevipalpus chilensis* Baker (Falsa Arañita Roja de la vid) y *Tetranychus urticae* Koch (Arañita Bimaculada).

4 Aspectos Experimentales

4.1 Metodología de trabajo.

Recolección y secado.

La recolección, el secado al aire libre y la molienda, para la obtención de un polvo fino de flores de la especie *Matricaria recutita* L. fue realizada en época de floración, entre Octubre y Diciembre del año 2001 en Olmuè y Limache, V Región, y posteriormente almacenada en frascos cerrados, en un lugar seco.

4.2 Extracción.

El polvo fino fue sometido a un proceso de extracción tipo Soxhlet con hexano como solvente. Se pesó 100 gr. de polvo aproximadamente y se llenaron cartuchos de papel filtro. En un Soxhlet de 750 ml de capacidad se reflujo con 1.0 lt de hexano durante un período de cuatro horas aproximadamente. Luego de la evaporación del solvente, en un rota vapor a una temperatura no mayor a 60°C, se obtuvo un extracto viscoso a temperatura ambiente y de color café verdoso, al que identificamos como *extracto crudo*.

4.3 Purificación.

Esta etapa consiste en eliminar del extracto crudo, los productos de bajo peso molecular, como ceras y pigmentos. Se utilizó metanol a -70°C, en un baño de isopropanol con hielo seco, por una hora con agitación constante. Luego se filtró y se evaporó el solvente, obteniéndose un extracto líquido de color amarillo verdoso, al que identificamos como *extracto purificado*.

4.4 Caracterización.

Caracterización física del extracto purificado:

Se determinó solo las propiedades de solubilidad. Esta propiedad es muy importante en la formulación de un pesticida, ya que para cada tipo, las propiedades de los ingredientes activos limitan la elección de los otros ingredientes de la formulación.

Solubilidad: es necesario determinar las características de solubilidad de los ingredientes activos del extracto de *Matricaria recutita* en solventes representativos. Esta solubilidad normalmente se expresa en gramos de ingrediente activo por 100 ml de solución. Es deseable que un pesticida tenga un alto grado de solubilidad, por su gran significado económico, de modo que a altas concentraciones puedan ser preparadas en solventes de bajo costo. Como ya se tenían antecedentes de este tipo de extracto, se determinó la solubilidad en Isopar-G, un solvente muy poco tóxico y de bajo costo. El procedimiento que se utilizó para la determinación aproximada de solubilidad es el siguiente:

- a.- Se pesaron 1.20 g de una muestra representativa del IA en 1 tubo de ensayos.
- b.- Con una micropipeta se transfirieron 2 ml de solvente Isopar-G al tubo de ensayo.
- c.- Si no se lograba disolución, se agregaban otros 2 ml de solvente, pero en este caso la disolución fue inmediata con solo 2 ml de solvente.

Caracterización química del extracto purificado:

Se llevó a cabo mediante técnicas cromatográficas, que permiten determinar en forma cuantitativa la composición química de los extractos, como Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) que mediante el uso de bases de datos de espectros incorporados en el equipo (NIST, NIH-EPA), permite identificar tentativamente cada componente de los extractos orgánicos.

El espectro cromatográfico fue tomado bajo las siguientes condiciones de análisis:

1 μ L de muestra

T° inyector y detector 260°C

T° inicio 80°C

T° final 260°C

Velocidad de calentamiento 8°C / min

Columna cromatográfica SPB-5

M/z Scan 42 - 600 uma

4.5 Desarrollo de formulaciones.

Concentrado Emulsionable: Se debió seleccionar el solvente y el agente emulsionable a mezclar con el ingrediente activo.

Para las formulaciones, las características de solubilidad del ingrediente activo (IA) determinan el tipo de solvente a utilizar y la concentración que permite cumplir ciertas condiciones de almacenamiento. La selección de solvente y emulsificador es la fase inicial del desarrollo de un concentrado.

Selección del solvente: Se calculó la solubilidad del IA en Isopar-G, que se seleccionó sobre la base de toxicidad y estudios con otros tipos de extracto.

Selección del emulsificante: La selección del emulgador del tipo no iónico se hizo con el siguiente procedimiento para la elaboración de un concentrado emulsionable al 0.5%:

- a.- Se agregó 0.5 gr de extracto purificado a siete matraces.
- b.- Luego se les agregó 1 ml de solvente Isopar-G y se agitó durante 10 minutos.
- c.- Posteriormente se les agregó 0.05 ml de emulgador a cada balón .
- d.- Se diluyeron las mezclas con 100 ml de agua.

e.- Las mezclas se mantuvieron con agitación constante durante 2 horas.

f.- Las que no presentaron emulsión se les agregó 0.05 ml adicionales de emulgador y se mantuvo con agitación por 1 hora más.

A las distintas formulaciones se les identificó con la sigla CE enumerados del 1 al 7 y los emulgadores probados fueron:

CE-1 Dioleato de Polietilenglicol 400, Italquim

CE-2 Nonil fenol etoxilado, Shell

CE-3 Alquil fenol etoxilado (10 moles), Rhenium

CE-4 Alquil fenol etoxilado (6 moles), Rhenium

CE-5 Monooleato de Sorbitan, Rhenium

CE-6 Alcohol graso etoxilado (C12-C14), Rhenium

CE-7 Alcohol etoxilado (C12-C15), Shell

4.6 Bioensayos.

La finalidad de los bioensayos fue evaluar el potencial del plaguicida, con muestras uniformes de artrópodos, en su respectivo estado de desarrollo.

Estos estudios, donde se probó la toxicidad y eficiencia en plagas agrícolas, fueron realizados en el Centro Experimental de Entomología de La Cruz (CEE-INIA). Los ensayos se llevaron a cabo sobre distintos estados de *Tetranychus urticae* K. y *Brevipalpus chilensis*.

4.6.1 Cultivos de las plagas.

Las colonias fueron mantenidas en laboratorios del Centro Experimental de Entomología. Los ácaros, fueron ubicados en hojas de planta de porotos para *Tetranychus urticae* y ligustrina para *Brevipalpus chilensis* bajo condiciones de

temperatura de 24-26 °C, con humedad relativa de 70-85% y fotoperíodo de 16 : 8 horas (luz: Oscuridad).

En ensayos preliminares para la elección de las dos mejores formulaciones se utilizaron plantas de poroto para *Tetranychus urticae* y plantas de vid para *Brevipalpus chilensis*.

En los ensayos posteriores a la elección de las dos formulaciones, se utilizó el Método de Discos de Hojas (Figura N° 15), donde cinco discos de hojas de poroto y ligustrina por tratamiento según corresponda, cada una de 18mm de diámetro, debieron ser ubicadas sobre una superficie plana de esponja humedecida en placas de petri, con diez arañitas en cada disco, donde cada disco de hoja es una repetición. ⁽¹¹⁾

Figura N° 15: Método de Discos de Hojas.



4.6.2 Ensayos preliminares.

Se realizaron los ensayos de eficiencia de cuatro Concentrados Emulsionables, identificados como CE-1, CE-2, CE-3, CE-5. Cada formulación fue preparada diluyendo con agua para obtener una concentración de IA de 5000 ppm. Se realizaron ensayos de aplicación directa en plantas de poroto para *T. urticae* y plantas de vid para

B. Chilensis (Figura N° 16 y 17). Se aplicó desde una torre de Potter, 2 ml de cada formulación sobre hojas conteniendo 10 arañas adultas en cada repetición según corresponda. Se observaron resultados a 24 y 72 horas, con cinco repeticiones para cada ensayo, utilizando testigo-agua (solo agua) y testigo-solvente (agua, solvente y emulgador). Una vez seleccionadas las dos mejores formulaciones se procedió a realizar los respectivos ensayos.

Figura N° 16: Ensayo sobre Planta de Poroto, para *Tetranychus urticae* K.

