



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y
DE LA CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES

DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

EFICACIA DE EXTRACTOS INSECTICIDAS DE HOJAS DEL
PIMIENTO BOLIVIANO (*Schinus molle* Rev L.) EN LA VAQUITA
DEL OLMO, *Xanthogaleruca* (= *Pyrrhalta*) *luteola* MÜLLER
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

KARLA IVONNE PUGA RENCORET

Profesores Guías: Dra. Amanda Huerta Fuentes. Ingeniero Forestal.
Dr. Ítalo Chiffelle Gómez. Bioquímico.

Santiago, Chile

2009

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y
DE LA CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

EFICACIA DE EXTRACTOS INSECTICIDAS DE HOJAS DEL
PIMIENTO BOLIVIANO (*Schinus molle* Rev L.) EN LA VAQUITA
DEL OLMO, *Xanthogaleruca (=Pyrrhalta) luteola* MÜLLER
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

KARLA IVONNE PUGA RENCORET

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Dra. Amanda Huerta F.	7,0
Prof. Guía Dr. Ítalo Chiffelle G.	7,0
Prof. Consejero Sr. René Carmona C.	7,0
Prof. Consejero Dr. Jaime Araya C.	7,0

*A mi querida familia por su apoyo incondicional
A mi novio Fernando, por ser pilar de mi vida*

AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a toda mi familia por su constante preocupación y estímulo, principalmente a mis padres y hermano, por su apoyo, comprensión y amor incondicional.

A los compañeros y amigos que siempre estuvieron presentes en los momentos alegres y difíciles, a Evelyn, Nelson, Rodrigo, Pancho, Laura, y muchos más, a todos muchas gracias por su cariño.

También quiero agradecer a mis profesores guías, Amanda Huerta e Ítalo Chiffelle, por sus oportunas y certeras sugerencias y sus enormes enseñanzas y consejos. Gracias por estar ahí para escuchar, respetando siempre cualquier opinión, lo que es indispensable para llevar a cabo cualquier trabajo. Pero principalmente por darnos su permanente confianza, amabilidad, apoyo y cariño.

Del mismo modo extender el agradecimiento a mis profesores consejeros, por sus importantes comentarios y sugerencias, además de la disposición de revisar mi memoria.

No puedo dejar de agradecer con todo mi corazón y amor a Fernando, mi pareja y compañero de estudios, trabajos y alegrías en el transcurso de esta importante etapa de mi vida, estoy segura que será también mi compañero y amor del resto de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	6
2.1. Material	6
2.2. Método	6
2.2.1. Colecta y cría de insectos	6
2.2.2. Obtención de hojas	6
2.2.3. Elaboración de los extractos	7
2.2.4. Evaluación de la eficacia del insecticida mediante bioensayos	8
2.2.5. Evaluación de la actividad antialimentaria de <i>S. molle</i>	9
2.2.6. Estudio del ciclo de vida de <i>X. luteola</i>	9
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
3.1. Evaluación de la eficacia de extractos de hojas de <i>S. molle</i> sobre adultos de <i>X. luteola</i>	10
3.2. Actividad antialimentaria de extractos de hojas de <i>S. molle</i> sobre adultos de <i>X. luteola</i>	14
3.3. Ciclo biológico de <i>X. luteola</i> en Santiago	15
4. CONCLUSIONES	18
5. BIBLIOGRAFÍA	19
6. APÉNDICE 1. Análisis estadístico	26

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Mortalidad promedio (% \pm error estándar) de <i>X. luteola</i> por efecto de extractos etanólicos de hojas de <i>S. molle</i> en distintas concentraciones.	10
Cuadro 2. Mortalidad promedio (% \pm error estándar) de <i>X. luteola</i> por efecto de extractos acuosos de hojas de <i>S. molle</i> en distintas concentraciones.	10
Cuadro 3. Efecto de extractos acuosos y etanólicos de hojas de <i>S. molle</i> sobre la mortalidad de <i>X. luteola</i> .	13
Cuadro 4. Efecto de extractos acuosos de hojas de <i>S. molle</i> en la alimentación de adultos de <i>X. luteola</i> en ensayo de elección libre.	15

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Individuos adultos de <i>X. luteola</i> y daño sobre hojas de olmo.	4
Figura 2. Hojas de <i>S. molle</i> .	6
Figura 3. Equipos de laboratorio. A) Estufa de aire forzado; B) Molino de grano eléctrico; C) Agitador magnético; D) Centrífuga.	7
Figura 4. Estados de las hojas de <i>S. molle</i> . A) Hojas secas; B) Polvillo de hojas trituradas; C) Extracto líquido base.	8
Figura 5. Mortalidad promedio ($\% \pm$ error estándar) de adultos de <i>X. luteola</i> con extractos de hojas de <i>S. molle</i> con distintas concentraciones según días de evaluación. A) etanol; B) agua.	12
Figura 6. Representación gráfica de la prueba Probit para la mortalidad de <i>X. luteola</i> para extractos etanólicos y acuosos de hojas de <i>S. molle</i> a varias concentraciones al 2 ^{do} y 4 ^{to} d, respectivamente.	14
Figura 7. Estados y ciclo biológico de <i>X. luteola</i> en Santiago. A) Huevos; B) Larvas primer estadio; C) Larvas segundo estadio; D) Larvas tercer estadio; E) Pre-pupas; F) Pupas; G) Adultos.	16
Figura 8. Ciclo biológico de <i>X. luteola</i> en Santiago, 2008-2009.	17

Eficacia de extractos insecticidas de hojas del pimienta boliviano (*Schinus molle* Rev L.) en la vaquita del olmo, *Xanthogaleruca* (= *Pyrrhalta*) *luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae)

RESUMEN

Se evaluaron extractos insecticidas de hojas de *Schinus molle* Rev L. (Anacardiaceae) con solvente agua y etanol para el control de la vaquita del olmo, *Xanthogaleruca* (= *Pyrrhalta*) *luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae), en concentraciones de 2,0; 2,5; 3,5; 4,3 y 4,7% p/v para los extractos etanólicos, y 2,5; 3,0; 4,3 y 5,6% p/v para los extractos acuosos, bajo condiciones de laboratorio.

Los extractos se aplicaron sobre hojas de olmo (*Ulmus* sp., Ulmaceae) para la alimentación de individuos adultos de *X. luteola*, y se determinó posteriormente la efectividad de los extractos de *S. molle* y su CL₅₀.

Los resultados indicaron que ambos extractos insecticidas fueron eficaces sobre *X. luteola*, al causar mortalidades mayores a 97% con el solvente etanol y las concentraciones más altas (4,3 y 4,7% p/v), y cercanas a 27% con el solvente agua y las concentraciones 4,3 y 5,6% p/v. Mediante el análisis Probit se obtuvo que la CL₅₀ del extracto etanólico fue de 1,88% al 2^{do} d (día) y fue menor que la alcanzada por el extracto acuoso, con una CL₅₀ de 8,52% al 4^{to} d.

Adicionalmente, se evaluó el efecto antialimentario de los extractos etanólicos y acuosos de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola*. Los extractos acuosos inhibieron totalmente la alimentación de *X. luteola*, mientras que los extractos etanólicos no tuvieron efecto antialimentario.

Como actividad complementaria se estudió el ciclo biológico de *X. luteola* en Santiago, donde se determinaron cuatro generaciones anuales, desde octubre hasta abril del año siguiente, con una duración de uno a dos meses por generación.

Palabras claves

Schinus molle, *Xanthogaleruca luteola*, insecticidas botánicos, efecto antialimentario, ciclo biológico.

Effectiveness of insecticide extracts of leaves of pepper tree (*Schinus molle* Rev L.) on the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca* (=Pyrrhalta) *luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae)

ABSTRACT

Insecticide extracts of leaves of *Schinus molle* Rev L. (Anacardiaceae) obtained water and ethanol as solvents were evaluated for the control of the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca* (=Pyrrhalta) *luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae) at 2.0, 2.5, 3.5, 4.3, and 4.7% w/v for the ethanolic extracts, and 2.5, 3.0, 4.3, and 5.6% w/v for the aqueous extracts, under laboratory conditions.

The extracts were applied onto leaves of elm tree (*Ulmus* sp., Ulmaceae) to observe the feeding of adult individuals of *X. luteola*, determining later the effectiveness of the extracts and their CL₅₀.

The results indicate that both extracts were effective on *X. luteola*, causing mortalities greater than 97% with the ethanol extract at the highest concentrations (4.3 and 4.7% w/v), and near to 27% with water at 4.3 and 5.6% w/v. By Probit analyses, the CL₅₀ of the ethanolic extract was 1.88% at the 2nd d (day), lower than the CL₅₀ of 8.52% at the 4th d achieved by the aqueous extract.

Additionally, the antifeeding effect of both extracts was studied on adult individuals of *X. luteola*. The aqueous extracts inhibited feeding completely, where the percentage of deterrent was of 100%, whereas the ethanolic extracts did not have any antifeeding effect.

As a complementary activity the biological cycle of *X. luteola* was studied in Santiago, where this species has four generations in a year, from October through the following April, with a duration of one to two months per generation.

Key words

Schinus molle, *Xanthogaleruca luteola*, botanical insecticides, antifeeding effect, biological cycle.

1. INTRODUCCIÓN

El uso de insecticidas químicos ha sido un instrumento fundamental para el control de plagas, pero ha generado graves consecuencias como: intoxicación de seres humanos y animales, contaminación del agua, aire y suelo, residuos en alimentos, alta persistencia en el ambiente, resistencias en plagas e impacto sobre insectos benéficos, entre otros efectos (Silva *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003; Regnault-Roger *et al.*, 2004). Esto ha motivado la búsqueda de alternativas para el control de plagas sin los efectos nocivos de los insecticidas sintéticos. Así, los insecticidas vegetales se han introducido como una alternativa más ecológica y natural para el control de insectos (Rodríguez *et al.*, 2003).

