



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN BOTÁNICA

**ACTIVIDAD DE LOS ALCALOIDES DE LA SEMILLA
DE *Erythrina americana* Mill. EN *Trialeurodes
vaporariorum* (Westwood) (HEMIPTERA:
ALEYRODIDAE)**

DÍAZ NUÑEZ JOSÉ LUIS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

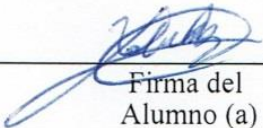
MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO


2017

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y
DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe José Luis Díaz Nuñez, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. Ramón Marcos Soto Hernández, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Actividad de los alcaloides de Erythrina americana Mill. en Trialeurodes vaporariorum (Westwood) (Hemiptera:Aleroididae) y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 16 de noviembre de 2017


Firma del
Alumno (a)


Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: Actividad de los alcaloides de la semilla de *Erythrina americana* Mill. en *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), realizada por el (la) alumno (a): José Luis Díaz Nuñez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



Dr. Ramón Marcos Soto Hernández

ASESOR (A)



Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández

ASESOR (A)



M. C. Rubén San Miguel Chávez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, octubre de 2017

**ACTIVIDAD DE LOS ALCALOIDES DE LA SEMILLA DE *Erythrina americana* Mill. EN
Trialeurodes vaporariorum (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae)**

Díaz Núñez José Luis, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

La mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) es un insecto plaga que limita producción de plantas con importancia económica y se puede controlar mediante alcaloides de semilla de Colorín (*Erythrina americana*). Se analizó en este trabajo el efecto del extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas en repelencia, durante 3 a 72 h; en mortalidad e inhibición de oviposición, a las 24 h; y se evaluó persistencia de las sustancias, durante 15 d. Los resultados se analizaron, con ANOVA y prueba de Tukey o por medio de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney. Los porcentajes de repelencia y mortalidad se corrigieron mediante ecuación de Abbott, con el fin de hacer Probit. En inhibición de oviposición, los datos no sufrieron corrección para realizar el análisis. El extracto crudo de metanol, con 0.022 a 0.139 %, generó 50 % de repelencia y mortalidad. Pero, tuvo inconsistencia en inhibición de oviposición. La fracción de alcaloides libres, por medio de 0.005 a 0.175 %, produjo 50 % de repelencia y mortalidad. Sin embargo, esta fue insuficiente para inhibir oviposición; y la fracción de alcaloides liberados, mediante 0.018 a 0.150 %, mostró 50 % de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición. Moléculas semi-purificadas en repelencia y mortalidad tuvieron la misma actividad que fracciones, y en inhibición de oviposición β -eritroidina fue inestable y erisodina produjo 70 %. La persistencia del extracto y fracciones fue de 3 d, y el mejor efecto lo mostró fracción de alcaloides liberados. La actividad del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides se puede usar en protección de cultivos contra mosca blanca.

Palabras clave: repelencia, mortalidad, inhibición de oviposición, alcaloides libres, alcaloides liberados, β -eritroidina y erisodina.

ACTIVITY OF ALKALOIDS OF THE SEED *Erythrina americana* Mill. ON *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae)

Díaz Núñez José Luis, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

The greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) is a pest insect that limits the production of plants with economic importance and can be controlled by Colorín seed alkaloids (*Erythrina americana*). The effect of crude methanol extract, alkaloid fractions and semi-purified molecules in repellency was analyzed for 3 to 72 h; in mortality and oviposition inhibition, at 24 h; and the persistence of the substances was evaluated, during 15 d. The results were analyzed, with ANOVA and Tukey test or by means of Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U. The percentages of repellency and mortality were corrected by the Abbott equation, in order to make Probit. In oviposition inhibition, the data did not undergo correction to perform the analysis. The crude methanol extract, with 0.022 to 0.139%, generated 50% repellency and mortality. But, it had inconsistency in oviposition inhibition. The fraction of free alkaloids, by means of 0.005 to 0.175%, produced 50% repellency and mortality. However, this was insufficient to inhibit oviposition; and the fraction of alkaloids released, by 0.018 to 0.150%, showed 50% repellency, mortality and oviposition inhibition. Semi-purified molecules in repellency and mortality had the same activity as fractions, and in inhibition of oviposition β -erythroidin was unstable and erisodin produced 70%. The persistence of the extract and fractions was 3 d, and the best effect was shown by the fraction of alkaloids released. The activity of crude methanol extract and alkaloid fractions can be used in crop protection against whitefly.

Key words: repellency, mortality, oviposition inhibition, free alkaloids, liberated alkaloids, β -erythroidine and erysodine.

AGRADECIMIENTOS

A esa fuerza de la naturaleza que me permite seguir vivo y hacer lo que quiero.

A CONACYT por su apoyo financiero para realizar la investigación.

Al CP Campus Montecillo y mis profesores por ser parte de mi formación como profesionista.

A mi consejero Dr. Ramón Marcos Soto Hernández, y asesores Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández y M. C. Rubén San Miguel Chávez por su conocimiento, apoyo y tolerancia en los dos años de maestría e investigación.

Al grupo del laboratorio de fitoquímica del cual forme parte y personal que labora en él.

Al M. C. Bernardo Lucas Florentino, de la Facultad de Química, UNAM, por proporcionar el extracto crudo de metanol de semilla de E. americana.