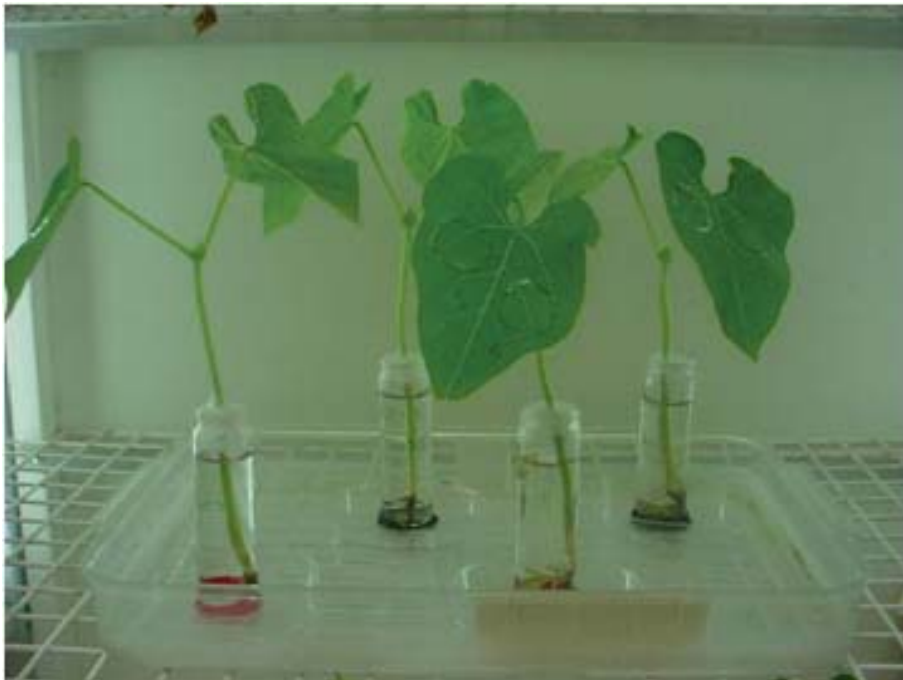


Figura N° 17: Ensayo sobre Planta de Vid, para *Brevipalpus chilensis* B.



4.6.3 Ensayos sobre *Brevipalpus chilensis* B. (Falsa araña roja de la vid)

4.6.3.1 Letalidad.

Se realizaron ensayos de letalidad con dos formulaciones a distintas concentraciones, diluyendo con agua para obtener cuatro concentraciones de IA, 3000, 4000, 7000 y 10000 ppm. Las aplicaciones de las cuatro concentraciones fue directa sobre discos de hojas de vid. Se aplicó desde la Torre de Potter 2 ml de cada concentración sobre estado adulto y larva, con 5 repeticiones (discos de hoja) por tratamiento, teniendo 10 arañitas cada disco. Previo a las aplicaciones del compuesto, se hizo la aplicación de los tratamiento control (testigo-solvente y testigo- agua). Los adultos se consideraron muertos si no se podían mover, por lo menos, una vez la longitud del cuerpo cuando eran tocados ligeramente a la superficie de la hoja. ⁽¹²⁾

Se observaron resultados a 24 y 72 horas.

4.6.3.2 Subletalidad. ⁽¹²⁾

Ovicida: El ensayo se realizó con las dos formulaciones, pero a diferencia del ensayo anterior, solo se utilizó una concentración de 5000 ppm. La aplicación desde la torre de Potter de 2 ml de los CE fue directa sobre discos de hoja de vid que contenían huevos acumulados de 3 días. Se observaron resultados hasta que eclosionaron los huevos. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, usando testigo-agua y testigo-solvente.

4.6.3.3 Repelencia. ⁽¹²⁾

Se realizaron estos ensayos por exposición de adultos a las dos formulaciones en discos de hojas de vid, utilizando una concentración de 3000 ppm. Los discos de hojas fueron puestos en placas de petri y la mitad de la hoja fue asperjada desde una torre de Potter. Luego, se colocaron ácaros de *B. chilensis* en la parte no aplicada de cada hoja. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, con 10 arañitas cada disco de hoja; se usó un testigo- solvente y un testigo agua. Se observaron las reacciones de las arañitas a diferentes tiempos, observando el número de individuos que no ingresaron al sector tratado durante esos tiempos.

4.6.3.4 Irritancia. ⁽¹²⁾

Se evaluó el comportamiento que muestran los adultos al estar expuestos directamente al producto en discos de hojas de vid utilizando una concentración de 3000 ppm. Los discos de hojas fueron colocados en una placa de petri y la mitad de cada hoja fue asperjada en una torre de Potter. Se colocaron ácaros en cada disco. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, con 10 arañitas en cada disco de hoja; se usó un testigo- solvente y un testigo- agua. Se observaron las reacciones de las arañitas a diferentes tiempos, observando el número de individuos que salían del sector tratado durante esos tiempos.

4.6.4 Ensayos sobre *Tetranychus urticae* K. (Arañita bimaculada).

4.6.4.1 Letalidad.

Se realizaron ensayos de letalidad de dos formulaciones a distintas concentraciones, diluyendo con agua para obtener cuatro concentraciones de IA, 3000, 4000, 7000 y 10000 ppm. La aplicación de las cuatro concentraciones fue directa sobre discos de hojas de poroto. Se aplicó desde la Torre de Potter 2 ml de cada concentración sobre 10 arañas en estado adulto y larva, con 5 repeticiones (discos de hoja) por tratamiento, teniendo 10 arañas cada disco. Previo a las aplicaciones del compuesto, se hizo la aplicación de los tratamientos control (testigo-solvente y testigo- agua). Los adultos se consideraron muertos si no se podían mover, por lo menos, una vez la longitud del cuerpo cuando eran tocados ligeramente a la superficie de la hoja. ⁽¹²⁾

Se observaron resultados a 24 y 72 horas.

4.6.4.2 Subletalidad. ⁽¹²⁾

Ovicida: El ensayo se realizó con las dos formulaciones, pero a diferencia del ensayo anterior, solo se utilizó una concentración de 5000 ppm. La aplicación desde la torre de Potter de 2 ml de los CE fue directa sobre discos de hoja de poroto que contenían huevos de 24 y 72 horas de edad. Se observaron resultados hasta que eclosionaron los huevos. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, usando testigo-agua y testigo-solvente.

Desarrollo: El ensayo se realizó con las dos formulaciones, con una concentración de 3000 ppm. La aplicación desde la torre de Potter de 2 ml de los CE fue directa sobre discos de hojas de poroto que contenían protoninfas. Se observaron los resultados hasta que los ácaros llegaron al estado adulto. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, usando testigo-agua y testigo-solvente.

Ovipostura: Se evaluó la ovipostura de hembras que llegaron a adulto después de la aplicación directa de los CE a 3000 ppm sobre protoninfas de *T. urticae*.

4.6.4.3 Repelencia. ⁽¹²⁾

Se realizaron estos ensayos por exposición de adultos a las dos formulaciones en discos de hojas de poroto, utilizando una concentración de 3000 ppm. Los discos de hojas fueron puestos en placas de petri y la mitad de la hoja fue asperjada en una torre de Potter. Luego, se colocaron ácaros de *T. urticae* en la parte no aplicada de cada hoja. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, con 10 arañas en cada disco de hoja; se usó un testigo- solvente y un testigo agua. Se observaron las reacciones de las arañas a diferentes tiempos, observando el número de individuos que no ingresaron al sector tratado durante esos tiempos.

4.6.4.4 Irritancia. ⁽¹²⁾

Se evaluó el comportamiento que muestran los adultos al estar expuestos directamente al efecto del producto en discos de hojas de poroto utilizando una concentración de 3000 ppm. Los discos de hojas fueron puestos en una placa de petri y la mitad de cada hoja fue asperjada en una torre de Potter. Se colocaron ácaros en cada disco. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, con 10 arañas en cada disco de hoja; se usó un testigo- solvente y un testigo- agua. Se observaron las reacciones de las arañas a diferentes tiempos, observando el número de individuos que salían del sector tratado durante esos tiempos.

4.6.5 Ensayos de tratamientos-testigo.

Se hicieron ensayos de aplicación directa y residual sobre estados adulto de las dos especies de ácaros. El ensayo consistió en la aplicación de todos los componentes de la formulación exceptuando el IA, esto es: un testigo-agua (solo agua), un testigo-solvente (solo agua y solvente), un testigo-solvente/emulgador x (agua, solvente y emulgadores) uno por formulación. Las cantidades de cada componente en los testigos fueron la que se ocupó para elaborar las formulaciones. Se aplicó desde la Torre de Potter 2 ml de cada testigo sobre 10 arañas en estado adulto en cada repetición, con 5 repeticiones por tratamiento. Los adultos se consideraron muertos si no se podían mover, por lo menos,

una vez la longitud del cuerpo cuando eran tocados ligeramente a la superficie de la hoja. ⁽¹²⁾

Se observaron resultados a 24 y 72 horas.