Los insecticidas vegetales son derivados o extraídos directamente de plantas y funcionan en ellas principalmente como mecanismos de defensa frente a posibles daños por insectos (Carrero, 1996; Mota-Sánchez *et al.*, 2003). Muchas plantas sintetizan metabolitos secundarios (Silva *et al.*, 2002; Maggi, 2004), como alcaloides, polifenoles, terpenoides, esteroides, aceites esenciales, lignanos, azúcares y ácidos grasos (Maggi, 2004; Regnault-Roger *et al.*, 2004), que poseen propiedades biológicas con importancia contra insectos plaga (Maggi, 2004). El efecto de la mayoría de las plantas que se utilizan en el control de plagas, más que insecticida es insectistático (Silva *et al.*, 2002), pues inhiben el desarrollo normal de los insectos. Hay plantas o extractos que inhiben la alimentación en diferentes modalidades: repelente de alimentación (por orientación o de proximidad), y supresor o disuasivo de la alimentación; otros inhiben el crecimiento, la oviposición y el desarrollo (Metcalf y Metcalf, 1992; Rodríguez *et al.*, 2003). Así, los insecticidas de origen vegetal se presentan como una alternativa natural para el control de insectos plaga, reemplazando a los insecticidas sintéticos, ofreciendo mayor seguridad para el ambiente y una opción agronómica y forestal eficiente (Maggi, 2004).

Ahmed y Grainge (1986) enumeran las características que debe tener la planta insecticida ideal, con el objetivo de aprovecharla al máximo, sin deteriorar el ecosistema:

- Ser perenne.
- Estar ampliamente distribuida y en grandes cantidades en la naturaleza, o que se pueda cultivar.
- Usar órganos renovables de la planta (hojas, flores o frutos).
- No ser destruida cada vez que se necesite recolectar material (evitar el uso de raíces y cortezas).
- Requerir poco espacio, manejo, agua y fertilización.
- Tener usos complementarios (como medicinales).
- No tener alto valor económico.
- Ser eficaz en dosis bajas.

Existen ventajas y desventajas del uso de insecticidas botánicos; entre sus ventajas se destacan su rápida acción y degradación, baja toxicidad en mamíferos, selectividad y mínimo impacto en plantas (Cloyd, 2004). Regnault-Roger *et al.* (2004) plantean que los

fitoinsecticidas, al poseer moléculas derivadas del metabolismo secundario de las plantas presentan una acción específica, por lo tanto, exhiben un efecto limitado sobre organismos benéficos; además son raramente tóxicos para los mamíferos y el hombre y al presentar diferentes mecanismos de acción, limita la aparición de resistencias en los insectos. Algunas desventajas de los insecticidas botánicos son: altos costos, baja disponibilidad, así como falta de antecedentes de resultados eficaces (Cloyd, 2004).

Los insecticidas vegetales presentan la gran ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo en el control de insectos, tales como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, entre otros, lo que aumenta enormemente sus posibilidades de integración a un programa de Manejo Integrado de Plagas (Maggi, 2004). El sector forestal puede generar estos insecticidas botánicos, ayudando a integrar los productos forestales en los cada vez más exigentes mercados internacionales. Sin lugar a duda, los insecticidas naturales derivados de vegetales constituyen una alternativa interesante para el control de insectos.

Schinus molle Rev L. (Anacardiaceae) es una especie propia de la región andina de América, pero principalmente de Perú, de donde es originaria. Esta especie habría sido introducida a Chile en los tiempos de los Incas desde Perú (Silva *et al.*, 2005). En Chile crece naturalmente en la Provincia de Tarapacá, pero se ha extendido hasta Santiago (Rodríguez *et al.*, 1983; Donoso, 2006).

Todas las partes de la planta han tenido uso en medicina tradicional, como antiespasmódico, antiviral, antiséptico, astringente, digestivo, purgativo, diurético, cicatrizante, coagulante, para fracturas, reumatismo, desórdenes menstruales, pulmonía (Duke, 1985; Jaker *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2005; Donoso, 2006; Ferrero *et al.*, 2006) y como antiinflamatorio (Yueqin *et al.*, 2003). Estudios en animales también han demostrado que los extractos de hojas de *S. molle* poseen efectos antiespasmódicos (Bello *et al.*, 1998), analgésicos, depresor del sistema nervioso central (Barrachina *et al.*, 1997) y como un antidepresivo en ratas (Machado *et al.*, 2008).

Se ha comprobado que los aceites esenciales, principalmente de hojas de *S. molle*, poseen efectos: antioxidantes, antitumorales (Marzouk *et al.*, 2006; Díaz *et al.*, 2008), antibacteriales (Gundidza, 1993), antimicrobiales (Hayouni *et al.*, 2008) y antifúngicos (Dikshit *et al.*, 1986; Serra, 1997; Huamani y Ruiz, 2005).

S. molle presenta sustancias activas, como terpenos (principalmente monoterpenos y sesquiterpenos), taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, gomas, aceite linoleico, saponina, oleorresinas, que se encuentran mayormente en las hojas y frutos (Pozzo-Balbi *et al.*, 1978; Bernhard *et al.*, 1983; Maffej y Chialva, 1989; Gundidza, 1993; Rodríguez y Egúsuiza, 1996; Wimalaratne *et al.*, 1996; Serra, 1997; Steinbauer y Wanjura, 2002; Ferrero *et al.*, 2006; Hayouni *et al.*, 2008) y que exhiben diversas propiedades, como las recién mencionadas.

Distintos extractos de *S. molle* también han demostrado propiedades insecticidas. Aceites esenciales de frutos y hojas de *S. molle* han tenido actividad insecticida y repelente en *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera: Dermestidae) y *Tribolium castaneum*

(Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) (Abdel-Sattar *et al.*, 2009). Wimalarate *et al.* (1996) señalan que los aceites esenciales de hojas de *S. molle* tuvieron actividad antialimentaria y repelente sobre *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). En ninfas de *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae), extractos hexánicos de hojas y frutos de *S. molle* produjeron efectos repelentes (Ferrero *et al.*, 2006), y en *Sipha maydis* Passerini (Homoptera: Aphididae) extractos hexánicos de frutos causaron alta toxicidad (Reviriego *et al.*, 2004). Sobre *Blattella germanica* L. (Dictyoptera: Blattellidae), los extractos etanólicos de hojas y frutos tuvieron un efecto tóxico y repelente (Ferrero *et al.*, 2007), y el aceite esencial de hojas tuvo un efecto repelente (Guardiola *et al.*, 1990). Otros estudios han encontrado efectos insecticidas sobre lepidópteros, como por ejemplo, extractos acuosos de frutos y hojas de *S. molle* afectaron a *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) (Gebre-Amlak y Azerefegne, 1999), y extractos de hojas y frutos controlaron a *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) y *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) (Rodríguez y Egúsqüiza, 1996; Chirino *et al.*, 2001; Iannacone y Lamas, 2003a).

En estos últimos años han ingresado al país diversas especies de insectos plaga, producto de la apertura de mercados y el mayor intercambio comercial y de personas. Así, uno de los desfoliadores más serios del mundo para olmos (*Ulmus* sp., Ulmaceae), la vaquita del olmo *Xanthogaleruca* (= *Pyrrhalta*) *luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae) se ha detectado en el arbolado urbano de Los Andes y algunas comunas de la ciudad de Santiago (Figura 1). Los olmos en Chile son usados mayormente como árboles ornamentales, resistentes al frío, adaptables a diversos suelos y su importancia está dada principalmente por su alta frecuencia en áreas verdes y avenidas de las comunas de Santiago (Hernández, 2004; Martínez, 2005). Esta plaga, principalmente monófaga, afecta a toda clase de olmos, y de cualquier edad (Romanyk y Cadahia, 2002). Según Muñoz *et al.* (2003), se han encontrado también infestaciones en el género *Aesculus* (e.g. *A. hippocastanum* L., o castaño de Indias).

X. luteola se distribuye por toda Europa, África septentrional, el Cáucaso y Asia menor (Romanyk y Cadahia, 2002). En EE.UU., este coleóptero fue introducido desde Europa en 1830 aproximadamente; el primer reporte de esta plaga en California fue en 1920 (Dahlsten y Dreistadt, 1995; Dahlsten *et al.*, 1998; Romanyk y Cadahia, 2002; Maistrello *et al.*, 2005), y desde entonces se ha convertido en una de las mayores plagas forestales urbanas en varios estados de EE.UU. (Clair *et al.*, 1987; Dreistadt *et al.*, 2001), al igual que en Canadá (Romanyk y Cadahia, 2002) y Australia (Leofe, 2002). También se encuentra en Alemania (Wegener *et al.*, 2001; Maistrello *et al.*, 2005; Meiners *et al.*, 2005), Irán (Arbab *et al.*, 2001; Khalili *et al.*, 2003; Sendi *et al.*, 2005; Shekari *et al.*, 2008), España (Martín *et al.*, 2001), Portugal (Escada *et al.*, 1979), y Argentina (Defagó *et al.*, 2006). En Chile, *X. luteola* fue detectada por primera vez en 1994 en la ciudad de Los Andes, Región de Valparaíso, luego en las regiones de O'Higgins, del Maule y Metropolitana (Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), 2005) aunque Askevold (1991) menciona que en Chile el primer registro de la presencia de un individuo de *X. luteola* data de abril de 1982 de un ejemplar proveniente de Ritoque (Valparaíso).