A la Dr. Laura Delia Ortega, del programa de Entomología y Acarología, por autentificar la especie de mosca blanca.

Al M. C. Dagoberto Garza García, de INIFAP, por proveer de una variedad de frijol para mantener la colonia de mosca blanca y realizar bioensayos.

Al M. C. Antonio Gracia Esteva, la M. C. Petra Yáñez Jiménez y el M. C. Ricardo Vega Muñoz, de Botánica, por su apoyo incondicional.

Al área de invernaderos y personal por brindarme un espacio donde trabajar.

A mis amigos y la gente que conocí en el CP.

De manera especial agradezco otra vez, al Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández por ser mi mentor y dirigirme completamente en la investigación y al M. C. Antonio Gracia Esteva por su ayuda en momentos cruciales.

DEDICATORIA

A mi familia.

Amigos de Atlixco y de la Facultad de Biología, BUAP.

“En el universo, cada cosa que existe: nace, vive y muere por azar”

(Jean-Paul Sartre)

CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA.....	vii
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Mosca blanca de los invernaderos (<i>T. vaporariorum</i>).....	2
2.2. Técnicas de control y manejo de <i>T. vaporariorum</i>	3
2.2.1. Toxicidad de neonicotinoides en adultos de <i>T. vaporariorum</i>	3
2.2.2. Estudios sobre el efecto de algunas plantas en adultos de <i>T. vaporariorum</i>	4
2.3. Colorín (<i>E. americana</i>) y los alcaloides de su semilla	5
3. OBJETIVOS E HIPOTESIS	9
3.1. General	9
3.2. Particulares	9
3.3. Hipótesis.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1. Cría <i>T. vaporariorum</i>	10
4.2. Análisis fitoquímico	10
4.2.1 Extracto crudo de metanol de la semilla de <i>E. americana</i>	10
4.2.2. Obtención de la fracción de alcaloides libres y liberados	11
4.2.3. Aislamiento de β -eritroidina y erisodina	12
4.3. Ensayos biológicos.....	13
4.3.1. Preparación de soluciones	13
4.3.2. Ensayo de insectos posados.....	14
4.3.3. Experimento de mortalidad y oviposición.....	14
4.3.4. Evaluación de persistencia	15
4.4. Análisis estadístico	15

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1. Repelencia de <i>T. vaporariorum</i>	17
5.2. Mortalidad e inhibición de oviposición de <i>T. vaporariorum</i>	21
5.3. Persistencia del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides	25
5.4. Relación de resultados.....	28
6. CONCLUSIONES	30
7. LITERATURA CITADA.....	30

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % del extracto crudo de metanol, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.	17
2	Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % de fracción de alcaloides libres, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.	18
3	Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % de fracción de alcaloides liberados, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.	19
4	Repelencia promedio (%) del análisis comparativo de mosca blanca, por medio de concentraciones de 0.1 % del extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.	20
5	Mortalidad promedio (%) de mosca blanca y CL50 (%), con concentraciones de 10 a 0.01 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, a las 24 h.	22
6	Inhibición de oviposición promedio (%) de mosca blanca y CIO50 (%), con concentraciones de 10 a 0.01 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, a las 24 h.	23
7	Mortalidad e inhibición de oviposición promedio (%) del análisis comparativo de mosca blanca, por medio de concentraciones de 0.1 % del extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas, a las 24 h.	24
8	Repelencia promedio (%) del bioensayo de persistencia, mediante concentraciones de 10 a 0.1 % del extracto crudo de metanol (Ex.), de 1 y 0.1 % de fracción de alcaloides libres (A.L.) y de 0.1 % de fracción de alcaloides liberados (A. Li.), durante 15 d.	26

- 9 Inhibición de oviposición promedio (%) del bioensayo de persistencia, con 27
concentraciones de 10 a 0.1 % del extracto crudo de metanol, de 1 y 0.1 %
de la fracción de alcaloides libres y de 0.1 % de la fracción de alcaloides
liberados, durante 15 d.

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Esqueleto eritriano.	6
2	Alcaloides láctonicos.	6
3	Alcaloides diénicos.	7
4	Alcaloides alquénicos.	7
5	CCF revelada con reactivo de Dragendorff de fracción de alcaloides libres (1) y liberados (2).	11
6	CCF del extracto crudo de metanol (1), fracciones de alcaloides libres (2) y liberados (3), volumen 9:1 (5) y 6:4 (4) del primer intento de separación por cromatografía en columna y referencias, α y β eritroidina (6) y erisodina (7), vista en luz UV de longitud de onda corta (A) y revelada con reactivo de Dragendorff (B).	12
7	CCF de β -eritroidina (1) y erisodina (2) semi-purificadas de segunda separación por cromatografía de columna de muestra 2 y 8, vista en luz UV de longitud de onda corta (A) y revelada con reactivo de Dragendorff (B).	13

1. INTRODUCCIÓN

La mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) es un insecto plaga que limita la producción de plantas con importancia económica (McKee y Zalom, 2009), al tener poblaciones elevadas que se alimentan de los nutrientes transportados por el floema (Suarez *et al.*, 2015) y en el proceso transmite virus (Ferreles, 2016) y hongos (Scotta *et al.*, 2014).