4.7 Evaluación de resultados.

4.7.1 Corrección de mortalidad.

La mortalidad observada en cada tratamiento, a partir de una muestra o grupo homogéneo de individuos, debe ser corregida. Esta corrección involucra la mortalidad causada por la exposición de la muestra al pesticida y la mortalidad observada en el grupo de control (testigo).

La corrección del porcentaje de mortalidad está dada por la siguiente fórmula de Abbott.

$(\% \text{ Mortalidad en tratamiento} - \% \text{ Mortalidad en testigo}) \times 100 / (100 - \% \text{ Mortalidad testigo})$

No se justifica hacer esta corrección cuando el porcentaje de mortalidad en el testigo es inferior al 5% y cuando supera el 20%, en este último caso, se recomienda repetir el ensayo. Una vez corregidos los resultados se ajustaran al modelo estadístico: Andeva y Test de Tukey.

4.7.2 Análisis de varianza, ANDEVA.

Permite probar la significancia de la diferencia entre dos o más medias muestrales:

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \text{hipótesis nula}$

$H_1 = \mu_1, \mu_2 \text{ y } \mu_3 \text{ hipótesis alternativa}$

Cuando más se acerque la razón F a 1, más inclinados estaremos a aceptar la hipótesis nula. A la inversa, a medida que crece la razón F, estaremos más inclinados a rechazar H_0 y a aceptar H_1 .

Se compara el valor crítico de F tabulado (para los grados de libertad correspondientes), con el valor de F calculado.

F tabulado > F calculado: se acepta H_0 .

F tabulado < F calculado: se acepta H_1

4.7.3 Test de Tukey.

El test de Tukey es aplicable a pares de medias; necesita de un solo valor para juzgar la significancia de todas las diferencias, este valor crítico se conoce como “T”. Todos los pares de medias constituyen una familia y la tasa de error es familiar, como lo es el coeficiente de confianza cuando se construyen estimaciones de intervalo de diferencias.

Este procedimiento consiste en el cálculo de un valor crítico mediante la siguiente ecuación y su aplicación a diferencias entre todos los pares de medias:

$$T = q_{\alpha}(p, f_e) \times \sqrt{\frac{\bar{S}^2}{n}}$$

Donde:

$q_{\text{tabla}} \equiv \alpha : 0.05$

p : n tratamientos

f_e : grados de libertad del error

\bar{S}^2 : promedio de las varianzas

n : nº repeticiones.

Este procedimiento sirve para evaluar entre que tratamientos existen diferencias significativas.

5 Resultados y discusiones.

5.1 Extracción y purificación.

En esta primera etapa se realizó una extracción continua de las flores en estado de polvo en un sistema Soxhlet con hexano como solvente para obtener el extracto floral de *Matricaria recutita*, y se obtuvo un extracto crudo de color café verdoso oscuro muy viscoso y semisólido a temperatura ambiente. El rendimiento del extracto crudo en esta primera etapa fue de 4.2 % por peso de flor seca.

En una segunda etapa se llevó a cabo una purificación del extracto crudo donde se sometió a una nueva extracción con metanol a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, donde se obtuvo un extracto líquido a temperatura ambiente de color café oscuro. El rendimiento del extracto purificado fue de 1.6 % por peso de flor seca. Esta etapa tuvo como finalidad eliminar productos no activos, ceras y compuestos colorantes (pigmentos).

5.2 Caracterización del extracto purificado.

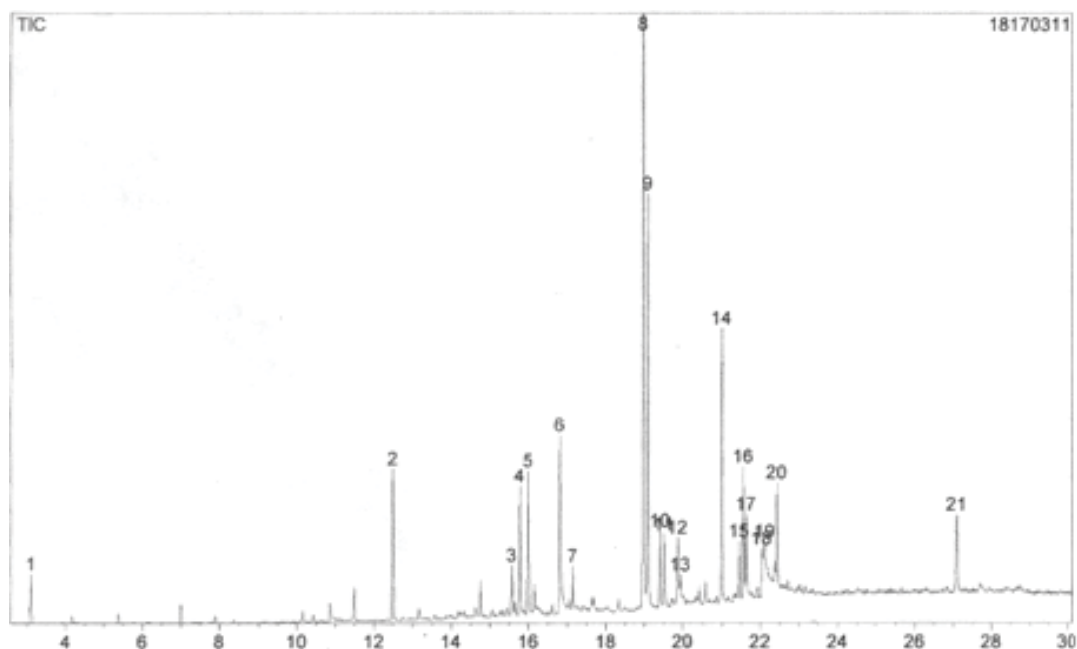
Caracterización física:

Es de importancia conocer la solubilidad del extracto para escoger el solvente a utilizar en la formulación. Por esta razón debido a estudios anteriores se pudo comprobar que estos extractos son solubles en solventes del tipo hidrocarburos, uno de los más utilizados ha sido el Isopar-G, en el cual este extracto purificado tiene una solubilidad de 0.3 gr/ml.

Caracterización química:

El extracto purificado fue sometido a un análisis cromatográfico el cual se muestra en la Figura N° 17, donde se observa la presencia de 21 compuestos.

Figura N° 17: Cromatografía de Gases del extracto purificado de Manzanilla.



Mediante la técnica de GC-MS, se identificaron tentativamente los principales compuestos (Cuadro 2); como el EN-IN Dicicloéter (peaks 8 y 9), el cual ha sido considerado un principio activo de la Manzanilla, al que se le atribuyen distintas propiedades como anti-espasmódico y anti-inflamatorio, además de una importante actividad insecticida y acaricida como se ha demostrado en estudios anteriores. ⁽⁶⁾

Cuadro 2: Lista de los componentes más importantes del extracto purificado de manzanilla, tentativamente identificados por GC-MS.

N° PEAK	NOMBRE DEL COMPUESTO	% RELATIVO
2	β -farneseno	3.49
4	α -bisabolol	3.58
8	2-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro{4,4}non-3-eno	33.69

9	2-(2,4-hexadiinilideno)-1,6-dioxaspiro{4,4}non-3-eno	11.83
---	------------------------------------------------------	-------

Se puede observar que el extracto utilizado en esta investigación presenta un alto contenido de los EN-IN Dicitriéter con un total de 45,52%, muy superior al encontrado en extractos utilizados anteriormente con aproximadamente 32%. ⁽⁶⁾

5.3 Formulación del concentrado emulsionable.

Inicialmente se seleccionó el solvente a utilizar, el cual fue Isopar-G, ya que produce una mejor solubilidad del extracto purificado. Este solvente es el más adecuado no solo por la alta solubilidad del extracto, sino también por tener una muy baja toxicidad, no presenta olor, tiene un costo relativamente bajo y es de gran uso industrial. A simple vista se puede ver que el solvente es el adecuado, debido a que se logró una completa solubilidad del extracto, siendo esta una condición necesaria en el uso de un emulsificante.