Tanto los adultos como las larvas de *X. luteola* se alimentan del parénquima de las hojas (Figura 1), sin consumir las nerviaciones; en ocasiones el daño puede afectar a todas las

hojas, y los árboles adoptan una coloración marrón (Martín *et al.*, 2001). Si los daños son graves y ocurren varios años seguidos, los árboles sufren deformaciones en su copa, pérdida de vigor, desórdenes fisiológicos y reducen su actividad fotosintética, quedando así predispuestos a la acción de otras plagas, agentes patológicos y estrés. Especialmente quedan susceptibles a la acción de escolítidos, portadores de las esporas del hongo *Ceratocystis novo ulmi* Brasier, que causa la grafiosis del olmo, enfermedad que pone en peligro de desaparición a esta especie vegetal (De Liñán, 1998; Arbab *et al.*, 2001; Martín *et al.*, 2001; Romanyk y Cadahia, 2002; Muñoz *et al.*, 2003). La defoliación causa también la eliminación de la sombra durante el verano y reduce el valor estético de los árboles (Dreistadt *et al.*, 2001).

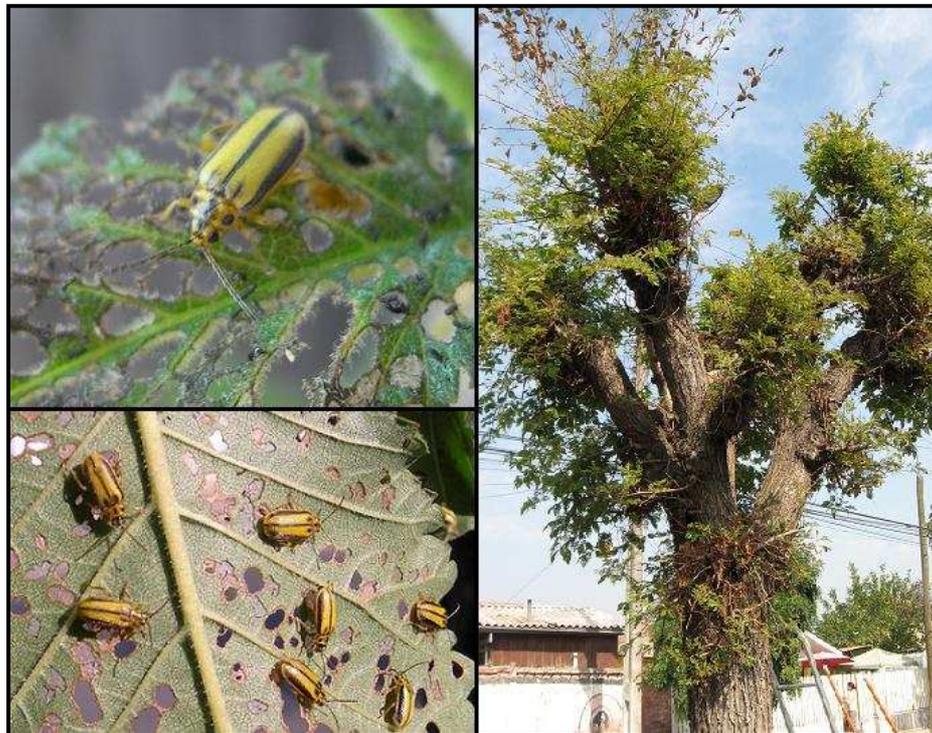


Figura 1. Individuos adultos de *X. luteola* y daño sobre hojas de olmo.

El insecto adulto tiene una longitud de 5 a 7 mm y 2,5 mm de ancho (Figura 1), posee una coloración verde-oscura amarillenta, con pelos cortos y poco densos en el cuerpo de los individuos que han hibernado. Cuando alcanza su máximo desarrollo, el estado larvario posee una longitud de 10-11 mm y un ancho de 2,5 mm. La coloración de las larvas, al principio es marrón oscuro, después de la segunda muda presentan sobre el dorso cuatro fajas longitudinales amarillentas, dos laterales y dos intermedias. El estado pupal es de color anaranjado, de la misma dimensión que el adulto, con pelos ralos y fuertes (De Liñán, 1998; Romanyk y Cadahia, 2002; Muñoz *et al.*, 2003).

Comúnmente los adultos de *X. luteola* hibernan en diversos sitios, bajo grietas de la corteza o residuos vegetales en la base del tronco, muros, casas o techos. Vuelan hacia el follaje en primavera, se alimentan y depositan 1-30 huevos, generalmente sobre el envés de las hojas. Luego de aproximadamente 8 d, las larvas emergen y se alimentan de las hojas del olmo,

dejando sólo las nervaduras; al alcanzar la madurez, después de dos a cuatro semanas, las larvas descienden por el tronco del árbol para pupar. Alrededor de 10 d después, los adultos emergen cerca de la base del árbol y vuelan a las hojas para alimentarse y poner sus huevos, lo que inicia una nueva generación (Escada *et al.*, 1979; De Liñán, 1998; Dreistadt *et al.*, 2001; Martín *et al.*, 2001; Romanyk y Cadahia, 2002; Muñoz *et al.*, 2003).

En las regiones donde las condiciones climáticas son favorables, estos coleópteros pueden completar hasta tres generaciones al año, como en España, Portugal (Escada *et al.*, 1979; Martín *et al.*, 2001; Romanyk y Cadahia, 2002), y algunas zonas de California (Dreistadt *et al.*, 2001).

El control de *X. luteola* actualmente está basado en técnicas del manejo integrado de plagas, utilizando diversos métodos complementarios, como:

- Bandas insecticidas en la corteza, para matar las larvas que descienden por el tronco a pupar. Se han utilizado principalmente tratamientos con carbaryl y bendiocarb aplicados al 1 y 2% (Hall *et al.*, 1988; Dreistadt *et al.*, 2001).
- Insecticidas sistémicos como abamectin e imidacloprid (Dahlsten *et al.*, 1998; Dreistadt *et al.*, 2001; Karren y Roe, 2003). Éstos han sido aplicados después de la detección de la presencia de huevos de *X. luteola* (Lawson y Dahlsten, 2003).
- Control biológico, mediante el uso de parasitoides de huevos, *Oomyzus gallerucae* Fonscolombe (Hymenoptera: Eulophidae), de pupas, *Oomyzus brevistigma* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae), de larvas y adultos, *Erynniopsis antennata* (Rondani) (Diptera: Tachinidae) y a través de la aplicación foliar de *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *tenebrionis* (Btt) (Clair *et al.*, 1987; Dreistadt y Dahlsten, 1990; Dahlsten *et al.*, 1998; Dahlsten y Lystrup, 1999; Dreistadt *et al.*, 2001; Leofe, 2002; Dahlsten *et al.*, 2003; Puttler y Bailey, 2003).
- Control cultural, seguimiento constante basado en muestreos de la presencia o ausencia de eclosión de huevos de *X. luteola* y la conservación de los enemigos naturales de este coleóptero, como el hongo *Beauveria globulifera* Speg. (Dahlsten *et al.*, 1998; Dreistadt *et al.*, 2001; Martín *et al.*, 2001; Romanyk y Cadahia, 2002).
- Extractos botánicos como azadirachtin, un componente de *Azadirachta indica* A. Juss., que se han aplicado a las hojas de olmo para el control de *X. luteola* (Dreistadt *et al.*, 2001; Karren y Roe, 2003). Extractos botánicos de *Daphne gnidium* L., *Artemisa annua* L., *Sambucus ebulus* L. y *Melia azedarach* L. han sido evaluados sobre la vaquita del olmo, con resultados promisorios para el control de este insecto (Maistrello *et al.*, 2005; Sendi *et al.*, 2005; Defagó *et al.*, 2006; Shekari *et al.*, 2008).

Dados los estudios de las propiedades insecticidas del pimiento boliviano (*S. molle*) sobre algunos insectos y la presencia del insecto plaga *X. luteola* en comunas de Santiago y algunas ciudades de Chile, se plantea como objetivo general para esta memoria, evaluar la eficacia insecticida de extractos de hojas de esta planta en la vaquita del olmo, mediante bioensayos de laboratorio a fin de optimizar el control selectivo de esta plaga.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material

El material vegetal correspondió a hojas de *S. molle* (Figura 2) obtenidas desde árboles adultos ubicados en el Campus Antumapu de la Universidad de Chile (Coordenadas geográficas 33°34' S; 70°38' O) en Santiago, durante el verano de 2008.



Figura 2. Hojas de *S. molle*.

Los individuos de *X. luteola* se colectaron desde árboles adultos de *Ulmus* sp., ubicados en la Comuna de Maipú, Santiago, durante el verano de 2008.

El ciclo de vida del insecto se estudió en olmos adultos localizados en comunas del centro y poniente de Santiago (Coordenadas geográficas 33°32' S; 70°42' O).

Para la elaboración de extractos de hojas de *S. molle* se utilizaron como solventes: agua destilada y el reactivo químico etanol 96% p.a. (Merck).

2.2. Método

2.2.1. Colecta y cría de *X. luteola*

Se colectaron larvas de los últimos estadios de *X. luteola*, y se trasladaron en bolsas de tul y cajas térmicas al Laboratorio de Entomología Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile. Los insectos se dispusieron en placas Petri con papel filtro en la base, humedecido con agua destilada, y se alimentaron con hojas frescas de olmo hasta que se transformaron en pupas. Cuando alcanzaron este estado sólo se les aportó humedad y se cubrieron con más hojas. Al emerger los adultos, se alimentaron con hojas frescas y estos individuos se utilizaron en los bioensayos.

2.2.2. Obtención de hojas

Las hojas de *S. molle*, aproximadamente 1 kg, se obtuvieron de un muestreo aleatorio desde árboles distintos, para evitar eventuales efectos de algún árbol individual.

2.2.3. Elaboración de los extractos

La elaboración de los extractos de hojas se hizo en el Laboratorio de Química del Departamento de Agroindustria y Enología, en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Las hojas de *S. molle* obtenidas se secaron (Figura 4A) en estufa de aire forzado (Memmert® 854) (Figura 3A) a 60°C, hasta obtener un peso (Balanza analítica: Shimadzu ELBL 3000, sensibilidad 0,1 g, máx. 3000 g) constante; el contenido de humedad inicial fue de 59,36%. Posteriormente, las hojas secas se trituraron con un molino de grano (Ufesa® MC 0360) (Figura 3B) hasta obtener un polvo, el que se almacenó en frascos herméticamente cerrados y fechados (Figura 4B). Para la elaboración de los extractos, este polvillo de hojas de *S. molle* se mezcló con los solventes a utilizar, agua destilada y etanol, en la proporción que obtuviera una solución con la mayor concentración posible.