En cultivos, este organismo se controla con aplicación oportuna de insecticidas organosintéticos, pero es resistente a dicloro difenil tricloroetano, organofosforados, carbamatos y piretroides (Ortega *et al.*, 1998); y susceptible a neonicotinoides (Rauch y Nauen, 2003). Sin embargo, estos productos sintéticos perjudican el ambiente y la salud humana (Devine y Furlong 2007), por este motivo, una opción para remplazarlos es la aplicación de extractos vegetales que se degradan rápido, son menos agresivos en el medio y contienen metabolitos secundarios con función selectiva y específica de defensa (Silva *et al.*, 2002; Miresmailli y Isman, 2014), al repeler, inhibir alimentación y oviposición o alterar el crecimiento de insectos (Vázquez *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2009).

De la semilla de *Erythrina americana*, un árbol perenne de la región centro y sur de México, se obtienen extractos de hexano y metanol, fracciones de alcaloides y moléculas puras que presentan actividad farmacológica y antioxidante (García y Soto 2001; Ibarra *et al.*, 2011); efecto tóxico *in vitro*, en crustáceos como *Daphia magna* y *Artemia salina*; actividad antimicrobiana, en *Bacillus cereus*; nematocida, en *Panagrellus redivivus* (García *et al.*, 2000a); y larvicida en *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti* (García *et al.*, 2004; Salazar, 2011). Además, impiden el crecimiento de hongos fitopatógenos en pruebas *in vitro* (Ibarra *et al.*, 2009) y pueden tener un efecto similar a la nicotina de tabaco (Garín *et al.*, 2009), pero hay pocos estudios en insectos plaga. Motivo por el cual, evaluar su efecto en *T.vaporariorum* permitirá descubrir propiedades nuevas de estas sustancias y moléculas, que puedan contribuir en el conocimiento de plantas útiles, para el manejo y control de este insecto plaga.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Mosca blanca de los invernaderos (*T. vaporariorum*)

La mosca blanca de los invernaderos (*T. vaporariorum*) es una seria amenaza para la agricultura a nivel mundial, afecta a más de 82 familias de plantas de importancia económica frutícolas, hortícolas y ornamentales, entre las que se encuentran los cultivos de frijol, habichuela, jitomate y fresa (Bueno *et al.*, 2005; Bernal *et al.*, 2008; McKee y Zalom, 2009). En México se distribuye en los estados de Coahuila, Colima, Durango, Jalisco, Estado de México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz y Yucatán (Ortega, 2008). Ha desarrollado resistencia a cuatro grupos de insecticidas organosintéticos: dicloro difenil tricloroetano, organofosforados, carbamatos y piretroides (Ortega *et al.*, 1998).

Ninfas y adultos son organismos fitófagos, que causan daño directo al alimentarse de los nutrientes transportados por el floema de plantas. Lo que, impide su desarrollo, mantenimiento fisiológico y puede causar su muerte si la población es alta (Suarez, *et al.*, 2015). Los daños indirectos se producen por excreción de mielecilla (azúcares y aminoácidos). La cual, permite el crecimiento de hongos de los géneros *Fumago*, *Cladosporium* y *Meliola*, que si son abundantes, interfieren con la actividad fotosintética de hojas (Rendón *et al.*, 2001; Scotta *et al.*, 2014). Además, son vectores de closterovirus y torradovirus (Jones, 2003; Fereres *et al.*, 2016).

Su ciclo vida de huevo a adulto dura en promedio de 24 a 28 d, y consta de una etapa de huevo, cuatro instares en forma de ninfa y uno en pupa (Cardona, 2002; Manzano y van Lenteren, 2009). Características distintivas son: en huevo, el corion es oscuro con el ápice doblado; en cuarto instar y pupa, el cuerpo tiene forma elíptica y el orificio vasiforme es semicordiforme; y el adulto es de color amarillo y secreta un polvo blanco que cubre su cuerpo. Sus ojos inferiores y superiores son compuestos y se encuentran separados, y presenta un cuarto segmento antenal (Carapio y Gutiérrez, 2013).

La selección de planta con el propósito de alimentación y oviposición se realiza mediante estímulos visuales, olfatorios y gustativos (Byrne y Bellows, 1991). El adulto primero identifica el color verde de la hoja, después aterriza en ella y con ayuda de sus quimio-mecano receptores

analiza el medio, si este es adecuado, se traslada al envés e inserta su estilete hasta el floema, con el fin de detectar calidad nutritiva y decidir si la planta es conveniente para mantener descendencia (Van Lenteren y Noldus, 1990; Gerling 2002). Por otro lado, también en el envés huevos, instares de ninfas, pupas y adultos se protegen de luz, cambios bruscos de temperatura y de aplicaciones foliares de insecticidas (Summers, 2002). Las hembras pueden tener fecundidad máxima de 127.2 huevos en temperaturas de 19 °C (Manzano y van Lenteren, 2009) y en respuesta a condiciones de estrés, dejar descendencia de forma rápida y eficiente (“hormoligosis”) (Dittrich y Ernst, 1990). Lo que, favorece aparición de resistencia (Santillán, 2005).

2.2. Técnicas de control y manejo de *T. vaporariorum*

En México el control de mosca blanca está regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, que se basa en un sistema integrado y medidas fitosanitarias como: rotación de cultivos y el manejo de fechas de siembra; selección de variedades de plantas resistentes; eliminación de focos de infestación; protección de cultivos con trampas, barreras vivas y cubiertas florales; introducción y manipulación de enemigos naturales; y aplicación de jabones, aceites minerales y vegetales, extractos naturales e insecticidas organosintéticos (técnica más común de control), con el propósito de interferir, distraer, repeler y suprimir a este insecto plaga (Ortega, 2008).