El mejor emulgador fue escogido visualizando que se mantuviera la emulsión con el solvente y que no se rompiera en el tiempo hasta finalizar la formulación al 0.5%, por lo tanto, se observó la mezcla del solvente, emulgador, IA (ingrediente activo) y agua, después de 2 horas de agitación y 15 minutos de reposo.

Las formulaciones aprobadas fueron aquellas en que la emulsión perduró y en las cuales no se formaron fases y estas son CE-1, CE-2, CE-3, CE-5 (Cuadro 3):

Cuadro 3: Lista de los mejores emulgadores utilizados para la elaboración de una formulación a partir de extracto floral de *Matricaria recutita*.

Sigla	Emulgador	% emulgador
-------	-----------	-------------

CE-1	Dioleato de polietilenglicol 400	0.075
CE-2	Nonil fenol etoxilado (10 moles)	0.050
CE-3	Alquil fenol etoxilado (6 moles)	0.050
CE-5	Monooleato de srbitan	0.100

En las formulaciones restantes se rompió la emulsión y se formaron claramente dos fases, por lo que se mantuvo la agitación 2 horas más y se les agregó una medida más de emulgador, luego de lo cual no hubo cambio; por lo tanto, las tres formulaciones (CE-4, CE-6, CE-7) se descartaron.

5.4 Ensayos preliminares.

Se evaluó la eficiencia de las cuatro formulaciones aprobadas mediante la aplicación directa sobre estados adultos de *T. urticae* y *B. chilensis* en plantas de poroto y vid, correspondientemente; Esto se realizó para seleccionar las dos mejores formulaciones evaluando según daños en la hoja y reactividad química. Se utilizó una concentración de 5000 ppm como base para las cuatro formulaciones, ya que en los ensayos de actividad con el extracto purificado sobre adultos de *T. urticae* se utilizó una concentración de 4000 ppm observándose una mortalidad de 73 % a las 24 horas. ⁽⁶⁾

Los resultados de mortalidad obtenidos a 24 y 72 horas de post-aplicación, se expresan en las Cuadro 4 y 5:

Cuadro 4: Porcentajes de mortalidad de las formulaciones CE de extracto floral de *M. recutita* a una concentración de 5000 ppm sobre estados adultos de *T. urticae* a 24 y 72 hrs.

% de mortalidad		
Formulaciones	Resultados	
	24 hrs.	72 hrs.
<i>CE-1</i>	62 a A	63 a A
<i>CE-2</i>	75 a A	81 a A
<i>CE-3*</i>	46 b A	46 b A
<i>CE-5</i>	51 b A	40 b A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

*Presenta daño en la hoja, pequeñas manchas de color café en algunos sectores de la hoja.

Cuadro 5: Porcentajes de mortalidad de las formulaciones CE de extracto floral de *M. recutita* a una concentración de 5000 ppm sobre estados adultos de *B. chilensis* a 24 y 72 hrs.

% de mortalidad		
Formulaciones	Resultados	
	24 hrs.	72 hrs.
<i>CE-1</i>	50 a A	100 a B

<i>CE-2</i>	87 b A	100 a A
<i>CE-3*</i>	68 a A	100 a B
<i>CE-5*</i>	100 b A	100 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

*Presentan daño en la hoja, CE-3 pequeñas manchas amarillas en el centro y CE-5 manchas color café por toda la hoja.

El emulsificante juega un papel muy importante en estas formulaciones, ya que debe formar una especie de puente entre la parte polar y la no polar de la formulación, reduciendo la tensión superficial entre líquidos inmiscibles o superficies que presentan sólidos. En estas formulaciones hay una clara relación de concentraciones entre el extracto y el emulgador.

En la relación solvente-emulgador-ingrediente activo, queda demostrado que el solvente fue el adecuado viéndose una compatibilidad de estos, ya que no se produjo ninguna reacción química, que podía haber reducido su efectividad o habría provocado algún cambio físico en la formulación.

Para *T. urticae* las formulaciones menos efectivas fueron CE-3 y CE-5, ya que tienen un bajo porcentaje de mortalidad a las distintas horas que fueron muestreadas, incluso en CE-5 disminuye la mortalidad a las 72 horas, además si bien tienen diferencias significativas con las otras dos entre ellas no la hay. Las mejores formulaciones fueron CE-1 y CE-2, muestran un alto porcentaje de mortalidad que no disminuye después de la aplicación de 24 a 72 horas y no presentan diferencias significativas entre ellas.

Para *B. chilensis* las formulaciones menos efectivas fueron CE-1 y CE-3, ya que muestran el porcentaje de mortalidad más bajo y presentan diferencias significativas con respecto a las otras dos formulaciones, pero no entre ellas. Las que más efectivas fueron CE-2 y CE-5, ya que muestran un alto porcentaje de mortalidad y no presentan diferencias significativas entre ellas. Las cuatro formulaciones tienen un porcentaje de mortalidad de 100 % después de 72 horas; aún así CE-3 y CE-5 presentan un daño en la hoja de vid sobre todo CE-5 que la daña casi en su totalidad, por lo tanto esta no sería una buena formulación ya que uno de sus componentes afecta la hoja. Además, después de transcurrido un tiempo, se formó una emulsión de color amarillo-verdoso que se adhirió al recipiente que la contenía, diferenciándola de las demás formulaciones.

Por lo tanto, las dos formulaciones seleccionadas para llevar a cabo los bioensayos con ambos ácaros *T. urticae* y *B. chilensis* fueron CE-1 y CE-2.

5.4.1 Ensayos sobre *Brevipalpus chilensis* B. (Falsa arañita roja de la vid).

5.4.1.1 Letalidad.

Se probó la eficiencia de CE-1 y CE-2 a distintas concentraciones: 3000, 4000, 7000 y 10000 ppm. Esto mediante la aplicación directa sobre discos de hojas de vid con estados adultos y larvas. Los resultados de mortalidad obtenidos a las 24 y 72 horas, se expresan en las Cuadro 6 y 7:

Cuadro 6: Efecto letal (% de mortalidad) de distintas concentraciones de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis*.

% de mortalidad
Resultados a las 24 hrs.

Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	20 a A	89 a B
4000	38 b A	91 a B
7000	66 c A	100 a B
10000	100 d A	100 a A

% de mortalidad

Resultados a las 72 hrs.

Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	29 a A	80 a B
4000	47 a A	92 a B
7000	74 b A	95 a A
10000	96 c A	100 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Para estados adultos de *B. chilensis* las concentraciones resultaron ser directamente proporcional a los % de mortalidad, por lo tanto, a medida que aumenta la

concentración de las formulaciones aumenta la mortalidad y se podría decir que tienen un efecto letal ya que se ataca el sistema nervioso del ácaro.

Por lo tanto, la formulación de mayor eficiencia, evidenciada por los resultados tabulados, en este caso sería CE-2, ya que se obtiene una mayor mortalidad a menores concentraciones que CE-1.

No obstante, claramente se ve que ambas formulaciones tienen un efecto letal ya que estos pueden atacar el sistema nervioso del ácaro.

Cuadro 7: Efecto letal (% mortalidad) de distintas concentraciones de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* sobre estado de larva de *Brevipalpus chilensis* B.

% de mortalidad		
Resultados a las 24 hrs.		
Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	96 a A	38 a B
4000	100 a A	62 b B
7000	100 a A	97 c A
10000	100 a A	100 c A

% de mortalidad		
Resultados a las 72 hrs.		
Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2

3000	97 a A	44 a B
4000	100 a A	72 b B
7000	100 a A	100 c A
10000	100 a A	100 c A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Para larvas, las concentraciones resultaron ser directamente proporcional a los % de mortalidad, por lo tanto, a medida que aumenta la concentración de la formulación aumenta la mortalidad de la larva.

Si comparamos entre los resultados a las dos horas de revisión podemos ver que en el caso de CE-1 la mortalidad no aumenta de 24 a 72 hrs manteniéndose constante, en cambio en CE-2 la mortalidad si aumenta de 24 a 72 hrs.

Entre las formulaciones se puede observar que la mayor mortalidad se alcanza con CE-1.

Si comparamos con los resultados de ácaros adultos, en larvas la mortalidad es mayor por ser estas más sensibles al poseer características fisiológicas de mayor susceptibilidad a sustancias tóxicas. ⁽²³⁾

Por lo tanto, la formulación de mayor eficiencia, en este caso sería CE-1, ya que a concentraciones bajas la mortalidad es de 100%.