La solución se agitó por 18 h en un agitador magnético (Heidolph® MR 3001K) (Figura 3C), y se calentó a 37°C durante la primera hora. Luego, se filtró con papel filtro (Whatman Nº1) y se centrifugó (HN-S centrifugue) (Figura 3D) por 15 min. Una vez terminado este proceso, se filtró nuevamente la solución, obteniendo así el extracto base (Figura 4C).



Figura 3. Equipos de laboratorio. A) Estufa de aire forzado; B) Molino de grano eléctrico; C) Agitador magnético; D) Centrifuga.

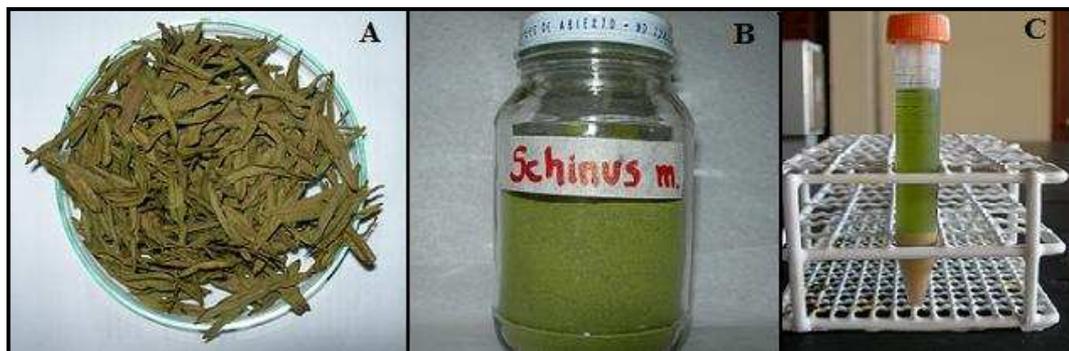


Figura 4. Estados de las hojas de *S. molle*. A) Hojas secas; B) Polvillo de hojas trituradas; C) Extracto líquido base.

Para calcular la concentración del extracto base, se llevó a sequedad una fracción de la solución, a 100°C por 1 h en una estufa de aire forzado y por diferencias de peso (Balanza analítica: Boeco Equilab, sensibilidad 0,1 mg, máx. 120 g) se determinaron los sólidos solubles. Determinada la concentración a la que se encontraba dicha solución, se prepararon los extractos para las distintas concentraciones a utilizar en los tratamientos a través de dilución. Para los extractos etanólicos se usaron las concentraciones de 2,0; 2,5; 3,5; 4,3 y 4,7% p/v, y para los acuosos de 2,5; 3,0; 4,3 y 5,6% p/v.

2.2.4. Evaluación de la eficacia del insecticida mediante bioensayos

Los bioensayos se constituyeron por unidades experimentales de tres ejemplares adultos de *X. luteola* con hojas frescas de olmo y papel filtro humedecido, en una placa Petri estéril de 10 cm de diámetro.

Para evaluar la eficacia de extractos de hojas de *S. molle* se consideraron como tratamientos las concentraciones, con su correspondiente solvente (agua o etanol), más los testigos (sin producto), con tres repeticiones.

El extracto se aplicó sumergiendo por aproximadamente 1 min hojas de olmo en las soluciones que se dispusieron para cada tratamiento. Los individuos se observaron periódicamente durante la duración del bioensayo, contando el número de supervivientes en el tiempo (días). Se calcularon los porcentajes de mortalidad diaria y total \pm el error estándar.

Los resultados se ajustaron mediante funciones matemáticas para identificar la más adecuada y con ella obtener la CL_{50} (concentración letal para matar al 50% de los individuos), mediante el procedimiento Probit (Robertson *et al.*, 1984). Para medir el ajuste de los resultados al modelo Probit se usaron pruebas de χ^2 .

Una vez finalizada la parte experimental, los resultados de los dos extractos, etanólicos y acuosos se estudiaron por separado, en análisis de varianza con un diseño completamente aleatorio, con seis tratamientos para extractos etanólicos (testigo, T1, T2, T3, T4 y T5) y cinco para extractos acuosos (Testigo, T1, T2, T3 y T4), con tres repeticiones para cada uno. Los resultados se normalizaron mediante grados Bliss [arcoseno \sqrt{X} (porcentaje de

mortalidad de adultos/100)] antes del análisis, para estabilizar el error de la varianza. Cuando existieron diferencias significativas entre los tratamientos se hicieron las pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), mediante el programa estadístico InoStat versión 2009 (Grupo InfoStat, 2009).

2.2.5. Evaluación de la actividad antialimentaria de *S. molle*

El ensayo para evaluar el efecto antialimentario de los extractos de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola* es adicional a lo propuesto en el proyecto original y se realizó según el método expuesto por Defagó *et al.* (2006) y Xie and Isman (1992).

Se evaluaron cinco concentraciones (2,0; 2,5; 3,5; 4,3; 4,7% p/v) para extractos etanólicos y cuatro (2,5; 3,0; 4,3; 5,6% p/v) para extractos acuosos. Cada tratamiento fue replicado seis veces en unidades experimentales de un adulto de *X. luteola*. Se seleccionaron dos hojas de olmo del mismo tamaño, y se sumergieron en las distintas concentraciones por 1 min aproximadamente y se secaron al aire por 10 min. Las hojas control se sumergieron en agua destilada o etanol y se secaron al aire. En cada placa Petri se pusieron una hoja control, una tratada y un ejemplar adulto.

El porcentaje de área consumida en cada hoja se calculó a través del programa Leaf Area Measurement Version 1,3 (University of Sheffield, A.P. Askew, 2003) después de 24 h. El porcentaje de repelencia se calculó como $(1-T/C) \times 100$, donde T y C son los montos ingeridos de hojas tratadas y el control, respectivamente.

2.2.6. Estudio del ciclo de vida de *X. luteola*

La determinación del ciclo de vida de *X. luteola* en Santiago de Chile se ejecutó como una actividad complementaria al proyecto original. Se hicieron visitas semanales a los olmos presentes en el arbolado urbano de comunas del nor-poniente de Santiago, Región Metropolitana, desde julio de 2008 a junio de 2009. En estas visitas se observaron y tomaron nota de todos los estados de *X. luteola* presentes en los árboles. Con la información obtenida en terreno se elaboró un esquema de la duración de las etapas del ciclo de *X. luteola*.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evaluación de la eficacia de extractos de hojas de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola*

Las mortalidades promedios obtenidas de adultos de *X. luteola* con los extractos etanólicos de hojas de *S. molle* fueron muy superiores a las obtenidas con los extractos acuosos, para un rango de concentraciones que fluctuó entre 2,0 y 5,6% p/v. Los análisis estadísticos indicaron la existencia de diferencias estadísticas significativas entre las mortalidades de los distintos tratamientos y sus testigos, tanto para los extractos etanólicos ($F 5,42 > 2,44$; $P < 0,05$) como para los acuosos ($F 4,35 > 2,64$; $P < 0,05$), lo que revela que los resultados en mortalidad se debieron al extracto insecticida (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Mortalidad promedio (% \pm error estándar) de *X. luteola* por efecto de extractos etanólicos de hojas de *S. molle* en distintas concentraciones.

Testigo	Extractos etanólicos (% p/v)					
	2,0	2,5	3,5	4,3	4,7	
	8,33 \pm 6,88 a	73,61 \pm 5,92 b	80,56 \pm 4,58 b	87,50 \pm 4,42 bc	97,22 \pm 2,78 c	100,00 \pm 0,00 c

*Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas entre las concentraciones según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Cuadro 2. Mortalidad promedio (% \pm error estándar) de *X. luteola* por efecto de extractos acuosos de hojas de *S. molle* en distintas concentraciones.

Testigo	Extractos acuosos (% p/v)				
	2,5	3,0	4,3	5,6	
	0,00 \pm 0,00 a	15,28 \pm 5,53 b	16,67 \pm 5,56 b	26,39 \pm 5,92 b	27,78 \pm 5,56 b

*Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas entre las concentraciones según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En los extractos etanólicos los porcentajes de mortalidad más altos sobre *X. luteola*, superiores a 97%, se obtuvieron con las mayores concentraciones (4,3 y 4,7 % p/v), en tanto que en los extractos acuosos, con una concentración de 4,3% p/v sólo se obtuvo una mortalidad de 26%, y aumentando a 5,6% p/v (concentración máxima evaluada), la mortalidad aumentó únicamente a casi 28%. Los menores efectos para ambos extractos se obtuvieron con los tratamientos de más bajas concentraciones (Cuadros 1 y 2).

Los resultados de este bioensayo fueron superiores a los de Ferrero *et al.* (2007), de sólo 53% de mortalidad sobre *Blattella germanica* con extractos etanólicos al 15% p/v de hojas de *S. molle*, concentración casi tres veces superior a la mayor evaluada en esta investigación (5,6%). Iannacone y Lamas (2003b) estudiaron el efecto de extractos de hojas de *S. molle* sobre *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii* Voegelé (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* Blanchard (Hymenoptera: Encyrtidae), con mortalidad de adultos de *T. pintoii* a las 12 h de exposición de 55, 95 y 90% con extractos acuosos, hexánicos y acetónicos al 10%, respectivamente.

En adultos de *C. koehleri* se alcanzaron mortalidades a las 48 h de 90, 50 y 45%, para los extractos acuosos, hexánicos y acetónicos al 10%, respectivamente. En un bioensayo de toxicidad sobre larvas de cuarto estadio del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) con extractos acuosos de hojas y frutos de *S. molle* al 5 y 15%, Pérez-Pacheco *et al.* (2004) alcanzaron mortalidades de sólo 0 y 1,7%, respectivamente.