2.2.1. Toxicidad de neonicotinoides en adultos de *T. vaporariorum*

En una población que provenía de Chapingo y era susceptible a insecticidas, junto con una colectada en Tepoztlán, Ortega *et al.* (1998) registró Concentración Letal media (CL50), de 0.04 mg mL⁻¹ y 0.09 mg mL⁻¹, al usar Imidacropid. Siete años después, Santillán (2005) obtuvo con el mismo insecticida, en la de Chapingo CL50, de 7.2 mg mL⁻¹, y para una población colectada en el Bajío y otra en Villa Guerrero, de 15.1 mg mL⁻¹ y 27.4 mg mL⁻¹. Además, en esta investigación también uso Thiamethoxan y encontró CL50, de 7.2 mg mL⁻¹, en la de Chapingo; de 15.7 mg mL⁻¹, para la del Bajío; y 23.9 mg mL⁻¹, en la de Villa Guerrero. Rauch y Nauen (2003) mencionan que el producto comercial Imidacloprid puede tener CL50, de 0.00082 a 1 mg mL⁻¹; Thiamethoxan, de 0.0011 a 1 mg mL⁻¹; y Acetamiprid de 0.00086 a 0.136 mg mL⁻¹.

2.2.2. Estudios sobre el efecto de algunas plantas en adultos de *T. vaporariorum*

Productos oleosos de 1 % y acuosos de 1 a 10 % de ajo (*Allium sativum*) menciona Garmendia (2002) que presentan repelencia, de 42 a 51 % y de 25 a 30 %. Aplicación de concentraciones por arriba de 1 % en caso de oleosos y de 10 % en acuosos, causaron fitotoxicidad.

El aceite esencial de *Tagetes filifolia* analizaron Serrato *et al.* (2003) quienes registraron Concentración de Repelencia media (CR50), de 0.04 a 8.8 mg mL⁻¹. Camarillo *et al.* (2009) evaluó no solo actividad del aceite, sino también, de los extractos acuosos y aguas madres de planta completa, flores, hojas y molécula pura *trans*-anetol. El cual, constituye de 81 a 84 % del aceite esencial. Los extractos acuosos y aguas madres no tuvieron efecto significativo. Los aceites de diferentes estructuras de la planta y *trans*-anetol, mediante 1 mg mL⁻¹, generaron repelencia de 30 a 70 % y mortalidad menor de 30 %.

Extractos acuosos y de metanol de higuierilla (*Ricinus communis*), árbol de Nim (*Azadirachta indica*), orégano (*Lippia berlandieri*) y té limón (*Cymbopogon citratus*) fueron estudiados por Salazar (2003). Higuierilla mostró repelencia de 71.1 %, por medio de 100 mg mL⁻¹. La CR50 estimada para todos los extractos fue mayor de 40 mg mL⁻¹, y únicamente el extracto acuoso de *Azadirachta indica* generó mortalidad, mediante CL50 de 71 mg mL⁻¹. En el estudio extractos acuosos disminuyen oviposición y los de metanol la incrementan.

Extractos acuoso, de etanol y de acetona de artemisa (*Ambrosia artemisiifolia*), titatil (*Comocladia engleriana*), hierba santa (*Piper auritum*), rabanillo silvestre (*Raphanus raphanistrum*) y diente de león (*Taraxacum officinale*) investigó Mendoza (2010). Solo los extractos acuosos y de etanol fueron activos. El extracto acuoso y de etanol de *R. raphanistrum* mediante 200 mg mL⁻¹, mostró actividad repelente de 72 y 76 %. Los extractos de etanol de *P. auritum* y *R. raphanistrum* tuvieron mortalidad de 66 y 56 %, con 200 mg mL⁻¹. La CL50 de *P. auritum* fue 116 mg mL⁻¹ y en *R. raphanistrum* 185 mg mL⁻¹. Los extractos acuosos de *P. auritum* y *R. raphanistrum*; y de etanol de *T. officinale*, *P. auritum*, *R. raphanistrum* y *A. artemisiifolia*, por medio de 200 mg mL⁻¹, inhibieron oviposición y mediante 60 mg mL⁻¹, la estimularon.

Productos comerciales de Nim evaluaron Muñiz *et al.* (2016) y encontraron que el mejor era Neem Oil Spray. El cual, tiene mortalidad total con 0.6 mg mL⁻¹, a las 24 h, repelencia de 70, 90 y 88 %, a las 24, 48 y 72 h; e inhibición de oviposición de 100 %, al utilizar 1 mg mL⁻¹.

2.3. Colorín (*E. americana*) y los alcaloides de su semilla

El Colorín (*E. americana*) es un árbol perenne que pertenece a familia Fabaceae (Leguminosae) y se distribuye en los estados de Veracruz, Hidalgo, Estado de México, Morelos, Guerrero, Puebla y Oaxaca (Ibarra, 2010). Mide 3 a 6 m de alto y presenta una copa con ramas abundantes; su corteza es lisa y café; tiene espinas en ramas y tronco; las hojas son alternas y trifoliadas, de 7 a 22 cm de largo y ancho; las flores son alargadas y perfectas, y crecen como racimos piramidales en la punta de ramas, en los meses de julio a agosto; y el fruto es una vaina comprimida con semillas de color rojo (García *et al.*, 2001b; Sánchez *et al.*, 2001).