5.4.1.2 Subletalidad.

Ovicida: Se probó el efecto de las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) en una concentración de 5000 ppm, sobre huevos de *Brevipalpus chilensis* B. fueron acumulados durante 3 días, para obtener una cantidad suficiente, ya que la ovipostura por día era muy lenta. Los resultados fueron expresados en % de huevos sin eclosionar, se muestran en la Cuadro 8:

Cuadro 8: Efecto ovicida de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 5000 ppm sobre huevos acumulados de 3 días de *Brevipalpus chilensis* B.

% huevos sin eclosión			
Edad del huevo (días)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
3	94 A	81 A	14 B

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Se ve el efecto de las dos formulaciones; en el testigo-agua, los huevos sin eclosionar 14 %, que es un porcentaje muy bajo de larvas que no nacieron por un efecto natural, ya que ningún huevo fue manipulado; en cambio en las formulaciones hubo casi de un 100 % de huevos sin eclosionar, siendo CE-1 donde se obtuvo el mayor porcentaje, a pesar de esto, no hay diferencias significativas entre CE-1 y CE-2. Por lo tanto, ambas formulaciones tienen un efecto ovicida importante.

Los huevos de mayor susceptibilidad son los de más edad, ya que los embriones no comienzan a intercambiar oxígeno con el exterior (respiración) hasta un tiempo después

de haber sido ovipuestos. En el bioensayo los huevos utilizados fueron acumulados durante 3 días, por lo tanto, no eran de una edad homogénea, lo que podría indicar que las formulaciones afectan a huevos de distintas edades, lo que se debería estudiar y evaluar más detalladamente.

5.4.1.3 Repelencia.

Se probó el efecto repelente con las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) mediante la aplicación en una concentración baja de 3000 ppm, ya que con concentraciones superiores el efecto era letal. Fueron utilizadas arañas en estado adulto sobre discos de hojas de vid. Los resultados fueron expresados en % de ácaros que no ingresaron al sector tratado (repelencia), obtenidos a 1, 24, 48 y 72 horas de exposición, estos resultados los podemos encontrar en el Cuadro 9:

Cuadro 9: Efecto repelente de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* con una concentración de 3000 ppm sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B. (Falsa Araña Roja de la vid).

% Repelente			
Tiempo (horas)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
1	92 a A	96 a A	68 a B
24	84 a A	68 b B	52 a B
48	100 a A	72 b A	52 a B
72	88 a A	80 b A	56 a B

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

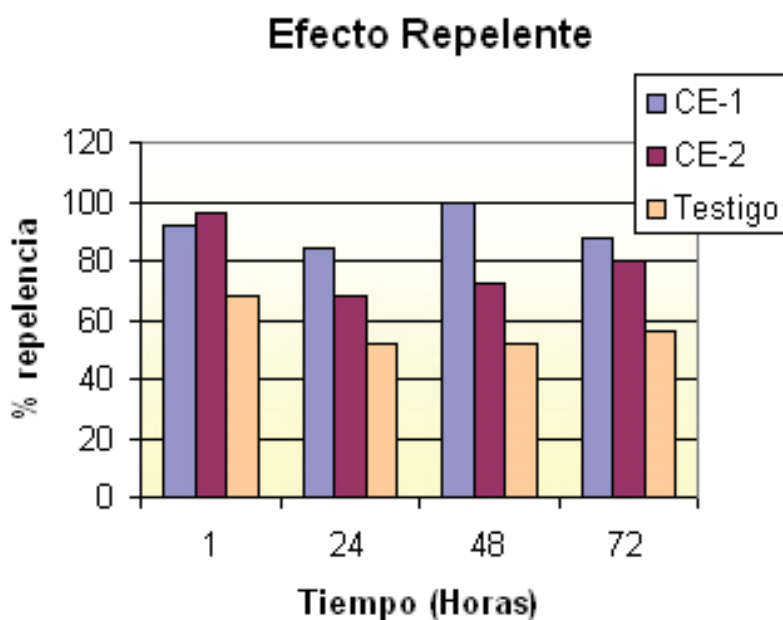
Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Los resultados muestran que ambas formulaciones tienen un efecto repelente sobre los ácaros, donde el mayor efecto repelente lo tiene CE-1.

CE-2 a diferencia de CE-1, tiene un efecto inmediato el cual disminuye en función del tiempo.

En el Gráfico N° 1 se observa más claramente como se alcanza el punto máximo de repelencia a las 48 hrs. para CE-1, lo que podría indicar que los ácaros entran en contacto con la zona aplicada para luego salir de ella, lo que demuestra que los residuos del producto causan una manifiesta repelencia; no obstante, en el testigo-agua se observó un efecto que podría ser el resultado de una serie de factores que pudieron influir en el ensayo, los que deberían ser replanteados para optimizar los resultados, como por ejemplo: cambio de hospedero desde Ligustrino a Vid.

Gráfico N° 1: Efecto repelente de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 3000 ppm sobre estados adultos de *Brevipalpus chilensis* B.



5.4.1.4 Irritancia.

Se probó el efecto irritante con las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) mediante la aplicación en una concentración baja de 3000 ppm, ya que con concentraciones superiores el efecto era letal. Fueron utilizadas arañas en estado adulto sobre discos de hojas de vid. Los resultados fueron expresados en % de ácaros que escapan del producto (irritancia), obtenidos a 1, 24 y 48 horas de exposición, estos resultados los podemos encontrar en la Cuadro 10:

Cuadro 10: Efecto irritante de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* con una concentración de 3000 ppm sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B.

% Irritante			
Tiempo (horas)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
<i>1</i>	0 a A	0 a A	0 a A

24	18 b A	18 b A	0 a A
48	24 b A	24 b A	0 a B

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

A una hora de exposición de las arañitas al producto, el efecto irritante o el escape de los ácaros, es nula, no así a las 48 hrs, donde se observa una mayor diferencia con el testigo.

Entre las formulaciones no hay diferencias, ambas tienen el mismo efecto irritante sobre las arañitas; aunque el efecto irritante aumenta en función del tiempo se debería estudiar y evaluar la respuesta del ácaro mediante un diseño experimental más apropiado, como observar su comportamiento por períodos de tiempo más largos.

5.4.2 Ensayos sobre *Tetranychus urticae* K. (Arañita bimaculada).

5.4.2.1 Letalidad.

Se probó la eficiencia de CE-1 y CE-2 a distintas concentraciones: 3000, 4000, 7000 y 10000 ppm. Esto mediante la aplicación directa sobre discos de hojas de poroto con estados adultos y larvas. Los resultados de mortalidad obtenidos a las 24 y 72 horas, se expresan en las Cuadro 11 para estados adultos y Cuadro 12 para larvas:

Cuadro 11: Efecto letal (% mortalidad) de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a diferentes concentraciones sobre estado adulto de *Tetranychus urticae* K.

% de mortalidad		
Resultados a las 24 hrs.		
Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	1 a A	1 a A
4000	1 a A	1 a A
7000	27 b A	22 a A
10000	50 b A	71 b A
% de mortalidad		
Resultados a las 72 hrs.		
Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	3 a A	8 a A
4000	1 a A	24 a B
7000	21 a A	25 a A
10000	56 a A	60 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Las concentraciones son directamente proporcionales a los % de mortalidad, por lo tanto, a medida que aumenta la concentración de la formulación aumenta la mortalidad de los ácaros, aunque a concentraciones bajas no presentan mayor efecto.

No se evidencian diferencias significativas entre las formulaciones, se puede decir que ambas tienen el mismo efecto letal sobre los ácaros.

Ambas formulaciones actuaron inmediatamente sobre el sistema nervioso del ácaro a una concentración mayor a 5000 ppm. ⁽⁶⁾

Cuadro 12: Efecto letal (% mortalidad) de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a diferentes concentraciones sobre estado de larva de *Tetranychus urticae* K. a 24 y 72 hrs.

% de mortalidad		
Resultados a las 24 hrs.		
Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	57 b A	28 a A
4000	45 a A	57 b A
7000	64 b A	90 c A
10000	97 b A	100 c A

% de mortalidad

Resultados a las 72 hrs.

Concentración aplicada (ppm)	Formulaciones	
	CE-1	CE-2
3000	58 a A	58 a A
4000	73 b A	59 a A
7000	81 b A	94 b A
10000	100 b A	97 b A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm IC 95%.

