

Cómo determinar la repelencia de sustancias aleloquímicas sobre las moscas blancas

Luko Hilje¹

Introducción

Hasta ahora se han descrito unas 1200 especies de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae), de las cuales destacan dos como plagas agrícolas, ambas cosmopolitas: *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*. En el plano mundial, los problemas realmente serios con la primera de ellas comenzaron hace unos 15 años y la reacción inmediata de los agricultores fue aplicar insecticidas de amplio espectro (piretroides, organofosforados, carbamatos, organoclorados y detergentes), solos o en mezclas. Sin embargo, en general los resultados fueron insatisfactorios, especialmente por la notoria capacidad de dicha plaga para desarrollar resistencia a dichos productos.

Pero, además, en los casos en que *B. tabaci* actúa como vector de virus, la situación se complica más, ya que los daños pueden ser serios aunque la densidad del vector sea muy baja. Por ejemplo, en Costa Rica se ha observado que con apenas 0,3 adultos/planta en promedio (es decir, un adulto por cada tres plantas) es posible que todas las plantas de un campo de tomate resulten infectadas con geminivirus y enfermen. Es decir, aun algunos insecticidas que son eficaces para disminuir las poblaciones de *B. tabaci* difícilmente podrían reducirlas por debajo de esta cifra o umbral de daño.

Ante tal situación, sería deseable evitar que *B. tabaci* inocule los virus durante la etapa fenológica en que el cultivo es más susceptible a ellos (período crítico). Por ejemplo, en el caso del tomate, el efecto de varios geminivirus sobre el rendimiento comprende los primeros 50-60 días desde la emergencia de la planta. Por tanto, las medidas de manejo se deberían concentrar en dicho intervalo para retardar la epidemia viral, pues es imposible evitarla. Ello podría lograrse mediante la aplicación de sustancias repelen-

tes o disuasivas, complementada con otras prácticas, deseablemente preventivas, dentro de la noción y prácticas del manejo integrado de plagas (MIP).

Cuestiones conceptuales y prácticas

En general, entre técnicos y agricultores, el concepto de “repelente” se utiliza de manera poco rigurosa. Por tanto, debido a su importancia científica y valor práctico, es fundamental clarificar dos conceptos que a menudo se confunden: *repelente* y *disuasivo*.

En la naturaleza hay muchos tipos de sustancias, algunas de las cuales son “portadoras de un mensaje”, por lo que se les llama *semioquímicas* o *infoquímicas*. Cuando la comunicación ocurre entre especies diferentes, incluyendo insectos y plantas, se les llama *sustancias aleloquímicas*. Así, un *repelente* es una sustancia que provoca reacciones de alejamiento en el insecto antes de que llegue a una planta. Por su parte, un *disuasivo* inhibe algún tipo de actividad (alimentación u deposición de huevos) una vez que el insecto ha sido atraído. En términos prácticos, en el primer caso no habría posibilidad alguna de inocular los virus, mientras que en el segundo caso sí podría haberla, sobre todo dependiendo del tiempo de permanencia del vector sobre la planta.

Normalmente, en un insecto los receptores de olores (de sustancias repelentes) están en las antenas, mientras que los de sabores (de sustancias disuasivas) aparecen en el aparato bucal. En el caso de *B. tabaci*, en la punta del labio posee pelos o setas sensoriales diminutas, que posiblemente actúan como receptores químicos (quimiorreceptores). Esto indica que pueden responder a sabores u olores, por lo que podrían ser repelidos o disuadidos por algunas sustancias.

¹ Departamento de Agricultura y Agroforestería. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. lhlje@catie.ac.cr

Sin embargo, cabe indicar que experimentalmente es difícil distinguir un repelente de una sustancia disuasiva de la alimentación (fagodisuasiva). En primer lugar, las relaciones planta-insecto son mucho más complejas pues, además de sustancias repelentes y disuasivas, existen supresivos y anorexigénicos. Los supresivos inhiben el inicio de la alimentación o la oviposición, los disuasivos impiden la continuación de dichos procesos, y los anorexigénicos causan la pérdida del apetito. Es decir, la distinción entre estos tres últimos fenómenos es sumamente fina, casi imposible de discernir, a menos que se cuente con equipo muy sensible y sofisticado.

¿Cómo buscar sustancias repelentes?