Por lo tanto, los antecedentes aportados por el presente estudio permiten corroborar que sobre adultos de *X. luteola*, con extractos etanólicos en concentraciones sólo entre 2,5 y 4,7% es posible obtener mortalidades superiores al 80%.

Estos resultados de mortalidad podrían deberse a diversas sustancias activas presentes principalmente en hojas de *S. molle*, en las que Guardiola *et al.* (1990) han descrito aceites esenciales como timol, acetato de citronelilo y β -cariofileno. Wimalaratne *et al.* (1996) han señalado otros compuestos, tales como *cis*-menth-2-en-1-ol y *trans*-piperitol. También, Dikshit *et al.* (1986) y Steinbauer y Wanjura (2002) han identificado monoterpenos como α -pineno, α -phellandreno, β -phellandreno, limoneno, cymeno, myrceno, β -caryophylleno, cryptone y α -terpineol. En frutos, se pueden encontrar los monoterpenos presentes en las hojas (Bernhard *et al.*, 1983; Hayouni *et al.*, 2008) y también ácidos triterpenoides, extraídos de la fracción ácida de las oleoresinas (Pozzo-Balbi *et al.*, 1978).

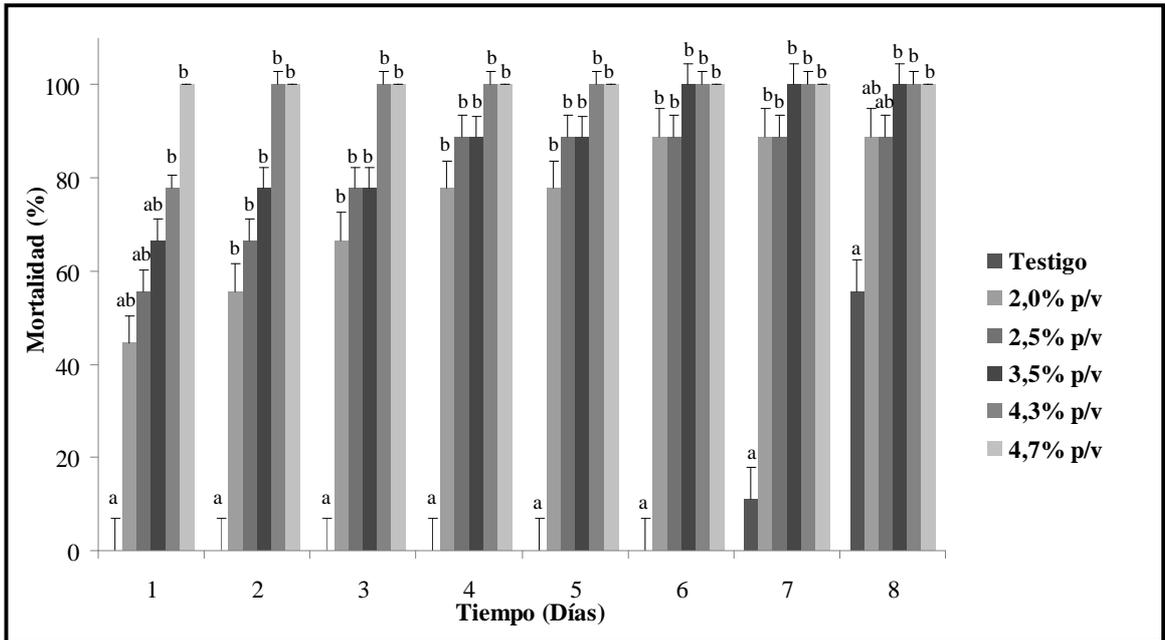
Con extractos de frutos de *S. molle* se han obtenido resultados eficaces sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Los resultados indicaron que a concentraciones de 5; 2,5; 1,25 y 0,62 g/kg (0,5; 0,25; 0,125 y 0,062% p/v) de dieta, el porcentaje de mortalidad de estas larvas fue de 60, 39, 21 y 9%, respectivamente. También se observó dificultad en la muda y malformación de pupas y adultos (Chirino *et al.*, 2001).

Con extractos de hojas jóvenes y adultas de *M. azedarach* a través del método Soxhlet (extracción de la fracción lipídica) con etanol, Defagó *et al.* (2006) obtuvieron altas tasas de mortalidad de adultos de *X. luteola*, cercanas al 100% 14 d después del tratamiento, con concentraciones de 2, 5 y 10%, resultados similares a los obtenidos con extractos etanólicos de *S. molle* en este estudio. En larvas, pupas y adultos de *X. luteola*, Sendi (2005) usó extractos acuosos de *Sambucus ebulus* y *Artemisia annua* L. a 1, 5 y 10% de concentración, y obtuvo mortalidades promedio de 77,1 y 91,31%, respectivamente.

Las mortalidades de larvas de *X. luteola* con extractos etanólicos de hojas de *Daphne gnidium* L., obtenidas por Maistrello *et al.* (2005) mediante el método Soxhlet, en concentraciones de 1, 2 y 3 g/L (0,1; 0,2 y 0,3% p/v) fueron de 27, 70 y 73%, respectivamente. Con concentraciones menores a las evaluadas en el presente estudio, los extractos etanólicos de *D. gnidium* obtuvieron similares resultados en mortalidad al ser aplicados sobre larvas de *X. luteola*, las que son comparativamente más sensibles que el adulto de esta especie.

Tanto los extractos etanólicos como los acuosos de hojas de *S. molle* afectaron la supervivencia diaria de los adultos. No obstante, con los extractos etanólicos se obtuvo una mortalidad superior al 50% en la mayoría de los tratamientos desde el inicio de la ingesta de las hojas tratadas, en tanto que con los acuosos sólo se alcanzó una mortalidad mayor a 20% a partir del 4^{to} d después de iniciados los bioensayos (Figura 5).

A



B

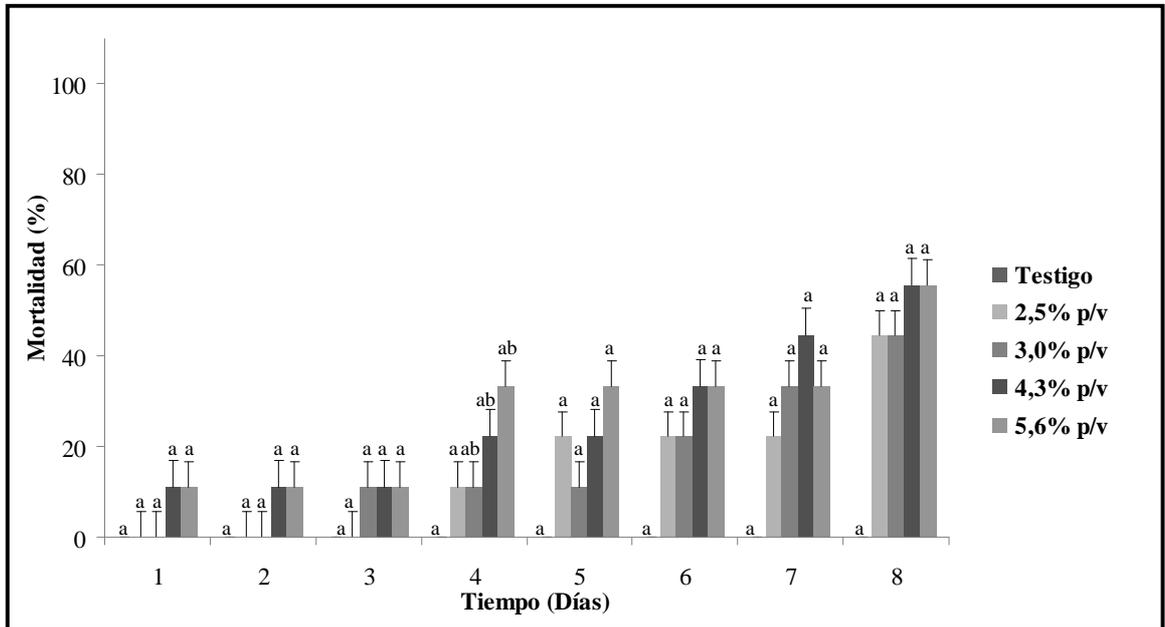


Figura 5. Mortalidad promedio (% \pm error estándar) de adultos de *X. luteola* con extractos de hojas de *S. molle* con distintas concentraciones según días de evaluación. A) etanol; B) agua. Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas entre las concentraciones según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Los resultados de la prueba Probit indicaron que para los extractos etanólicos hubo una respuesta de mortalidad a los 2 d, apreciándose las diferencias máximas entre los tratamientos, y manteniéndose esta respuesta extracto/mortalidad lineal hasta el término del bioensayo. Para los extractos acuosos se obtuvo una respuesta de mortalidad a los 4 d, con diferencias máximas entre los tratamientos, en una respuesta de tipo lineal hasta el término del bioensayo (Cuadro 3).

Según el análisis Probit, para los extractos etanólicos la CL_{50} fue 1,88% a los 2 d, menor que la alcanzada por los extractos acuosos, cuya CL_{50} fue 8,52% a los 4 d. Por lo tanto, los extractos etanólicos de las hojas de *S. molle* fueron más efectivos que los extractos acuosos para alcanzar la misma mortalidad, con concentración y tiempo menores (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *S. molle* sobre la mortalidad de *X. luteola*.

Extractos	Tiempo (d)	Pendientes \pm E.E.	CL_{50} (%)	Chi ² *
Etanol	2	55,2 \pm 2,94	1,88	2,39
	8	15,9 \pm 1,92	0,19	0,14
Agua	4	39,5 \pm 2,22	8,52	3,33
	8	27,7 \pm 6,19	4,06	0,65

* Promedios menores que el Chi² tabulado para etanol (df = 4; $p \leq 0,05$) = 9,49 y el Chi² tabulado para agua (df = 3; $p \leq 0,05$) = 7,81, por lo cual el modelo Probit se ajusta a los resultados experimentales.