Las concentraciones son directamente proporcionales a los % de mortalidad, por lo tanto, a medida que aumenta la concentración de la formulación aumenta la mortalidad de los ácaros.

Si comparamos entre los resultados a los diferentes tiempos de revisión podemos ver que en CE-1 la mortalidad aumenta de 24 a 72 hrs.

En los resultados obtenidos la mortalidad es mayor para larvas por ser estas más sensibles que los ácaros en estado adulto, ya que tienen características fisiológicas de mayor susceptibilidad. ⁽²³⁾

Aunque la mayor mortalidad se alcanza con CE-1, entre ambas formulaciones CE-1 y CE-2 no hay diferencias significativas.

5.4.2.2 Subletalidad.

Ovicida: Se probó el efecto de las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) en una concentración de 5000 ppm, en aplicación directa sobre huevos de 24 y 72 horas de edad. Los resultados fueron expresados en % de huevos sin eclosionar y se muestran en la Cuadro 13:

Cuadro 13: Efecto ovicida de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 5000 ppm sobre huevos de 24 y 72 hrs. de edad de *Tetranychus urticae* K.

% huevos sin eclosión			
Edad del huevo (horas)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
24	54 a A	61 a A	0 a B
72	81 a A	75 a A	0 a B

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Se puede ver claramente el efecto ovicida de las formulaciones, ya que los huevos no fueron manipulados; si nos fijamos en el testigo-agua, los huevos sin eclosar fue de nula, es decir que nacieron todas las larvas, en cambio en los huevos aplicados con las formulaciones la no-eclosión supera el 50% para ambos casos (54-81%), siendo CE-1

donde se obtuvo el mayor porcentaje de no-eclosión, a pesar de esto, no hay diferencias significativas entre las dos formulaciones.

Al comparar el % de huevos sin eclosar sobre las distintas edades, se observa la mayor susceptibilidad en huevos de 72 horas de edad; este mayor efecto tóxico se debería a que los embriones habrían comenzado a respirar intercambiando oxígeno con el exterior, a través de su sistema de microcapilares que penetran el caparazón del huevo permitiendo el intercambio de oxígeno entre el embrión y la atmósfera. ⁽²³⁾

Desarrollo: Se probó el efecto de las dos formulaciones con aplicación directa de CE-1 y CE-2 a una concentración de 3000 ppm, sobre protoninfas. Los resultados fueron expresados en % de protoninfas que llegan a adulto y los podemos encontrar en la Cuadro 14:

Cuadro 14: Efecto de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 3000 ppm en el desarrollo de protoninfa de *Tetranychus urticae* K. (Arañita Bimaculada).

% que llega a adulto			
Estado	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
Adulto	50 A	54 A	100 B

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.
 Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Si comparamos ambas formulaciones podemos ver que tienen el mismo efecto Inhibidor del desarrollo, llegando a adulto sólo el 50% de los ácaros a diferencia del testigo, donde se desarrollan normalmente la totalidad de los ácaros.

Por lo tanto, los resultados implican que efectivamente la aplicación de estas formulaciones producen una alteración en los cambios morfológicos y fisiológicos provocando un retraso en el crecimiento hasta la detención del proceso de muda.

Ovipostura: Se evaluó la ovipostura por día, de hembras que llegaron a adulto después de la aplicación directa de las formulaciones a una concentración de 3000 ppm sobre protoninfas. Los resultados fueron expresados por promedio de huevos por hembra, se pueden encontrar en la Cuadro15:

Cuadro15: Ovipostura por día de hembras que llegaron a adulto después de aplicación directa de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 3000 ppm sobre protoninfa de *Tetranychus urticae* K.

\bar{X} huevos por hembra		
Formulación	Nº hembras	\bar{X} huevos
<i>Testigo/agua</i>	46	5.4 a
<i>CE-1</i>	22	1.2 b
<i>CE-2</i>	26	1.0 b

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Las hembras que llegaron a adulto en el testigo-agua ovipusieron ± 5 huevos cada una, lo que es una cantidad normal por día; pero en las hembras que fueron expuestas a las formulaciones la oviposición es casi nula, ± 1 huevo por hembra tratada.

Por lo tanto, se observa una inhibición de la ovipostura en los sectores con hembras tratadas en su desarrollo desde protoninfas, ya que estas se pudieron ver afectadas en sus órganos reproductores y en el tracto digestivo por la falta de alimentación (antifeeding) evidenciada por el daño mínimo en la hoja. ⁽²⁴⁾

5.4.2.3 Repelencia.

Se probó el efecto repelente con las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) mediante la aplicación en una concentración baja de 3000 ppm, ya que con concentraciones superiores el efecto era letal. Fueron utilizadas ácaros en estado adulto sobre discos de hojas de poroto. Los resultados fueron expresados en % de ácaros que no ingresaron al sector tratado (repelencia), obtenidos a 1, 24, 48 y 72 horas de exposición, estos resultados los podemos encontrar en la Cuadro 16:

Cuadro 16: Efecto repelente de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* con una concentraciones de 3000 ppm sobre estado adulto de *Tetranychus urticae* K.

% Repelencia			
Tiempo (horas)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
1	100 a A	100 a A	16 a B
24	96 a A	100 a A	44 a B
48	100 a A	92 a A	48 a B
72	92 a A	68 b A	48 a B

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

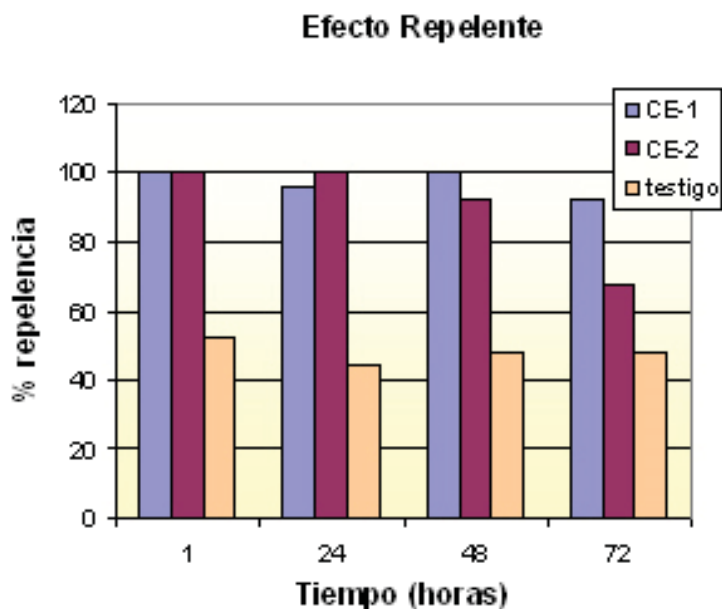
Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

A una hora de exposición de las arañas al producto, el efecto repelente de ambas formulaciones es ideal, ya que el porcentaje de ácaros que ingresa al sector tratado es nulo.

Aunque para CE-2 el efecto repelente disminuye en función del tiempo, no es así para CE-1, la cual tiene un efecto repelente mayor observándose que los ácaros entran en contacto con el producto para luego escapar de él, demostrándose que el residuo del producto causa un efecto repelente.

En el Gráfico N° 2 se observa más claramente como el efecto repelente disminuye muy poco a las 72 hrs. después de la aplicación, lo que es un buen punto, ya que la mayoría de los acaricidas repelente, después de las 48 hrs. pos-aplicación, disminuyen su efecto.

Gráfico N° 2: Efecto repelente de dos formulaciones de extracto floral de *Metricaria recutita* a una concentración de 3000 ppm sobre estados adultos de *Tetranychus urticae* K. a distintos tiempos.



5.4.2.4 Irritancia.

Se probó el efecto irritante con las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) mediante la aplicación en una concentración baja de 3000 ppm, ya que con concentraciones superiores el efecto era letal. Fueron utilizadas arañas en estado adulto sobre discos de hojas de poroto. Los resultados fueron expresados en % de ácaros que escapan del producto (irritancia), obtenidos a 1, 24 y 48 horas de exposición, estos resultados los podemos encontrar en la Cuadro 17:

Cuadro 17: Efecto irritante de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* con una concentración de 3000 ppm sobre estado adulto de *Tetranychus urticae* K. (Araña bimaclada).