Las semillas tienen entre 0.1 a 0.05 % de alcaloides que se extraen mediante el uso de disolventes como hexano y metanol, con el fin de conseguir extractos y fracciones de los mismos (Sotelo *et al.*, 1993). El rendimiento del extracto crudo de metanol es de 13.8 a 26.4 % con respecto al peso total de muestra que se procese, y se obtienen de 0.3 a 1.68 % de la fracción de alcaloides libres y de 0.05 a 0.37 % de la fracción de alcaloides liberados (García *et al.*, 2004; Ibarra *et al.*, 2011).

Los alcaloides se pueden encontrar libres o conjugados como glucósidos, que necesitan ser hidrolizados por medio de ácidos y calor, para ser separados y aislados en los extracto y fracciones (San Miguel *et al.*, 2003). Además, poseen un esqueleto eritranano (Figura1), que es una aespíroamina tetracíclica (Reimann, 2007) y se clasifican en lactónicos, diénicos y alquénicos (San Miguel *et al.*, 2006).

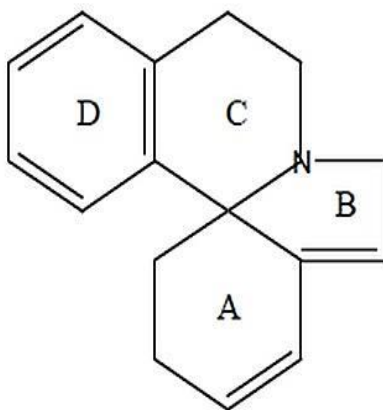


Figura 1. Esqueleto eritrinano.

De la fracción de alcaloides libres, α y β eritroidina son alcaloides lactónicos. Lo cual, implica que una lactona reemplaza el anillo aromático D (Figura 2).

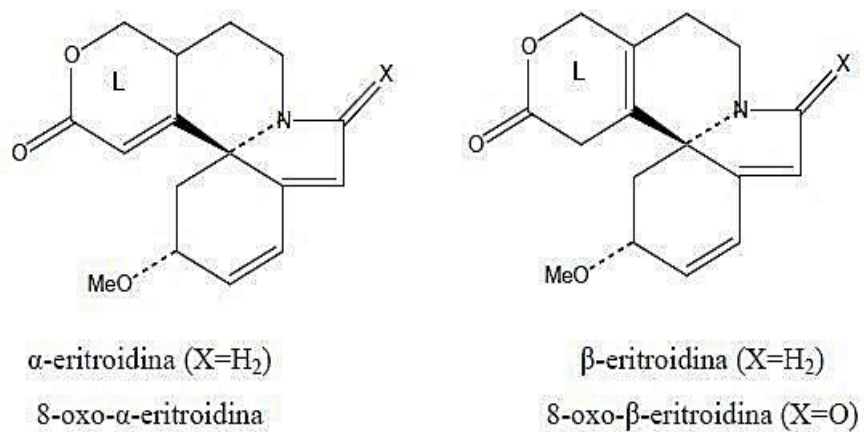


Figura 2. Alcaloides láctonicos.

Erisodina, erisovina y erisopina de la fracción de alcaloides liberados son diénicos. Contienen un sistema diéno conjugado en los anillos A y B (Figura 3).

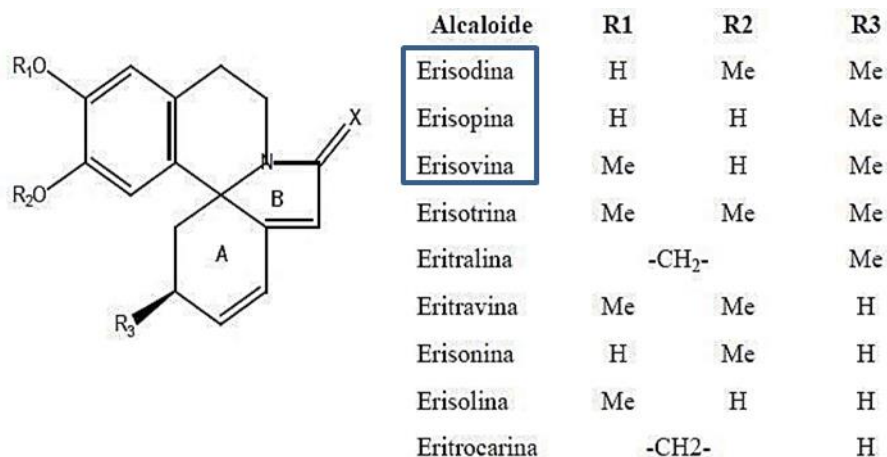


Figura 3. Alcaloides diénicos.

Los alcaloides alquénicos tienen insaturaciones en el carbono 1, 2 del anillo A, y no están presentes en extractos o fracciones de alcaloides de la semilla (Figura 4).