En un estudio del efecto extractos de *A. annua* sobre adultos de *X. luteola*, Shekari *et al.* (2008) evaluaron extractos metanólicos de hojas de *A. annua* en cinco concentraciones, 5, 10, 20, 40 y 80%, y obtuvieron una CL_{50} de 19,14 y 15,43% a las 24 y 48 h, respectivamente. Estos antecedentes indicarían que los extractos etanólicos de hojas de *S. molle* evaluados en este estudio serían más efectivos sobre adultos de *X. luteola* al requerirse concentraciones muy inferiores a los extractos de *A. annua* equivalentes para lograr la CL_{50} .

En la Figura 6 se corrobora la efectividad de los extractos de hojas de *S. molle* con etanol en todas las concentraciones, por sobre los extractos acuosos, y la relación directa entre el aumento de las concentraciones con el incremento de la mortalidad de *X. luteola* con ambos solventes. Además, la CL_{50} fue menor en los extractos etanólicos que en los acuosos.

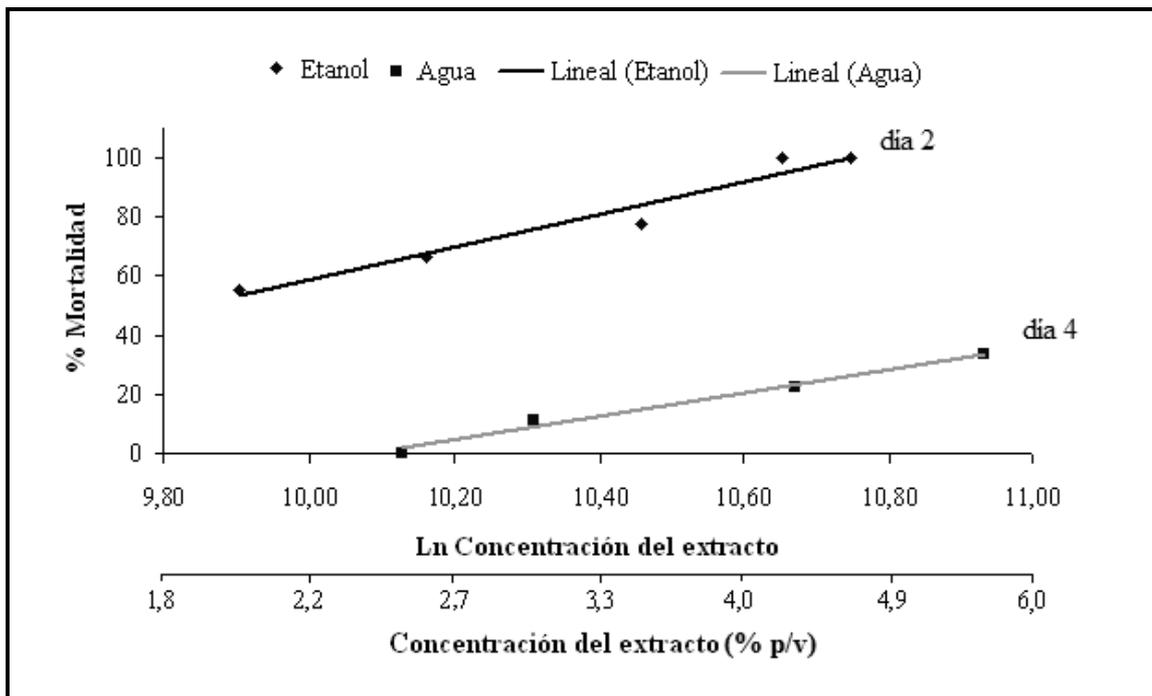


Figura 6. Representación gráfica de la prueba Probit para la mortalidad de *X. luteola* para extractos etanólicos y acuosos de hojas de *S. molle* a varias concentraciones al 2^{do} y 4^{to} d, respectivamente.

3.2. Actividad antialimentaria de extractos de hojas de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola*.

Por un lado, los extractos etanólicos de las hojas no tuvieron un efecto antialimentario sobre adultos de *X. luteola*, puesto que la mayoría de ellos perecieron y los que permanecieron vivos no se alimentaron de las hojas control ni de las hojas tratadas.

Por otra parte, los extractos acuosos presentaron una fuerte actividad antialimentaria, con inhibición total de la alimentación de los adultos de *X. luteola* en todos los tratamientos. Esto significa que el insecto discriminó entre la hoja tratada y el control, alimentándose sólo de esta última (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de extractos acuosos de hojas de *S. molle* en la alimentación de adultos de *X. luteola* en ensayo de elección libre.

Extractos (% p/v)	Área foliar consumida (%)		Efecto antialimentario (%)
	Tratamiento	Control	
2,5	0,04	2,34	98,32
3,0	0,00	6,67*	100,00
4,3	0,00	3,50*	100,00
5,6	0,00	2,87*	100,00

* Diferencias significativas entre el consumo de hojas tratadas y control (ANOVA, $p \leq 0,05$).

Los extractos acuosos tuvieron un claro y fuerte efecto antialimentario en adultos de *X. luteola*, mientras que los extractos etanólicos fueron tóxicos, en todas sus concentraciones.

El efecto antialimentario de los extractos acuosos de hojas de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola* concuerda con los resultados de 100% de inhibición obtenidos por Defagó *et al.* (2006) sobre el mismo insecto, con extractos de hojas de *M. azedarach*, para concentraciones de 2, 5 y 10%. Shekari *et al.* (2008) tuvieron también resultados similares, con un efecto antialimentario de extractos metanólicos de hojas de *A. annua* sobre adultos de *X. luteola* superior a 75% para concentraciones de 2,5; 5 y 10%.

La eficacia insecticida de los extractos de hojas de *S. molle* se ha observado también en su actividad repelente y alimentaria contra la mosca común (*Musca domestica* L.; Wimalaratne *et al.*, 1996), quienes determinaron que la bioactividad de los extractos volátiles de estas hojas se asocia a dos compuestos: *cis*-menth-2-en-1-ol y *trans*-piperitol, y que este último compuesto tiene más actividad de repelencia contra esta mosca.

3.3. Ciclo biológico de *X. luteola* en Santiago

En la zona de estudio, a comienzos octubre los adultos hibernantes de *X. luteola* emergieron para alimentarse y procrear. A partir de la segunda semana de octubre se apreciaron los primeros huevos, depositados por hembras post-hibernantes. La duración de este primer ciclo de puestas duró aproximadamente un mes (mediados de octubre a mediados de noviembre). Las primeras larvas emergieron luego de transcurrida una semana desde las primeras puestas.

La larva posee tres estadios, y pasa por dos mudas durante su desarrollo, inicialmente son de color oscuro y adquieren gradualmente tonos más amarillentos, con dos franjas longitudinales laterales de puntos negros; el período larvario duró 3 a 4 semanas, aproximadamente. A partir de la segunda quincena de noviembre y hasta mediados de diciembre se encontraron pre-pupas y pupas, principalmente en la base de los troncos de los olmos, cubiertas por hojarasca. A principios de diciembre emergieron los primeros adultos, iniciándose así el ciclo de una segunda generación (Figura 7). Los huevos y posteriormente larvas que se desarrollaron entre diciembre y enero dan paso a la segunda generación de adultos a finales de enero.

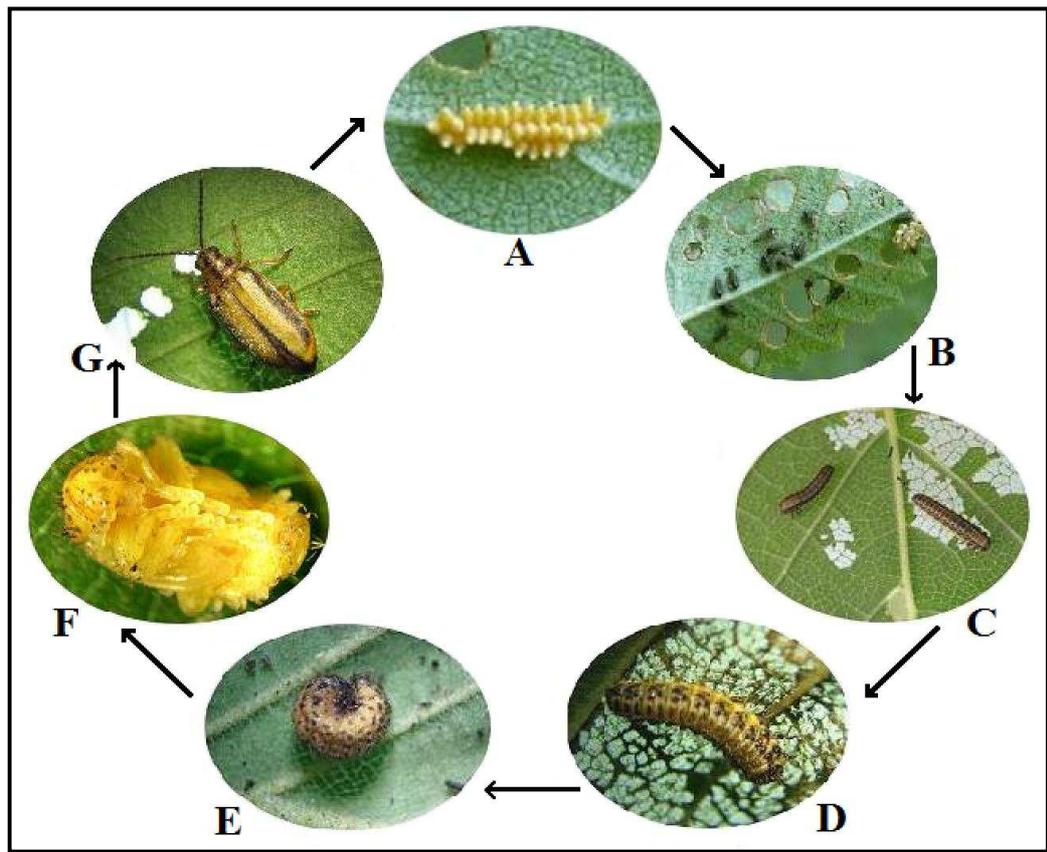


Figura 7. Estados y ciclo biológico de *X. luteola* en Santiago. A) Huevos; B) Larvas primer estadio; C) Larvas segundo estadio; D) Larvas tercer estadio; E) Pre-pupas; F) Pupas; G) Adultos.