% Irritancia			
+Tiempo (horas)	Formulaciones		Testigo/agua
	CE-1	CE-2	
<i>1</i>	10 a A	32 a B	0 a A

24	14 a A	38 a B	0 a A
48	20 a A	54 b B	2 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

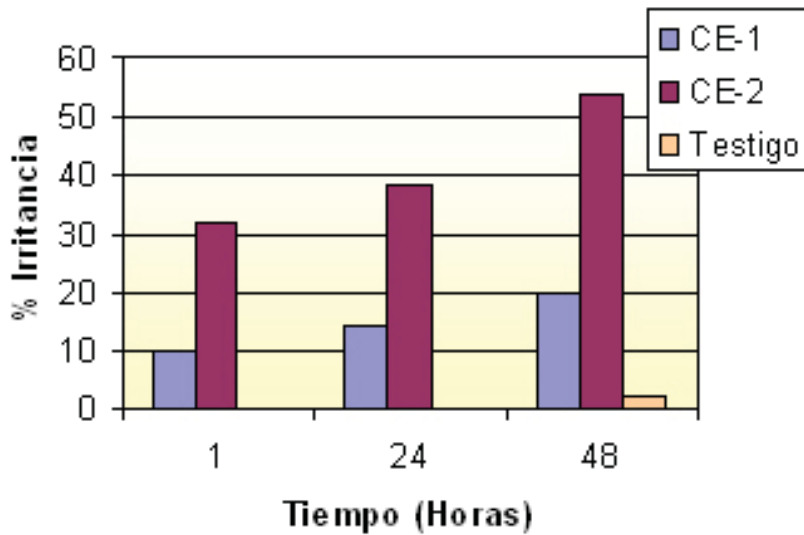
A una hora de exposición de los ácaros al producto, el escape hacia el sector libre de producto es claramente notable, aumentando en función del tiempo. Esto demuestra el efecto irritante de ambos productos.

Entre las formulaciones, CE-2 tiene un mayor efecto irritante sobre los ácaros llegando a un 50 % de escape al producto a las 48 hrs. de exposición.

En el Gráfico N° 3 se observa claramente la diferencia entre las formulaciones y la pendiente ascendente sobre el tiempo de exposición que muestra como el producto aumenta su efecto, probablemente producto de que los ácaros no podían alimentarse en los sectores tratados de las hojas.

Gráfico N° 3: Efecto Irritante de dos formulaciones de extracto floral de *Matricaria recutita* a una concentración de 3000 ppm sobre estados adultos de *Tetranychus urticae* K. a diferentes tiempos.

Efecto Irritante



5.4.3 Ensayos de tratamientos-testigo.

Aplicación directa y residual de los componentes de la formulación menos el I.A.

Se hicieron ensayos de aplicación directa y residual de los componentes de las dos formulaciones (CE-1 y CE-2) excepto el IA, sobre estados adulto de los dos tipos de ácaros, *Brevipalpus chilensis* B. y *Tetranychus urticae* K. Se observaron resultados a 24 y 72 horas y los resultados fueron expresados en % de mortalidad, se pueden encontrar en las Cuadros 18, 19, 20, 21:

Cuadro 18: Efecto de aplicación directa de: solvente, emulgador CE-1, emulgador CE-2, solvente+emulgador CE-1 y solvente+emulgador CE-2 sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B.

% mortalidad

Testigos

Resultados a las:

24 hrs.

72 hrs.

<i>agua</i>	2 a A	2 a A
<i>solvente</i>	2 a A	6 a A
<i>emulg CE-1</i>	6 a A	10 a A
<i>emulg CE-2</i>	8 a A	10 a A
<i>Solv/emlgCE-1</i>	21 a A	29 b A
<i>Solv/emlgCE-2</i>	15 a A	31 b A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

Cuadro 19: Efecto de aplicación residual de: solvente, emulgador CE-1, emulgador CE-2, solvente+emulgador CE-1 y solvente+emulgador CE-2 sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B.

Testigos	% mortalidad	
	24 hrs.	72 hrs.
<i>agua</i>	2 a A	2 a A
<i>solvente</i>	2 a A	2 a A
<i>Emulg CE-1</i>	2 a A	6 a A

<i>Emulg CE-2</i>	8 a A	12 a A
<i>Solv/emlgCE-1</i>	20 a A	25 a A
<i>Solv/emlgCE-2</i>	15 a A	20 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%

Cuadro 20: Efecto de aplicación directa de: solvente, emulgador CE-1, emulgador CE-2, solvente+emulgador CE-1 y solvente+emulgador CE-2 sobre estado adulto de *Tetranychus urticae* K.

Testigos	% mortalidad	
	24 hrs.	72 hrs.
<i>agua</i>	6 a A	8 a A
<i>solvente</i>	16 a A	22 a A
<i>Emulg CE-1</i>	20 a A	22 a A
<i>Emulg CE-2</i>	22 a A	24 a A
<i>Solv/emlgCE-1</i>	25 a A	20 a A
<i>Solv/emlgCE-2</i>	8 a A	8 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media I.C. 95%.

Cuadro 21: Efecto de aplicación residual de: solvente, emulgador CE-1, emulgador CE-2, solvente+emulgador CE-1 y solvente+emulgador CE-2 sobre estado adulto de *Tetranychus urticae* K.

Testigos	% mortalidad	
	24 hrs.	72 hrs.
<i>agua</i>	4 a A	6 a A
<i>solvente</i>	8 a A	10 a A
<i>Emulg CE-1</i>	10 a A	30 b A
<i>Emulg CE-2</i>	30 a A	34 b A
<i>Solv/emlgCE-1</i>	28 a A	22 a A
<i>Solv/emlgCE-2</i>	13 a A	13 a A

Letras diferentes y minúsculas indican diferencias significativas entre las medias, comparadas verticalmente.

Letras diferentes y mayúsculas indican diferencias entre las medias comparadas horizontalmente.

Andeva, Tukey, Media \pm I.C. 95%.

En el efecto de aplicación directa, la mortalidad que se tiene con agua, solvente y emulgador cada uno por separado, es baja y se podría decir casi nula. En los emulgadores la mortalidad es un poco mayor, pero sin diferencias entre ellos, y en el solvente la mortalidad es similar al agua, pero cuando se tiene la mezcla solvente + emulgador la mortalidad, a pesar de ser baja, aumenta comparativamente, por lo tanto, podemos decir que esta mezcla sirve de coayudante del efecto tóxico que posee el extracto, es decir, que esta mezcla tiene una propiedad sinérgica, aumentando la toxicidad de la formulación.

En el efecto de aplicación residual ocurre lo mismo que en aplicación directa, pero la mortalidad disminuye.

Los resultados demuestran que la formulación más efectiva es CE-2, aunque ambas formulaciones tienen efecto sobre los dos tipos de ácaro los Gráficos N° 4 y 5 muestran que su mayor efecto letal se encuentra sobre *Brevipalpus chilensis*. Podríamos decir que el ácaro es más susceptible que *Tetranychus urticae*.

Gráfico N° 4: Efecto letal (% de mortalidad) de CE-1 sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B. y *Tetranychus urticae* K.