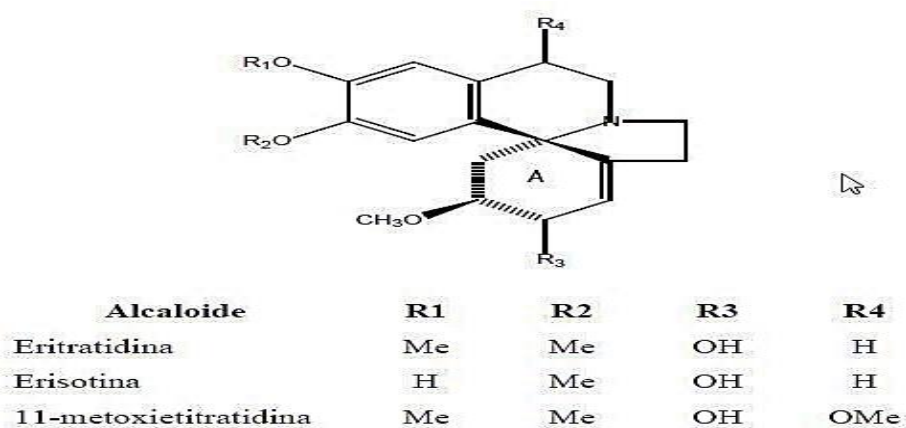


Figura 4. Alcaloides alquénicos.

En actividad extractos y fracciones de alcaloides, no afectan la germinación de maíz y frijol, pero sí la de chícharo. Lo que impide su crecimiento (García y Soto, 2001a).

La fracción de alcaloides liberados es más tóxica que alcaloides libres del extracto de hexano y metanol en *D. magna* y *A. salina* (crustáceo), *B. cereus* (bacteria) y *P. redivivus* (nematodo) (García *et al.*, 2000a). En cambio, en larvas de *C. quinquefasciatus* y *A. aegypt* la fracción de

alcaloides libres del extracto de metanol tiene mayor toxicidad que liberados (García *et al.*, 2004; Salazar, 2011).

En ratas, administración de fracciones de alcaloides y moléculas puras, disminuyen el comportamiento agresivo (García 2000b; Garín *et al.*, 2000). La DL₅₀ de erisodina por administración intraperitoneal es de 62.93 mg kg⁻¹ (Garín *et al.*, 2001) y se ha demostrado que limita la consolidación de memoria de corto plazo, al actuar en el hipocampo dorsal como antagonista de receptores nicotínicos ($\alpha_4\beta_2$ y α_7) (Garín *et al.*, 2009).

Erisovina impide el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos como: *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Penillicium* spp., *Monilia fructicola* y *Trichoderma harzianum* (Ibarra *et al.*, 2009).

3. OBJETIVOS E HIPOTESIS

3.1. General

- Analizar el extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas de la semilla de *E. americana* en la repelencia, mortalidad y oviposición de *T. vaporariorum*, junto con la persistencia de las sustancias.

3.2. Particulares

- Registrar repelencia de adultos de mosca blanca del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, y calcular CR50.
- Registrar mortalidad y oviposición de adultos de mosca blanca del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, y calcular CL50 y Concentración de Inhibición de Oviposición media (CIO50).
- Evaluar el efecto de las moléculas semi-purificadas β -eritroidina y erisodina.
- Evaluar persistencia del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides.

3.3. Hipótesis

El extracto crudo de metanol de semilla de *E. americana*, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas tendrán un efecto repelente, generarán mortalidad e inhibirán oviposición de *T. vaporariorum* a nivel de invernadero en plantas de frijol. De tal forma, que se pueda extrapolar, para el manejo y control de mosca blanca en cultivos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó de marzo de 2016 a agosto de 2017 en el Laboratorio de Fitoquímica del programa de Botánica, el área de Productos Naturales del programa de Entomología y Acarología e Invernaderos generales de cristal del Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados (CP), Montecillo-Texcoco, Estado de México, México.

4.1. Cría *T. vaporariorum*

La cría de *T. vaporariorum* se estableció mediante captura de adultos procedentes de cultivos bajo invernáculo del CP, en abril de 2016. Estos se introdujeron en una jaula entomológica de madera (2 x 1 x 1 m) recubierta de tergalina, que se encontraba en condiciones de invernadero (temperaturas de 25 ± 5 °C y fotoperiodo de 12 h), y en cuyo interior había frijol variedad Canario 107 (con sustrato franco arenoso como soporte) de diferentes edades, para alimentación y oviposición del insecto. Las plantas se observaron, cuidaron y rotaron durante un periodo de tres a cuatro meses, con el propósito de incrementar la población de adultos, huevos, ninfas y pupas. Al ocurrir esto, de la jaula se sacó y traslado frijol con pupas a un ambiente confinado (jaula de 80 x 50 x 80 cm) cada mes, con el fin de obtener adultos (de 3 a 6 d de edad) sin sexar, para ser utilizados en bioensayos. A partir del confinamiento, la observación, cuidado y rotación de plantas se intensificó con el propósito de no disminuir la población de mosca blanca durante el periodo de experimentación. Por medio de ninfas de cuarto instar y pupas, la especie fue autenticada por la Dr. Laura Delia Ortega Arenas del programa de Entomología y Acarología.

4.2. Análisis fitoquímico

Con los métodos descritos por García *et al.* (2004) e Ibarra (2010) se realizó el análisis fitoquímico.

4.2.1 Extracto crudo de metanol de la semilla de *E. americana*

Un extracto crudo de metanol de la Facultad de Química, UNAM, se usó para obtener las fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas. La planta y semilla de procedencia del

extracto se certificaron por el curador del Herbario Hortorio “CHAPA” del programa de Botánica, el M. C. Ricardo Vega Muñoz.