Pudiera ser que *B. tabaci*, al igual que otros insectos, reaccione tanto ante sustancias sintéticas como naturales. No obstante, hoy que existe tanto interés en la preservación y aprovechamiento económico de la biodiversidad tropical, y puesto que los bosques tropicales albergan numerosos organismos potencialmente útiles en los campos farmacéutico, agrícola, etc., es pertinente explorar y utilizar principios activos vegetales contra las plagas. Entre la gran diversidad de compuestos defensivos (metabolitos secundarios) que las plantas poseen, hay alcaloides, esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos y terpenoides.

Un punto de partida para la búsqueda de sustancias repelentes o disuasivas son las referencias etnobotánicas, algunas de las cuales se han recopilado en libros formales. No obstante, esta información no siempre es verídica, pues está basada en anécdotas de agricultores y no en experimentos rigurosos. Se podría decir que no hay agricultor que no tenga un consejo sobre alguna planta con efecto repelente sobre cierta plaga, incluyendo las moscas blancas (lo cual se ha demostrado experimentalmente que es infundado).

Otra opción, que se ha aplicado con bastante éxito en *B. tabaci*, es buscar plantas con poca o nula afinidad taxonómica con los hospedantes más frecuentes de dicha plaga. En este caso, se parte de la premisa de que la ausencia de representantes de ciertas familias (por ejemplo, Alliaceae, Simaroubaceae, Winteraceae, etc.) es indicativo de que en dichas familias hay sustancias adversas (repelentes, disuasivas o insecticidas) para *B. tabaci*. Sin embargo, esto no significa que en especies emparentadas con aquellos hospedantes (por ejemplo, Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, etc.) no pudiera hallarse esos tipos de sustancias.

Hasta hoy, y tras casi un decenio de investigación,

en el CATIE se han evaluado unos 25 extractos provenientes de varias especies y estructuras vegetales, algunos de ellos con efectos claramente disuasivos. Se trata de extractos crudos hidroalcohólicos preparados según los protocolos de extracción empleados en el laboratorio del Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica.

Para preparar los extractos crudos de esas plantas, las muestras del material vegetal pertinente se secan en un horno de convección a 40 °C. Se muelen y luego se maceran en metanol al 70% por 24 h, a temperatura ambiente. Las disoluciones obtenidas se filtran en papel Whatman N° 4 y el residuo sólido se extrae de nuevo con metanol al 80% para aumentar el rendimiento del proceso. Los productos de las dos extracciones se mezclan y luego se concentran al vacío en un baño de agua a 40 °C, utilizando un rotavapor. Posteriormente, el extracto se pasa por un liofilizador para eliminar el agua remanente de los residuos.

Pero, además, en cuanto a posibles repelentes en el sentido estricto, se han evaluado unas 20 sustancias puras de origen vegetal (alcoholes, aldehídos y otras), formuladas en los laboratorios de la empresa ChemTica Internacional, en Santo Domingo de Heredia, Costa Rica.

Algunos problemas metodológicos

La literatura formal sobre el tema aquí discutido es bastante escasa. Con algunas excepciones recientes, la información disponible aparece compilada en Veierov (1996), pero hay problemas evidentes, como se discute a continuación:

- a. Aun en artículos de revistas científicas reputadas, se ha señalado (pero no documentado rigurosamente) que varias sustancias repelen a *B. tabaci*, tales como algunos aceites minerales (JMS Stylet-Oil y Sunspray), aceites vegetales, extractos acuosos de semilla del árbol de nim (*Azadirachta indica*) e insecticidas sintéticos (clordimeformo, endosulfán y bifentrina). Sin embargo, un examen detallado de dicha información revela que, tanto por la naturaleza química de las posibles sustancias involucradas como por el tipo de respuesta del insecto, más bien pareciera tratarse de disuasión.
- b. La información disponible sobre la eficacia de dichas sustancias es incierta, pues generalmente se han evaluado de manera individual, lo cual impide hacer comparaciones entre ellas. Asimismo, se percibe que mucha de ésta es contradictoria o fragmentaria, lo cual obedece en parte a la carencia de protocolos de

investigación uniformes, que permitan la comparación entre los resultados de diferentes autores.

c. Las metodologías utilizadas varían entre los autores y, en algunos casos, parecieran no medir la repelencia en el sentido estricto, sino más bien el efecto insecticida de las sustancias evaluadas. Esto es muy evidente en experimentos realizados en invernaderos, en los cuales la menor cantidad de adultos posados en las plantas tratadas con cierta sustancia podría ser una expresión de toxicidad y no necesariamente de repelencia o disuasión.

