

EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper auritum* KUNTH, 1816 (PIPERACEAE) SOBRE *Diaphania hyalinata* LINNAEUS, 1767 (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) PLAGA DE *Cucurbita argyrosperma* HUBER (Cucurbitaceae) EN CAMPECHE, MÉXICO

Carlos Granados-Echegoyen¹✉, Jonathan Juárez-Pelcastre², Nancy Alonso-Hernández³, Ricardo Efraín Góngora-Chin⁴

¹CONACYT. Universidad Autónoma de Campeche. CEDESU. Laboratorio de Entomología Aplicada. Av. Agustín Melgar S/N. Colonia Buenavista. C. P. 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

²Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, Licenciatura en Agrotecnología, San Juan-Tepatepec, C. P. 42660, Hidalgo, México.

³Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agronómicas Aplicadas y Biotecnología (SOMUCAAB A.C.). Manantial de Morelia No. 55, Col. Los Manantiales de Morelia, C. P. 58188, Morelia, Michoacán de Ocampo.

⁴Universidad Autónoma de Campeche. CEDESU. Laboratorio de Flora. Av. Agustín Melgar S/N. Colonia Buenavista. C. P. 24039, San Francisco de Campeche, Campeche; México.

✉ Autor de correspondencia: granados.echegoyen@yahoo.com

RESUMEN. Se analizó y valoró el control de larvas de tercer ínstar temprano de *Diaphania hyalinata* con el aceite esencial de hojas frescas de *Piper auritum* (Piperaceae) para disminuir el uso de insecticidas organosintéticos, y de esta manera reducir el impacto ambiental provocado por los mismos. Esta plaga es la más importante económicamente para los cultivos de cucurbitáceas, ya que las larvas se alimentan de hojas tiernas, brotes, flores y frutos de sus hospederos. Se aplicaron concentraciones de 1500, 1250, 1000, 750, 500, 250 ppm. Se utilizaron recipientes de plásticos tipo almeja. Se colocaron en cada recipiente 20 gusanos de tercer ínstar larval aplicándoles 1 µl de solución en la superficie torácica dorsal de cada larva mediante un microaplicador (Hamilton Company Nevada). A las 48 horas posteriores a la aplicación se contabilizó el número de larvas muertas en cada repetición, considerando muertas aquellas que no reaccionaran al estímulo de un pincel o que presentaran necrosis. Se logró controlar más del 50 % de la población del insecto con concentraciones superiores a 1250 ppm obteniendo un valor de CL_{50} de 1099.25 ppm. Se reporta por primera vez, el efecto positivo del aceite esencial de *Piper auritum* para el control de este lepidóptero de importancia en los cultivos de cucurbitáceas.

Palabras Clave: larvas, tercer ínstar, calabaza chiuva, efecto positivo.

Effect of the *Piper auritum* Kunth, 1816 (Piperaceae) essential oil on *Diaphania hyalinata* Linnaeus, 1767 (Lepidoptera: Crambidae) on *Cucurbita argyrosperma* (Cucurbitaceae) crops

ABSTRACT. Control of *Diaphania hyalinata* early third instar larvae with the essential oil of fresh leaves of *Piper auritum* (Piperaceae) was analyzed and assessed to reduce the use of organosynthetic insecticides, and thus reduce the environmental impact caused by them. This pest is the most economically important for the cultivation of cucurbits, since the larvae feed on young leaves, shoots, flowers and fruits of their hosts. Concentrations of 1500, 1250, 1000, 750, 500, 250 ppm were applied. Clam-type plastic containers were used. Twenty third instar worms were placed in each container by applying 1 µl of solution to the dorsal thoracic surface of each larva using a microapplicator (Hamilton Company Nevada). At 48 hours after application, the number of dead larvae in each repetition was counted, considering dead those that did not react to the stimulus of a brush or that presented necrosis. It was possible to control more than 50 % of the insect population with concentrations above 1250 ppm, obtaining a LC_{50} value of 1099.25 ppm. The positive effect of the essential oil of *Piper auritum* for the control of this important lepidopteran in the culture of cucurbits is reported for the first time.

Keywords: larvae, third instar, chiuva squash, positive effect.