Las observaciones de los estados de desarrollo en terreno permitieron desarrollar la actividad biológica que se presenta en la Figura 8, en la que aparece una tercera e incluso una cuarta generación en árboles en la ciudad de Santiago, con algunos adultos de *X. luteola* hasta abril, los que entran en hibernación hasta que las condiciones climáticas sean favorables nuevamente.

4. CONCLUSIONES

- Los extractos de hojas de *S. molle* evaluados fueron eficaces como bioinsecticidas sobre adultos de *X. luteola*, alcanzando mortalidades cercanas a un 100% al obtenerse con etanol y en concentraciones de 4,3 y 4,7% p/v.
- Los extractos etanólicos causaron mayor mortalidad que los extractos acuosos a concentraciones similares.
- Los extractos etanólicos sobre los adultos de *X. luteola* tuvieron principalmente efecto tóxico, y los extractos acuosos presentaron actividad antialimentaria.
- La CL₅₀ menor sobre adultos de *X. luteola* se obtuvo con los extractos etanólicos (1,88%).
- En la zona de estudio (Santiago), *X. luteola* tuvo cuatro generaciones al año, en el período octubre-abril. Cada generación duró 1 a 2 meses.
- Los resultados obtenidos sugieren oportunidades interesantes de desarrollo de bioinsecticidas a base de extractos de *S. molle* para uso en el manejo integrado de *X. luteola* y otras plagas que puedan afectar al arbolado urbano.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ABDEL-SATTAR, E.; ZAITOUN, A.; FARAG, M.; EL GAYED, S. and HARRAZ, F. 2009. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Natural Product Research* 25: 1-10.
- AHMED, S. and GRAINGE, M. 1986. Potential of the Neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany* 40(2): 201-209.
- ARBAB, A.; SENDI, J. and SAHRAGARD, A. 2001. On the biology of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Col.: Chrysomelidae) in laboratory conditions. *Journal of the Entomology Society of Iran* 21(2): 73-85.
- ASKEVOLD, I. 1991. On some poorly known, missidentified and mislabelled Chilean Chrysomelidae (Coleoptera). *Revista Chilena de Entomología* 19: 11-15.
- BARRACHINA, M.; BELLA, R.; MARTÍNEZ-CUESTA, M.; PRIMO-YÚFERA, E. and ESPLUGUES, J. 1997. Analgesic and central depressor effects of the dichloromethanol extract from *Schinus molle* L. *Phytotherapy Research* 11: 317-319.
- BELLO, R.; BELTRÁN, B.; MORENO, L.; CALATAYUD, S.; PRIMO-YÚFERA, E. and ESPLUGUES, J. 1998. In vitro pharmacological evaluation of the dichloromethanol extract from *Schinus molle* L. *Phytotherapy Research* 12: 523-525.
- BERNHARD, R.; SHIBAMOTO, T.; YAMAGUCHI, K. and WHITE, E. 1983. The volatile constituents of *Schinus molle* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31(2): 463-466.
- CARRERO, J. 1996. *Lucha Integrada contra las Plagas Agrícolas y Forestales*. Mundi Prensa, Madrid, España. 256 p.
- CHIRINO, M.; CARIAC, M. y FERRERO, A. 2001. Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas (España)* 27(3): 305-314.
- CLAIR, D.; DAHLSTEN, D. and HART, E. 1987. Rearing *Tetrastichus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae) for biological control of the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola*. *Entomophaga* 32(5): 457-461.
- CLOYD, R. 2004. Natural instincts: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides. *American Nurseryman*. pp 38: 41.
- DAHLSTEN, D. and DREISTADT, S. 1995. Elm leaf beetle. In: NECHOLS, J. *Biological control in the western United States: Accomplishments and benefits of regional research project W-84, 1964-1989*. University of California, California. pp 180-182.

- DAHLSTEN, D. and LYSTRUP, J. 1999. Implementation of the integrated pest management for the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Chrysomelidae: Coleoptera), in a large urban area (Sacramento). Pest Management Grant Final Report. California Department of Pesticide Regulation. 14 p.
- DAHLSTEN, D.; ROWNEY, D. and LAWSON, A. 1998. IPM helps control elm leaf beetle. California Agriculture 52(2): 18-24.
- DAHLSTEN, S.; ROWNEY, D. and TAIT, S. 2003. Development of integrated pest management programs in urban forests: the elm beetle (*Xanthogaleruca luteola* (Müller)) in California, USA. Forest Ecology and Management 65: 31-44.
- DEFAGÓ, M.; VALLADARES, G.; BANCHIO, E.; CARPINELLA, C. and PALACIOS, S. 2006. Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola*. Fitoterapia 77: 500-505.
- DE LIÑÁN, C. 1998. Entomología Agroforestal. Ediciones Agrotécnicas S.L., Madrid, España. 1039 p.
- DÍAZ, C.; QUESADA, S.; BRENES, O.; AGUILAR, G. and CICCIO, J. 2008. Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumor cell lines. Natural Product Research 22(7): 1521-1534.
- DIKSHIT, A.; NAQVI, A. and HUSAIN, A. 1986. *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. Applied and Environmental Microbiology 51(5): 1085-1088.
- DONOSO, C. 2006. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Editorial Masisa Cuneo, Valdivia, Chile. 678 p.
- DREISTADT, S. and DAHLSTEN, D. 1990. Distribution and abundance of *Erynniopsis antennata* (Dipt.: Tachinidae) and *Tetrastichus brevistigma* (Hym.: Eulophidae), two introduced elm leaf beetle parasitoids in Northern California. BioControl 35(4): 527-536.
- DREISTADT, S.; DAHLSTEN, D. and LAWSON, A. 2001. Elm leaf beetle. Publication 7403. Davis, CA. UC Statwide IPM Project, University of California. 6 p.
- DUKE, J. 1985. Handbook of medicinal herbs. Editorial CRC Press. 870 p.
- ESCADA, M.; DA SILVA, F. y SOUTO, C. 1979. Una plaga de los olmos en Portugal, *Pyrrhalta luteola* Müll. (Coleoptera: Chrysomelidae). Bol. Serv. Plagas 5: 73-78.
- FERRERO, A.; WERDIN, J. y SÁNCHEZ CHOPA, C. 2006. Actividad biológica de *Schinus molle* en *Triatoma infestans*. Fitoterapia 77: 381-383.
- FERRERO, A.; SÁNCHEZ, C.; WERDIN, J. and ALZOGARAY, R. 2007. Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*. Fitoterapia 78: 311-314.

- GEBRE-AMLAK, A. and AZEREFEGNE, F. 1999. Insecticidal activity of Chinaberry, endod and pepper tree against the maize stalk borer (Lepidoptera: Noctuidae) in southern Ethiopia. *International Journal of Pest Management* 45(1): 9-13.
- GUIARDIOLA, V.; DE MIGUEL, P. y PRIMO, E. 1990. Repelencia frente a *Blatella germanica* de componentes de *Schinus molle* L. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 30(3): 341-346.
- GUNDIDZA, M. 1993. Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn. *Central African Journal of Medicine* 39(11): 231-234.
- HALL, R.; NIELSEN, D.; YOUNG, C. and HAMERSKI, M. 1988. Mortality of elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae exposed to insecticide bands applied to elm bark. *Journal of Economic Entomology* 81(3): 877-879.
- HAYOUNI, E.; CHRAIEF, I.; ABEDRABBA, M.; BOUIX, M., LEVEAU, J.; MOHAMMED, H. and HAMDI, M. 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology* 125: 242-251.
- HERNÁNDEZ, J. 2004. Inventarios forestales urbanos. En: Curso: “Manejo de la vegetación urbana para profesionales”. Proyecto FONDEF D00I 1078, Santiago. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile. 27 p.
- HUAMANI, M. y RUIZ, J. 2005. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 Departamentos del Perú. Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 40 p.
- IANNACONE, J. y LAMAS, G. 2003a. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica* 18(2): 95-105.
- IANNACONE, J. y LAMAS, G. 2003b. Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperta externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. *Revista Agricultura Técnica (Chile)* 63(4): 347-360.
- INFOSTAT. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- JOKER, D.; CRUZ, N.; MORALES, M. and ROJAS, E. 2002. *Schinus molle* L. Danida Forest Seed Centre. *Seed Leaflets* 57: 1-2.
- KARREN, J. and ROE, H. 2003. Elm leaf beetles. *Extension Entomology*. Department of Biology, Utah State University. 4 p.