4.2.2. Obtención de la fracción de alcaloides libres y liberados

El extracto crudo de metanol se acidificó a pH 2, por medio de ácido sulfúrico a 2 %, y se le realizaron tres lavados, a través de 100 mL de cloruro de metileno, con el fin de conseguir dos fases, una ácido-acuosa y un remanente que se desechó. La fase ácido-acuosa se alcalinizó a pH 8, con bicarbonato de sodio, y se sometió a tres extracciones, mediante 100 mL del cloruro de metileno, para tener una fase alcalina-acuosa y otra con alcaloides libres. A la cual, se le quitaron residuos de agua, por medio de sulfato de sodio anhidro, y se concentró a presión reducida en un rotaevaporador (BUCHI R-114), con el propósito de evaporar el solvente y obtener **la fracción de alcaloides libres**. La fase alcalina-acuosa del proceso anterior se acidificó a pH 2, mediante ácido clorhídrico concentrado y se sometió a reflujo durante 3 h, a través de temperaturas de 60 a 70 °C. Esta se dejó enfriar y se le realizaron las técnicas descritas anteriormente, es decir, alcalinizar a pH 8, hacer extracciones y recobrar la fase con alcaloides liberados, eliminar residuos de agua y evaporar el solvente, para conseguir **la fracción de alcaloides liberados**. La siguiente imagen muestra la presencia de alcaloides en ambas fracciones (Figura 5).



Figura 5. CCF revelada con reactivo de Dragendorff de fracción de alcaloides libres (1) y liberados (2).

4.2.3. Aislamiento de β -eritroidina y erisodina

El aislamiento de las moléculas se realizó mediante 1 g de la fracción de alcaloides libres, que se separó por la técnica de cromatografía en columna mediante gel de sílice (Silica gel 60 G (70-230 mallas), Merck) como absorbente. El sistema de elución fue cloruro de metileno: metanol de 9:1 a 6:4 (v/v), cuatro volúmenes de 500 mL se recuperaron y analizaron por cromatografía de capa fina (CCF) [placas recubiertas de gel de sílice (Silica gel 60 GF 254, Merck) de 2 x 5 cm; método de elución cloruro de metileno: etanol 9:1 (v/v)]. Las láminas se observaron en lámpara de luz UV (Cole-Parmer 9818-series Darkrooms), en longitud de onda corta, y se revelaron con reactivo de Dragendorff (Figura 6). El primer volumen (9:1) se sometió a una segunda separación por cromatografía en columna, a través del sistema de elución anterior, muestras de 25 mL se recobraron y analizaron por CCF donde se utilizaron eritroidinas y erisodina, caracterizadas previamente por resonancia magnética nuclear y cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, como referencia. Las muestras que dieron reacción positiva para alcaloides y estos eran semejantes se agruparon en fracciones. De las cuales se obtuvieron 12, pero solo la segunda y octava, que presentaban los alcaloides de interés, se usaron en bioensayos (Figura 7).

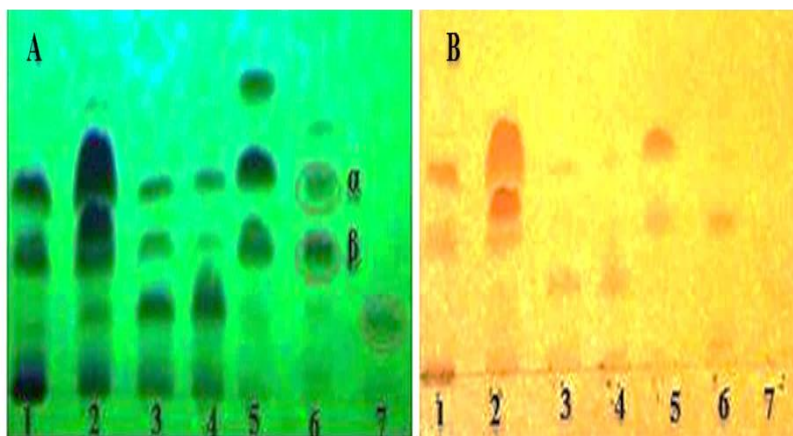


Figura 6. CCF del extracto crudo de metanol (1), fracciones de alcaloides libres (2) y liberados (3), volumen 9:1 (5) y 6:4 (4) del primer intento de separación por cromatografía en

columna y referencias, α y β eritroidina (6) y erisodina (7), vista en luz UV de longitud de onda corta (A) y revelada con reactivo de Dragendorff (B).

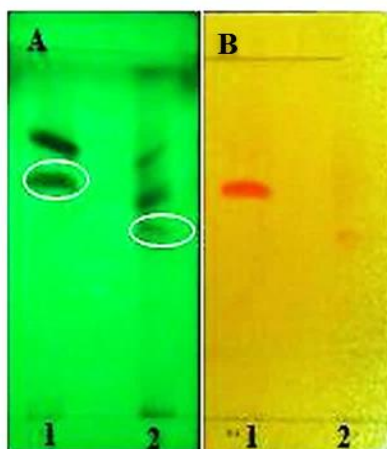


Figura 7. CCF de β -eritroidina (1) y erisodina (2) semi-purificadas de segunda separación por cromatografía de columna de muestra 2 y 8, vista en luz UV de longitud de onda corta (A) y revelada con reactivo de Dragendorff (B).