INTRODUCCIÓN

Las plagas de los cultivos son una de las principales causas de pérdidas en las cosechas, y por ende un número mayor de pérdidas económicas en la agricultura mundial (FAO, 2017). El problema se agrava en países en vías de desarrollo; como la mayor parte de los países latinoamericanos, incluyendo a México, la presencia del cambio climático trae consigo condiciones agroclimáticas diferentes en todas las regiones agrícolas de la región, bajo las cuales se están llevando a cabo prácticas agrícolas inadecuadas que ocasionan la proliferación o aparición de plagas que superan los umbrales de daños económicos (Ruíz *et al.*, 2013).

En el estado de Campeche, sureste de México (Península de Yucatán), el cultivo de calabaza *Cucurbita argyrosperma* Huber (Cucurbitaceae) conocida como “Chiuu”, o en lengua Maya como “x-top”, es un cultivo muy importante en el estado. En 2014, el valor de la producción de semilla fue de 6 % del valor total de la producción agrícola del Estado, los principales municipios productores de Campeche son Candelaria, Escárcega, Campeche y Champotón. La participación de los últimos años de los municipios de Candelaria y Escárcega ha sido notoria, debido a que en el transcurso de dos años 2012-2014 mostró una tasa de crecimiento media anual (TCMA) de 234 % y 101 %, respectivamente (Dorantes *et al.*, 2016). En el municipio de Champotón la TCMA de 2009 a 2014 fue 18.4 %, y la producción se mantuvo constante ocupando el tercer y cuarto lugar en superficie dedicada al cultivo, después de maíz para grano, caña de azúcar y sorgo para grano (SAGARPA, 2016, Loeza-Deloya *et al.*, 2016).

Sin embargo, el cultivo de calabaza chiuu es afectado por los estados inmaduros de *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) una de las plagas más importantes en cultivos de cucurbitáceas (Capinera, 2014), los instares larvales jóvenes se alimentan de las flores, tallos y follaje, mientras que los estadios posteriores se les encuentra barrenando la cascara y pulpa de los frutos (Soria *et al.*, 1996). El ciclo de vida dura entre 20 y 26 días, pudiendo dar un número considerable de generaciones en el año (Martínez *et al.*, 2006), más del 90 % de los cultivos de cucurbitáceas son afectadas por este lepidóptero, y los métodos de control que comúnmente se utilizan son agroquímicos sintéticos; por ejemplo, Carbarilo, Ipermetrina, Endosulfan, Malation, Metamidofos, y Paratión Metilo, que son consideradas altamente dañinas para el medio ambiente y su uso inmoderado afecta al hombre y a la entomofauna asociada (Ruiz-Sánchez *et al.*, 2008).

Entre las alternativas naturales para el control de insectos se encuentran los extractos vegetales y aceites esenciales que son usados para tratar y mitigar el uso de los insecticidas químicos con favorables resultados (Martínez *et al.*, 2006). *Piper auritum* pertenece a la familia Piperaceae y es comúnmente conocida como "hierba santa", "acoyo", "momo", "higuerilla", "hoja santa de María", "hoja de estrella", "Xmaculan" (maya) (Quisbert, 2006). Las hojas de esta especie vegetal contienen elevadas concentraciones de safról, un fenilpropanoide con propiedades bio-insectistáticas (EFSA, 2009).

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo valorar la efectividad biológica del aceite esencial de hojas frescas de *Piper auritum* (Piperaceae) sobre *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Crambidae) en calabaza chihua (*Cucurbita argyrosperma*), y de esta manera determinar la mortalidad de larvas de tercer ínstar mediante el método de contacto a través de la aplicación de micro gotas del aceite esencial sobre el tórax del insecto.

MATERIALES Y MÉTODO

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología Aplicada (LEA) del Centro de Estudios de Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre (CEDESU) de la Universidad Autónoma de Campeche (UAC) (19° 48'5.09" N, 90° 30'17.265" O).

Colecta de estados inmaduros del insecto. Se colectaron frutos ($\cong 100$) de calabaza chiuva en una parcela agrícola de subsistencia infestada por larvas de *D. hyalinata* en la localidad de Kikab ($19^{\circ} 17'20''$ N, $90^{\circ} 12'33.001''$ O) a una altura de 40 metros sobre el nivel del mar (msnm) del municipio de San Francisco de Campeche. Los frutos infestados con larvas fueron trasladados en cubetas de plástico al laboratorio donde se separaron de acuerdo al ínstar correspondiente (Hernández *et al.*, 1995; Méndez, 2003) y conservados a una temperatura de 27 ± 3 °C y 70 % de humedad relativa por 24 horas, posteriormente se realizaron los bioensayos correspondientes.