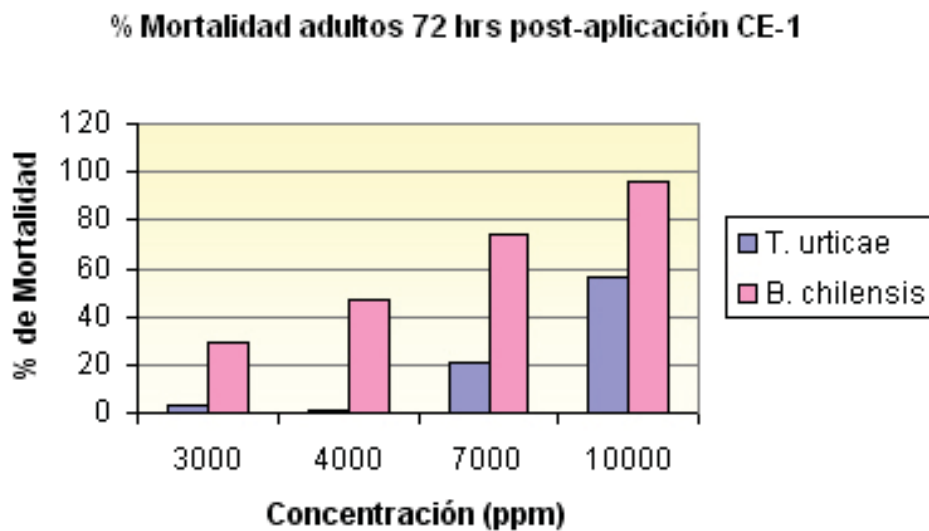
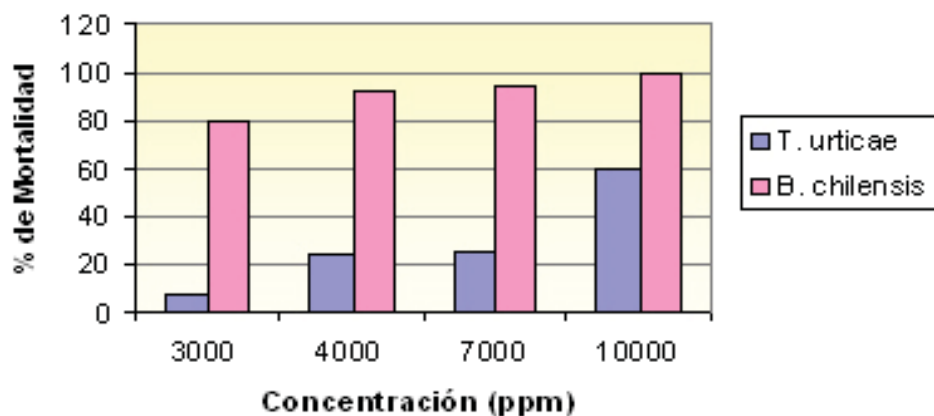


Gráfico N° 5: Efecto letal (% de mortalidad) de CE-2 sobre estado adulto de *Brevipalpus chilensis* B. y *Tetranychus urticae* K.

**% Mortalidad adulto 72 hrs post-aplicación
CE-2**



6 Conclusión.

Los estudios realizados con formulaciones a partir de extracto floral de *Matricaria recutita* (Manzanilla Alemana) sobre *Tetranychus urticae* Koch (Arañita Bimaculada) y *Brevipalpus chilensis* Baker (Falsa Arañita Roja de la Vid) demuestran su alta propiedad acaricida, ya que al ser aplicado sobre estos ácaros provoca diferentes efectos tanto letales como alteraciones en el proceso biológico natural.

Para el caso de Arañita Bimaculada los efectos observados post-aplicación del producto son: letalidad sobre adultos y larvas, ovicida, paralización de muda, inhibición de ovipostura, irritancia y repelencia.

Los efectos post-aplicación del producto en la Falsa Arañita Roja de la Vid son de letalidad para adultos y larvas y efecto ovicida; este ácaro resultó ser más sensible al producto que la Arañita Bimaculada.

El efecto causado por este producto es de gran relevancia para el control de plagas de importancia económica, como es el caso de Falsa Arañita Roja de la Vid, ya que afecta principalmente los viñedos de nuestro país. Por lo tanto, se puede contribuir a su posible control de productos naturales no dañinos para el hombre y el medio ambiente.

7 Proyecciones.

7.1 Estudios y ensayos de fitotoxicidad sobre plantas.

Estos productos provocan efectos subletales como paralización de muda e inhibición del desarrollo normal del huevo, lo que debería ser estudiado con mayor detenimiento y más a fondo, tanto a nivel bioquímico como fisiológico.

Realizar bioensayos a nivel de campo, para tener mayores antecedentes sobre estos productos al encontrarse en el medio y en contacto con otras plagas agrícolas.

Son necesarios mayores estudios con Falsa Arañita Roja de la Vid por su gran importancia actual, ya que afecta principalmente la producción de vinos, por lo tanto, sería necesario hacer estudios de costo y producción.

Bibliografía

- (1) Libro electrónico: *Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente*. www.esi.unav.es/Asignaturas/Ecología/Hipertexto/09ProdQui/110Pestic.htm
- (2) González Roberto H., 1989, “*Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria de Chile*”, Edición: Vértice comunicación publicitaria. P: 249 – 254.
- (3) Apéndice V. www.casafe.org/manual/glosario.html
- (4) Ware George W. Professor Emeritus, “*An Introduction to Insecticides*”, Department of Entomology. University of Arizona, Tucson, Arizona. www.ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm
- (5) United Nations Industrial Development Organization, “*Formulation of pesticides in developing countries*”. New York, 1983.
- (6) Nuñez M. Vanessa, 2000, tesis “*Evaluación de la toxicidad letal de un extracto floral de manzanilla alemana (Matricaria recutita) y sus principios activos, sobre araña bimaclada (Tetranychus urticae K)*” UCV.
- (7) Ripa S. Renato, Fernando Rodríguez A, 1999. Centro Experimental de Entomología La Cruz, “*Plagas de cítricos, sus enemigos naturales y manejo*”, Edición: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Santiago, Chile.

- (8)www.mst.dlk/areas/05010000.htm#top
- (9)Moggia C. Brunella, 2000, Tesis: “*Desarrollo de formulaciones de pesticidas botánicos derivados de plantas endémicas de la V región*” Universidad Católica de Valparaíso.
- (10)G. Herrera Villamil. 1959, “*Biología y control de la falsa araña roja de la vid (Brevipalpus chilensis Baker)*”. Estación Nacional de Entomología, La Cruz, Chile.
- (11)Kabir K. H., R.B. Chapman y D.R. Penman. 1990, Department of entomology, Lincoln University, ” *The precision and utility of bioassay methods for testing miticides against spider mites*”, Proc. 43rd N.Z. Weed and Pest Control Conf. P: 278-281.
- (12)Vargas R., B. Chapman. y D. Penman, “*Toxicidad de thuringiensin en estados inmaduros y adultos de Tetranychus urticae y Panonychus ulmi (Acarina: Tetranychidae)*”, Agricultura técnica, 62(1): 3-14. Chile.
- (13)Lind P.O., J.G. Bruhn. Lakartidningen 1984. “*Efectos biológicos de la manzanilla*”. Dic 1981:51, 4846-4849.
- (14)Mann, C. and E.J. Staba. 1986. In: Craker, L.E. and J.E. Simon (eds). *Herbs, Spices and Medicinal Plants Recent Advances in Botany, Horticulture and Pharmacology*. Phoenix: Oryx Press. 235-280.
- (15)Chamomile. Descripción, propiedades médicas, método de acción de los principios activos. Por Karyl Kline. <http://www.healthywave.com/ingredients/chamomile.html>
- (16)Brisset, N. G. (ED)., 1994. *Max wichtl Herbal Drugs And Phytopharmaceuticals: A Handbook for practice on a scientific basis*. Stuttgart: Med Pharm Scientific Publishers CRC Press.,P: 322-325.
- (17)Matricaria recutita. Fotos flores. <http://www.linnaeus.nrm.se/flora>
<http://www.msinp.com/herbs/product/chamomile/camomile.htm>
- (18)Aplaza Hidalgo Jaime, 1994, 1995. “*Introducción a la entomología general y agrícola*”, Ediciones Universitarias Católica de Chile. Santiago.
- (19)Primo Yufra Eduardo. 1991, 1995. “*Ecología Química. Nuevos métodos de lucha contra insectos.*”, Ediciones Mundi-Prensa.
- (20)Lagunes, T. and L. Rodríguez,. 1999. “*Control de plagas con extractos vegetales.*”
- (21)AFIFA. A.G “*Manual Fitosanitario 2002-2003*”, Gredos Ltda. Editores.
- (22)Vargas R. and N. Olivares. 2001. Evaluaciones de parámetros y poblaciones en los ácaros fitoseidos, “*T. pyri y A. Chilensis, como potenciales controladores del ácaro fitófago Brevipalpus chilensis Baker*”.

(23) Crooker A. 1985, "*Embryonic and Juvenile Development*" in "*World Crop Pest. Spider mites. Their Biology, Natural enemies and Control*". Editor-I-Chief. The Netherlands. Vol 1 A, P: 149-163.

(24) Alberti G. and A. R. Crooker, 1985, "*Internal Anatomy*" in "*World Crop Pest. Spider mites. Their Biology, Natural enemies and Control*". Editor-I-Chief. The Netherlands. Vol 1 A, P: 29-58.