Determinación de repelencia y disuasión

Lo indicado previamente justifica el esfuerzo por estandarizar las metodologías pertinentes para obtener datos confiables y comparables y ojalá poder tamizar sustancias de manera rápida y eficiente. A continuación se describe la experiencia acumulada por el CATIE:

Fuente de moscas blancas

Los adultos por utilizar deben provenir de la misma fuente u hospedante (normalmente se utiliza una mezcla de plantas de tomate y berenjena) e, idealmente, deben estar recién emergidos, por lo que se recomienda mantener colonias permanentes de *B. tabaci*. Para los experimentos, aunque sería deseable determinar su edad y sexo y liberarlos en las cajas de manga en una proporción de sexos equivalente, eso implicaría manipularlos, con un gran riesgo de lastimarlos, debido a su pequeño tamaño y fragilidad. Por tanto, para subsanar problemas de sesgos en tal sentido, se recomienda colocar un alto número de los insectos (al menos 50 para cada repetición) para aumentar la probabilidad de lograr una proporción de sexos cercana a 1:1 y tener una amplia representación de edades.

Para los experimentos, los adultos se toman de la colonia con un aspirador. Se recomienda perturbarlos previamente, para que saquen su estilete del follaje y no resulten lastimados. Esto debe hacerse temprano por la mañana, preferiblemente antes de las 9 h. Una vez liberados los adultos en las cajas de manga, se debe revisar el frasco recolector del aspirador para, en caso de adultos muertos, reemplazarlos para compensar la mortalidad debida a la manipulación.

Aspersión de las sustancias

Las plantas de cada tratamiento se asperjan con cada sustancia por evaluar, en forma separada, fuera del invernadero. Para la aspersión, se colocan sobre una mesa y se rocían por el envés y el haz del follaje,

mediante un atomizador DeVilbiss 15, de punta ajustable (The DeVilbiss, Somerset, PA, EUA), conectado a una bomba de vacío (Fig. 1), con una presión constante de 10 kg/cm². Una cantidad de 30 mL del preparado (caldo) de cada dosis del extracto es suficiente para atomizar las cuatro plantas de tomate correspondientes a las repeticiones. Puesto que siempre se utiliza un aceite mineral (disuasivo) como testigo, debe adicionarse un emulsificante (Citowett, Nu-Film, etc.) para homogeneizar su distribución en el agua y también mejorar su adherencia al follaje.



Figura 1. Atomizador DeVilbiss 15 conectado a una bomba de vacío (Foto: Guillermo Flores).

Plantas y cajas de manga

Las plantas de tomate para los experimentos deben ser pequeñas, de 15-20 cm y 22-30 días de edad. Deben producirse aisladas de los adultos de *B. tabaci* y con un buen manejo (riego, fertilización y fitosanidad) para garantizar su calidad. Una vez asperjadas, se introducen en cajas 30 min después de la aplicación de cada extracto. Se recomienda emplear cajas con manga de 30 x 30 x 45 cm, las cuales tienen paredes de madera, malla fina y vidrio. En cada caja se colocan dos macetas (Fig. 2).



Figura 2. Caja con manga para los experimentos de escogencia restringida (Foto: Guillermo Flores).

Aspectos experimentales

Cuando iniciamos trabajos sobre el tema (p. ej., Gómez *et al.* 1997), cometimos un importante error, el cual consistió en que dentro de cada caja con manga se colocaban dos macetas, pero ambas asperjadas con el mismo extracto, para que los adultos tuvieran más área foliar para posarse.

Aunque esto permitió detectar claramente los efectos biológicos sobre los adultos, no fue posible discernir entre disuasión y toxicidad. Además, es muy probable que ante un extracto de gran poder disuasivo muchos adultos evitaran posarse en cualquiera de las dos plantas tratadas con éste y, al volar excesivamente dentro de la caja y no poder alimentarse, murieran por factores como el estrés térmico, el agotamiento de las reservas de energía o la deshidratación.

Este error fue debidamente subsanado al variar el dispositivo experimental, colocando dos macetas por caja, una asperjada con la dosis del extracto respectivo y la otra con agua destilada (testigo) (Fig. 2) (p. ej., Aguiar *et al.* 2003). Así, en estos experimentos de escogencia restringida, los adultos de *B. tabaci* tienen la opción de elegir entre ambas plantas. La fago-disuasión se expresa como la reticencia de los adultos a permanecer en la planta tratada con cierto extracto, una vez que se han posado en ella y, presumiblemente, haber entrado en contacto con las sustancias disuasivas presentes en el extracto, por lo que se acumulan en la planta sin tratar, de manera progresiva.