Obtención del aceite esencial. Se recolectaron hojas maduras ubicadas dentro del segundo tercio de la planta *Piper auritum* "Momo" que se desarrolla de forma silvestre en la Colonia Lázaro Cárdenas ($19^{\circ} 48'28.7''$ N, $90^{\circ} 32'06.7''$ O) de la ciudad de San Francisco de Campeche, fueron trasladadas al laboratorio donde se lavaron con agua destilada para eliminar impurezas y almacenadas en refrigeración (4 °C) hasta ser utilizadas. Se realizó una maceración a relación 1:10 (P/V) de 100 g de material vegetal fresco y 1000 ml de agua, para la extracción del aceite se utilizó un sistema de recirculación de agua usando un aparato tipo Clevenger adaptado con un microondas convencional (Samsung MW123WB, 1.1 pies³, 2450 MHz). El material vegetal fue irradiado con el sistema por un tiempo de 10 min con reposos cada 5 min durante tres horas. La capa del aceite esencial se separó de la fase acuosa con un embudo separador y el sobrante se secó con sulfato de sodio anhídrido (Na₂SO₄), y se conservó en un matraz sellado herméticamente a 4 °C hasta su uso (Hernández *et al.*, 2019).

Bioensayo de efectividad biológica. Se utilizaron charolas PET tipo bisagra de 10x10 cm con orificios en la parte superior y en su interior se colocaron trozos de fruto y hojas sobre papel filtro Whatman #1 humedecido con agua destilada. El aceite esencial fue diluido en agua destilada con tween 20 al 0.01 % para obtener las concentraciones de 250, 500, 750, 1000, 1250 y 1500 ppm mediante dilución volumétrica en serie. Se estableció como control positivo un producto comercial basado en Spinosad 22.14 % SC (Entrust TM, DowAgrosicence) a una dosis de 175 mL/ha⁻¹ (dosis recomendada) y como control negativo agua destilada con tween al 0.01 %. Se colocaron en cada recipiente 20 larvas de tercer ínstar larval aplicándoles 1 μ l de solución en el dorso del tórax de cada larva mediante un microaplicador (Hamilton Company Nevada®). A las 48 horas posteriores a la aplicación se registró el número de larvas muertas en cada repetición, considerando muertas aquellas que no reaccionaran al estímulo de un pincel entomológico.

Análisis estadísticos. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los datos obtenidos fueron procesados en el programa Microsoft Excel 2016, posteriormente se procedió a realizar un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, acompañado de la comparación de medias con un nivel de significancia $P < 0.05$. Se determinaron las concentraciones letales medias, mediante un análisis de regresión Probit utilizando el paquete estadístico Minitab v18.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aceites esenciales son una alternativa viable al uso de insecticidas sintéticos. Sin embargo, la bioactividad de estos compuestos puede variar de acuerdo a los grupos químicos que contienen, lo que conlleva a una variabilidad en la respuesta biológica de los organismos plagas y el impacto sobre los insectos no objetivo (Hassan, 2010).

El efecto individual de las mezclas complejas de metabolitos secundarios (20 a 60 sustancias químicas) presentes en aceites esenciales depende de su estructura y grupo funcional (alcoholes, aldehídos, hidrocarburos, acetonas y éteres) (Jouany y Morgavi, 2007). La composición del aceite esencial es característico de la especie de la planta y es responsable de su aroma particular.

El nivel y composición de estos compuestos depende de la variedad de la planta, factores ambientales, tiempo de cosecha, entre otros (Cieslak *et al.*, 2013).

Se registró un 65 % de mortalidad con la concentración más alta de 1500 ppm disminuyendo 10 % hasta la concentración de 750 ppm, mientras que con las 500 y 250 ppm se registró un control del 30 y 25 %, respectivamente (Figura 1). Se determinó una concentración letal media (CL₅₀) de 1099.25 ppm, que puede ser utilizada como base para estudios posteriores.