- KHALILI, M.; HATAMI, B. and SEYEDOLESLAMI, H. 2003. Host preference of three elms and hackberry for elm leaf beetle, *Xanthogaleruca* (= *Pyrrhalta*) *luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Forest Ecology and Management* 186: 207-212.
- LAWSON, A. and DAHLSTEN, D. 2003. Evaluation of systemic insecticides as a treatment option in integrated pest management of the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 96(5): 1455-1462.
- LEOFE, G. 2002. First release of the elm leaf beetle parasitic fly. NRE Frankston: Keith Turnbull Research Institute 19: 1-3.
- MACHADO, D.; BETTIO, L.; CUNHA, M.; SANTOS, A.; PIZZOLATTI, M.; BRIGHENTE, I. and RODRIGUES, A. 2008. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *European Journal of Pharmacology* 587(1-3): 163-168.
- MAFFEJ, M. and CHIALVA, F. 1989. Essential oils from *Schinus molle* L. berries and leaves. *Flavour and Fragrance Journal* 5(1): 49-52.
- MAGGI, M. 2004. Insecticidas naturales. Laboratorio de Química Fina y Productos Naturales. Agencia Córdoba Ciencia - Unidad CEPROCOR, Argentina. 8 p.
- MAISTRELLO, L.; LÓPEZ, M.; SORIA, F. and OCETE, R. 2005. Growth inhibitory activity of *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae) extracts on the elm leaf beetle (Col., Chrysomelidae). *Journal of Applied Entomology* 129(8): 418-424.
- MARTÍN, E.; HERNÁNDEZ, R.; CAÑADA, J.; IBARRA, N.; PÉREZ, V.; LÓPEZ, M. y DELGADO, J. 2001. Galeruca del olmo, *Xanthogalerucella luteola* Müll. *Informaciones Técnicas*, Departamento de Medio Ambiente. Gobierno de Aragón. 4 p.
- MARTÍNEZ, M. 2005. Bases para el manejo del arbolado urbano de las principales vías de acceso a la comuna de Maipú, Región Metropolitana. *Memoria Ing. Forestal*, Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 129 p.
- MARZOUK, M.; MOHARRAM, M.; HAGGAG, E.; IBRAHIM, M. and BADARY, O. 2006. Antioxidant flavonol glycosides from *Schinus molle*. *Phytotherapy Research* 20: 200-205.
- MEINERS, T.; HACKER, N.; ANDERSON, P. and HILKER, M. 2005. Response of the elm leaf beetle to host plants induced by oviposition and feeding: the infestation rate matters. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 171-177.
- METCALF, R. and METCALF, E. 1992. *Plant kairomones in insect ecology and control*. Chapman and Hall, New York, USA. 169 p.

- MOTA-SÁNCHEZ, D.; SANDOVAL, R.; COTTO, M. y HINES, R. 2003. Manual básico de entrenamiento para aplicadores de pesticidas. Manual de recertificación, y entrenamiento para técnicos registrados. Michigan, EE.UU. 188 p.
- MUÑOZ, C.; PÉREZ, V.; COBOS, P.; HERNÁNDEZ, R. y SÁNCHEZ, G. 2003. Sanidad Forestal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 574 p.
- MURRAY, A.; FRONTERA, M.; TOMAS, M. and MULET, M. 2005. Gas chromatography-mass spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg., *Schinus fasciculate* (Griseb) I. M. Johnst., and *Schinus areira* L. Zeitschrift fur Naturforschung 60: 25-29.
- PÉREZ-PACHECO, R.; RODRÍGUEZ, C.; LARA-REYNA, J.; MONTES, R. y RAMÍREZ, G. 2004. Toxicidad de aceites esenciales y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Acta Zoológica Mexicana 20(1): 141-152.
- POZZO-BALBI, T.; NOBILE, L.; SCAPINI, G. and CINI, M. 1978. The triterpenoid acids of *Schinus molle*. Phytochemistry 17(12) 2107-2110.
- PUTTLER, B. and BAILEY, W. 2003. Establishment of *Oomyzus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasite of the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae), in Missouri and adjacent states. Biological Control 27(1): 20-25.
- REGNAULT-ROGER, C.; STAFF, V.; PHILOGÈNE, B.; TERRÓN, P. y VINCENT, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 337 p.
- REVIRIEGO, M.; DESCAMPS, L.; SÁNCHEZ CHOPA, C. y FERRERO, A. 2004. Monitoreo de extractos vegetales en el control de *Sipha maydis* Passerini (Homoptera, Aphididae) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. En: XXVI Congreso Nacional de Entomología, 1-3 de diciembre de 2004, Concepción, Universidad de Concepción, Departamento de Zoología y Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. s.p.
- ROBERTSON, J.; SMITH, K.; SAVIN, N. and LAVIGNE, R. 1984. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression. Journal of Economic Entomology 77(4): 833-837.
- RODRÍGUEZ, R.; MATTHEI, O. y QUEZADA, M. 1983. Flora arbórea de Chile. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 408 p.
- RODRÍGUEZ, A. y EGÚSQUIZA, R. 1996. Efecto del molle (*Schinus molle*) y sus extractos en el control de *Phthorimaea operculella* en almacenes de papa. Resúmenes y Programa de la 38ª Convención Nacional de Entomología, Sociedad Entomología del Perú, Chíncha, Perú. 23 p.
- RODRÍGUEZ, C.; SILVA, G. y DJAIR, V. 2003. Bases para el manejo racional de insecticidas: Insecticidas de origen vegetal. Facultad de Agronomía, Universidad de

- Concepción, y Fundación para la Innovación Agraria. Concepción, Chile. pp. 89-111.
- ROMANYK, M. y CADAHIA, D. 2002. Plagas de insectos en las masas forestales. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 336 p.
- SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 2005. Informativo Fitosanitario Forestal N°2. Informativo de la Unidad de Vigilancia y Control de Plagas Forestales y Exóticas Invasoras del Servicio Agrícola y Ganadero, Santiago, Chile. 4 p.
- SENDI, J.; ARBAB, A. and ALIAKBAR, A. 2005. The efficacy of aqueous plant extracts of wormwood and dwarf elder against elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Col.; Chrysomellidae). *Agricultural Science (Trabriz)* 15(1): 115-120.
- SERRA, M. 1997. Especies arbóreas y arbustivas para las zonas áridas y semiáridas de América Latina. Departamento de Silvicultura, Universidad de Chile, Santiago de Chile. pp.155-244.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J. y RODRÍGUEZ, D. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* 66: 4-12.
- SILVA, S.; BOZINOVIC, F. and JAKSIC, F. 2005. Frugivory and seed dispersal by foxes in relation to mammalian prey abundance in a semiarid thornscrub. *Austral Ecology* 30: 739-746.
- SHEKARI, M.; SENDI, J.; ETEBARI, K.; ZIBAEI, A. and SHADPARVAR, A. 2008. Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91: 66-74.
- STEINBAUER, M. and WANJURA, W. 2002. Christmas beetles (*Anoplognathus* spp., Coleoptera: Scarabaeidae) mistake peppercorn trees for eucalypts. *Journal of Natural History* 36: 119-125.
- UNIVERSITY OF SHEFFIELD. 2003. Programa *Leaf Area Measurement*. URL: <<http://www.Shef.ac.uk/~nuocpc/ucpe/leafarea.html>> [consulta: 16 octubre 2008].
- WEGENER, R.; SCHULZ, S.; MEINERS, T.; HADWICH, K. and HILKER, M. 2001. Analysis of volatiles induced by oviposition of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola*, on *Ulmus minor*. *Journal of Chemical Ecology* 27(3): 499-515.
- WIMALARATNE, P.; SLESSOR, K.; BORDEN, J.; CHONG, L. and ABATE, T. 1996. Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinus molle* L. *Journal of Chemical Ecology* 22(1): 49-59.

- XIE, Y. and ISMAN, M. B. 1992: Antifeedant and growth inhibitory effects of tall oil and derivatives against the variegated cutworm, *Peridroma saucia* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Can. Ent.* 124: 861–869.
- YUEQIN, R.; RECIO, M.; MANEZ, S.; GINER, R.; CERDA, N. and RIOS, J. 2003. Isolation of two triterpenoides and a biflavanone with anti-inflammatory activity from *Schinus molle* fruits. *Planta Médica* 69(10): 893-898.

6. APÉNDICE 1. Análisis estadístico

Modelo de efectos fijos entre el solvente agua y su correspondiente testigo.

Días	Extracto (% p/v)				
	Testigo	2,5	3,0	4,3	5,6
	T0	T1	T2	T3	T4
1	0,00	0,00	0,00	19,47	19,47
2	0,00	0,00	0,00	19,47	19,47
3	0,00	0,00	19,47	19,47	19,47
4	0,00	19,47	19,47	28,13	35,26
5	0,00	28,13	19,47	28,13	35,26
6	0,00	28,13	28,13	35,26	35,26
7	0,00	28,13	35,26	41,81	35,26
8	0,00	41,81	41,81	48,19	48,19

FV	gl	SC	CM	Razón F	Razón F tabla
Tratamiento	4	4.986,24	1.246,56	8,68	2,64
Error	35	5.026,73	143,62		
Total	39	10.012,98		F0>Fc	

gl: grados de libertad

SC: suma de cuadrados

CM: cuadrados medios

Resultados Test de Tukey

Alfa = 0,05; Error: 143,62; gl: 35

Tratamiento	Medias	n	
T0	0,00	8	A
T1	18,21	8	B
T2	20,45	8	B
T3	29,99	8	B
T4	30,96	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Modelo de efectos fijos entre el solvente etanol y su correspondiente testigo.

Días	Extracto (% p/v)					
	Testigo	2,0	2,5	3,5	4,3	4,7
	T0	T1	T2	T3	T4	T5
1	0,00	41,81	48,19	54,74	61,87	90,00
2	0,00	41,81	54,74	61,87	90,00	90,00
3	0,00	54,74	61,87	61,87	90,00	90,00
4	0,00	61,87	70,53	70,53	90,00	90,00
5	0,00	61,87	70,53	70,53	90,00	90,00
6	0,00	70,53	70,53	90,00	90,00	90,00
7	19,47	70,53	70,53	90,00	90,00	90,00
8	48,19	70,53	70,53	90,00	90,00	90,00

FV	gl	SC	CM	Razón F	Razón F tabla
Tratamiento	5	35.014,13	7.002,83	51,92	2,44
Error	42	5.665,19	134,89		
Total	47	40.679,33		F0>Fc	

gl: grados de libertad

SC: suma de cuadrados

CM: cuadrados medios

Resultados Test de Tukey

Alfa = 0,05; Error: 134, 89; gl: 42

Tratamiento	Medias	n	
T0	8,46	8	A
T1	60,01	8	B
T2	64,68	8	B
T3	73,69	8	B C
T4	86,48	8	C
T5	90,00	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).