Cabe indicar que el tipo de diseño experimental empleado permite hacer comparaciones solamente entre la planta tratada y la no tratada, pero no en cuanto a la eficacia relativa de la dosis de cada extracto. En este caso, normalmente se comparan cuatro dosis entre sí, así como con cuatro tratamientos

testigo: agua destilada, el emulsificante, endosulfán (testigo químico) y un aceite mineral. Sin embargo, sí permite discernir entre disuasión y toxicidad, cuando se contabiliza el número total de adultos muertos en cada caja al final del experimento. Si las diferencias entre el número de adultos entre la planta tratada y la no tratada son significativas en términos estadísticos, pero la mortalidad es baja, eso es evidencia de que los adultos, estando vivos, evitaron la planta tratada. Esto se ilustra aquí con el caso del extracto crudo del follaje de madero negro (*Gliricidia sepium*, Fabaceae) (Fig. 3), que es un árbol común en algunas plantaciones agroforestales y en cercas vivas.

Una vez detectado el efecto disuasivo, es posible seleccionar las dosis más eficaces de los extractos más promisorios y evaluarlas mediante experimentos de escogencia irrestricta. Esto se hace en mesas de invernadero (Fig. 4), en macetas descubiertas, para exponer las plantas tratadas a la colonia de *B. tabaci* allí presente, de modo que los adultos que vuelan libremente elijan dónde posarse.



Figura 4. Plantas de tomate expuestas a los adultos de *Bemisia tabaci* en experimentos de escogencia irrestricta (Foto: Guillermo Flores).

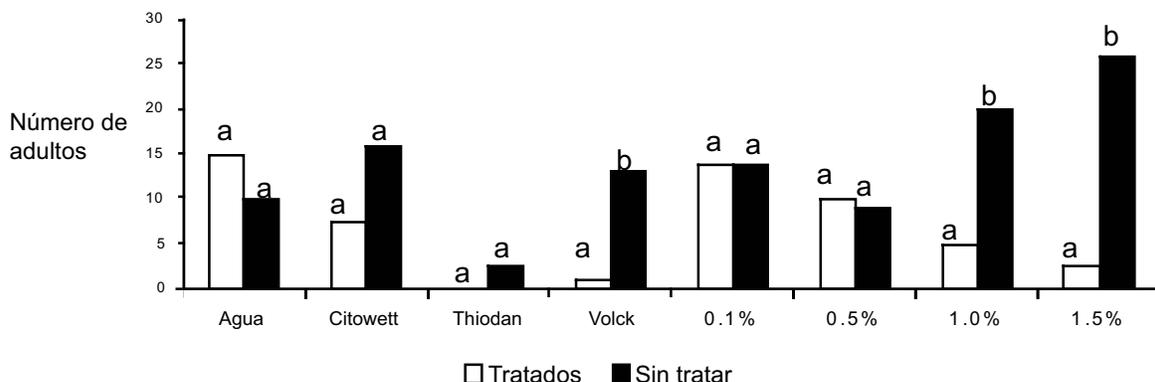


Figura 3. Número promedio de adultos de *Bemisia tabaci* 48 h después de que el extracto de madero negro fuera aplicado a plantas de tomate, en un experimento de escogencia restringida. Los promedios seguidos por la misma letra en cada par de barras no difieren estadísticamente ($P=0,05$).

Para ambos tipos de experimento es recomendable utilizar un diseño irrestricto al azar, debido a la homogeneidad de las condiciones en el invernadero. La unidad experimental está representada por la maceta con cada planta de tomate que recibió el tratamiento respectivo. Sin embargo, para la mortalidad, la unidad experimental está representada por la caja de manga. En ambos casos el número de adultos (y de huevos, que también se contabilizan, pues podrían ser un indicio de ovidisuasión) se someten a un análisis de varianza, y las medias de cada tratamiento se comparan mediante alguna de las pruebas pertinentes, como la de Duncan.

Literatura recomendada

- Aguiar, A; Kass, DC; Mora, GA; Hilje, L. 2003. Fagodisuasión de tres extractos vegetales sobre los adultos de *Bemisia tabaci*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 68:62-70.
- Cubillo, D; Hilje, L. 1996. Repelentes. In L. Hilje. ed. *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. Turrialba, CR, CATIE. p. 77-83. (Serie Materiales de Enseñanza no. 37).
- Gómez, P; Cubillo, D; Mora, GA; Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II. Extractos vegetales. *Manejo Integrado de Plagas* 46:17-25.
- Veierov, D. 1996. Physically and behaviorally active formulations for control of *Bemisia*. In Gerling, D; Mayer, RT. eds. *Bemisia 1995: Taxonomy, biology, damage control and management*. Andover, UK, Hants. p. 557-576.