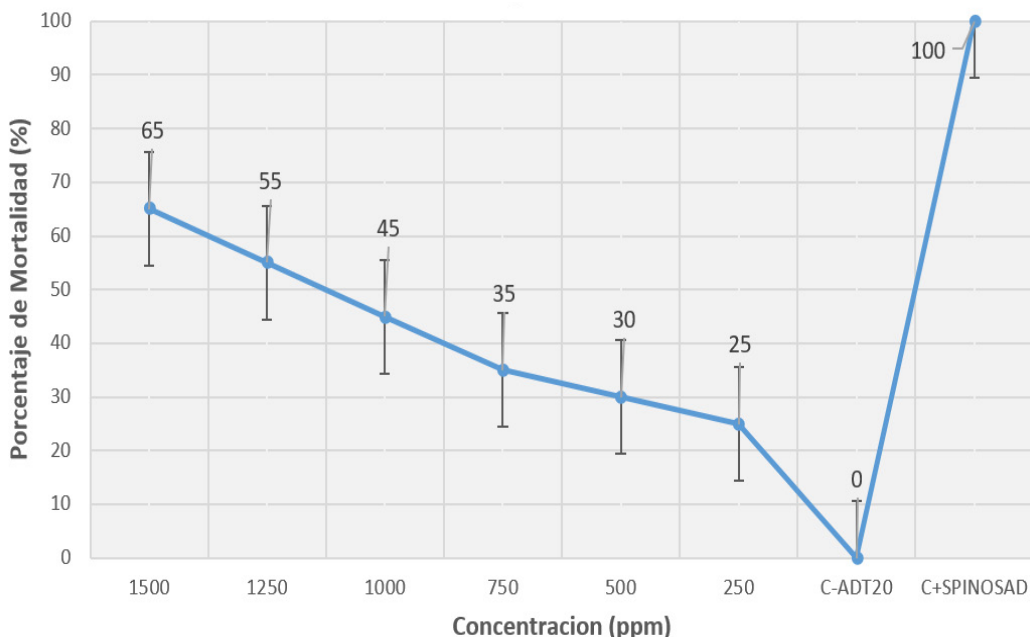


Figura 1. Mortalidad (%) de larvas de *Diaphania hyalinata* tratadas con el aceite esencial de *Piper auritum*. Control negativo = C-ADT20 = Agua destilada con tween 20 al 0.01 %. C+SPINOSAD = Control Positivo.

Basados en los comentarios de Jukic *et al.* (2007) y Khanikor *et al.* (2013), el efecto logrado sobre las larvas de este lepidóptero puede ser debido a que los compuestos que contienen actúan como neurotóxico inhibiendo la acetilcolinesterasa y bloqueando los receptores de octopamina; lo que incrementa su biopotencial, debido a la presencia de grupos metilos que potencian la toxicidad de este compuesto (Park *et al.*, 2017). Así mismo, el rendimiento de aceite esencial obtenido en la extracción de este material es elevado ya que es una planta aromática con alto contenido de humedad, lo que beneficia su uso desde el punto de vista de la optimización de recursos que se puedan integrar en el manejo y control de insectos plagas.

CONCLUSIONES

Los productores de calabaza chiuva en Campeche pueden recurrir al uso de maceraciones de hojas de esta especie de Piperaceae, ya que se logra un efecto positivo del aceite esencial para el control de *Diaphania hyalinata* hasta un 65 % con una concentración de 1500 ppm y del 25 % con 250 ppm respectivamente, convirtiéndose en una alternativa de manejo de la plaga sin recurrir a insecticidas químicos y reduciendo el costo de producción.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Cátedras CONACYT al Proyecto 1072, comisionado a la Universidad Autónoma de Campeche (UAC). Al Centro de Estudios de Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre y al Laboratorio de Entomología Aplicada y al Laboratorio de Flora del Campus VI de la UAC por las facilidades prestadas para realizar los experimentos.

LITERATURA CITADA

- Capinera, J. L. 2014. Featured creatures. Entomology and Nematology Department, University of Florida/IFAS. Available from: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/melonworm.htm>.
- Cieslak, A., Szumacher-Strabel M., Stochmal A, and W. Oleszek. 2013. Plant components with specific activities against rumen mathanogens. *Animal*, 7, 253-265. DOI: 10.1017/S1751731113000852
- Dorantes J. J.; Flota-Bañuelos, C., Candelaria-Martínez, B., Ramírez-Mella, M., and M. M. Crosby-Galván. 2016. Calabaza Chihua (*Cucurbita argyrosperma* Huber), Alternativa para alimentación animal en el trópico. *Agroproductividad*, 9(9), 33-37. Recuperado de <https://revista-agroproductividad.org>
- EFSA (European Food Safety Authority). 2009. Compendium of Botanicals That Have Been Reported to Contain Toxic, Addictive, Psychotropic or Other Substances of Concern on Request of EFSA. *EFSA Journal*, 9(7),1-100. Recuperado de <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2017. The Future of Food and Agriculture: Trends and challenges, NIMF 5. Roma.
- Hassan, A. M. M. 2010. The potential of secondary metabolites in plant material as deterrents against insect pests: A review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(11), 243-246. Recuperado de <https://academicjournals.org>
- Hernández, Y., Surís, M., and M. López. 1995. Ciclo de vida y reproducción de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera:Pyralidae) en condiciones de laboratorio. *Revista Protección Vegetal*, 10(3): 241-246. Recuperado de <https://www.ecured.cu>
- Hernández-Cruz, J., Luna-Cruz, A., Loera-Alvarado E., Villanueva-Sánchez, E., Landero-Valenzuela, N., Zárate-Nicolás, B. H., Diego-Nava, F., and C. A. Granados.Echegoyen. 2019. Efficiency of the essential oil of *Porophyllum linaria* (Asteraceae) a Mexican endemic plant against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Insect Science*, 20(10), 1-9. Recuperado de <https://academic.oup.com/jinsectscience>
- Jouany, J. P, and D. P. Morgavi. 2007. Use of “natural” products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, 1(10): 1443-1466. DOI: 10.1017/S1751731107000742
- Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., and M. Milos. 2007. In Vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. *Phytotherapy Research*, 21: 259-261. Online ISSN:1099-1573
- Khanikor, B., Parida, P., Yadav, R. N. S., and D. Bora. 2013. Comparative mode of action of some terpene compounds against octopamine receptor and acetyl cholinesterase of mosquito and human system by the help of homology modeling and docking studies. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3: 6-12. Recuperado de <https://pharmacy.umich.edu/pharmsci>
- Loeza-Deloya, V. M., Uzcanga-Pérez, N. G., Cano-González, A. J., Ramírez-Jaramillo, G., Ramírez-Silva J. H., y Y. G. Aguilar-Duarte. 2016. Cadenas de importancia socioeconómica para el desarrollo agrícola e industrial de la Península de Yucatán, México. *Agroproductividad*, 9: 3-8. Recuperado de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad>

- Martínez, G. E., Barrios, S. G., Rovesti, L., y P. R. Santos. 2006. Manejo Integrado de Plagas. *Manual Práctico*. Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), Cuba.
- Méndez B. A. 2003. Algunas consideraciones sobre la biología y etología de *Diaphania Hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) en la zona norte de la provincia de las tunas. *Fitosanidad*, 7(4): 3-6. Recuperado de <http://www.revimexfito.com.mx/>
- Park, J.-H., Jeon, Y.-J., Lee, C.-H., Chung, N., and H.-S. Lee. 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Scientific Reports*, 7: 40902. Recuperado de <https://www.nature.com/srep/>
- Quisbert F.N.E. 2006. *Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género Piper de la flora Boliviana*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de la Laguna Bolivia, pp. 362.
- Ruíz, J. A., Bravo. M. E., Ramírez, O. G., Báez, G. A. D., Álvarez, C. M., Ramos, G. J. L., Nava C. U., y K. F. Byerly. 2013. Plagas de importancia económica en México: aspectos de su biología y ecología. *Libro Técnico Núm. 2*. INIFAP-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. 447 p.
- Ruíz-Sánchez, E., Chan-Cupul, J. A., Trejo-Rivero, J. A., Jairo-Cristóbal, A.; y L. Moreno. 2008. comparación de la efectividad de insecticidas en el control del gusano barrenador del melón, *Diaphania hyalinata* (L) (Lepidoptera: Pyralidae). *Fitosanidad*, 12(2): 117-120. Recuperado de <http://www.fitosanidad.cu/index.php/fitosanidad>
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2016. Base de datos en línea. (Consulta: agosto de 2019).
- Soria, F. M., Tun, J. M., Trejo, A. T. y R. Terán. 1996. Tecnología para producción de hortalizas a cielo abierto en la península de Yucatán, *CIGA-ITA N° 2*, Conkal, Yucatán, México.