4.3. Ensayos biológicos

En los métodos de Ortega *et al.*, (1998) y Ortega y Schuster (2000) se basaron los ensayos biológicos.

4.3.1. Preparación de soluciones

Soluciones madres se prepararon del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides a 10 % en relación (p/v), para después hacer disoluciones en escala logarítmica de 10 a 0.00001 % (v/v). Como testigos se usaron agua destilada y agua con tween a 1 % (Tween 80, Merckel, 0.012 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de principio activo). El cual, sirvió de emulsificante y adherente. En pruebas comparativas se realizaron soluciones de 0.1 % de moléculas semi-purificadas y de un concentrado de tabaco (control positivo).

4.3.2. Ensayo de insectos posados

En el ensayo se usaron siete tratamientos y dos testigos; y en el análisis comparativo cinco concentraciones, dos controles negativos y un positivo. Todos con cuatro repeticiones. Para mantener mosca blanca durante 2 h previas a la evaluación en confinamiento y ayuno, se utilizaron 36 pipetas Pasteur para colectar 20 adultos, en cada una, de la segunda jaula entomológica. De plantas (con 20 d de edad) se cortaron y sumergieron (10 s) 36 foliolos de frijol en las diluciones de 10 a 0.00001 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, la solución de tween a 1 % y agua destilada. En el estudio comparativo se usaron 32 pipetas Pasteur y 32 foliolos, que se bañaron mediante soluciones de 0.1 % de cada tratamiento anterior, moléculas semi-purificadas y del concentrado de tabaco. Estos se dejaron reposar (a temperatura ambiente 5 s) y acoplaron a goteros con agua de vasos tapados por medio de tergalina, donde por un orificio lateral de 2 mm se introdujeron 20 adultos. El ensayo se distribuyó de forma aleatoria en una superficie plana y a las 3 h (con 88 % o más de insectos posados en testigos) se comenzó el conteo del número de mosca blanca posada en cada foliolo y se le dio continuidad, a las 6, 12, 24, 48 y 72 h. Los 20 adultos se tomaron como 100 % de insectos posados de cada repetición y por diferencia se obtuvo el porcentaje de repelencia de tratamientos.

4.3.3. Experimento de mortalidad y oviposición

En el experimento se manejaron cuatro concentraciones y dos testigos; y en el estudio comparativo cinco tratamientos, dos controles negativos y un positivo. Todos con cuatro repeticiones. Adultos de mosca blanca en 24 Pipetas Pasteur se recolectaron y mantuvieron de la misma forma que en el ensayo de insectos posados, y 24 plantas de frijol (con 20 d de edad) se asperjaron a través de disoluciones de 10 a 0.01 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, la solución de tween a 1 % y agua destilada. En el análisis comparativo se utilizaron 32 Pipetas Pasteur y 32 plantas. A las cuales, se aplicaron todos los tratamientos a concentración de 0.1 %, es decir, también las soluciones de moléculas semi-purificadas y del concentrado de tabaco. El frijol se dejó 10 min a temperatura ambiente (con el fin de quitar el exceso de la aplicación) y se le seleccionaron foliolos. A los que, se acoplaron bolsas de tergalina, para introducir 20 adultos de mosca blanca y mantenerlos en confinamiento completo. De forma

aleatoria el experimento se montó en una zona plana y a las 24 h se contó el número de insectos muertos de cada repetición, con el propósito de obtener el porcentaje de mortalidad, y en la base del envés de cada foliolo se registró la cantidad de huevos, en una superficie de 1 cm² y mediante la ayuda de un microscopio estereoscópico, y por medio de las observaciones registradas en el testigo de agua (100 % de oviposición) se obtuvo la proporción de inhibición de oviposición tratamientos.

4.3.4. Evaluación de persistencia

En la evaluación de persistencia se manejaron 160 plantas de frijol. Mediante las cuales se formaron 5 grupos de 32 plantas con 1, 3, 6, 9 y 12 d, posteriores a la aplicación de tratamientos. Los cuales, fueron soluciones de 10 a 0.1 % del extracto crudo de metanol, de 1 y 0.1 % de fracción de alcaloides libres y de 0.1 % de fracción de alcaloides liberados, la solución de tween a 1 % y agua destilada. Todos con cuatro repeticiones. El primer grupo se introdujo en una jaula entomología de 1 m³ que contenía población de mosca blanca, y cada tres días las agrupaciones se cambiaron. La persistencia se evaluó, al medir en un foliolo elegido de forma aleatoria de cada tratamiento, el número de insectos posados todos los días y la cantidad de huevos cada 3 d. El testigo de agua se consideró como 100 % en ambas mediciones y por diferencia se sacó el porcentaje de repelencia e inhibición de oviposición de los tratamientos. El estudio duro 15 d

4.4. Análisis estadístico

Los porcentajes de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición, de los diferentes bioensayos, se les realizó análisis de supuestos. Si los resultados presentaron normalidad y homogeneidad de varianza, como los de repelencia promedio del extracto crudo de metanol registrados, a las 3, 6, 24, 48 y 72 h; de la fracción de alcaloides libres, a las 6 h; de la fracción de alcaloides liberados, a las 3 y 6 h; y en estudio comparativo, a las 6 y 24 h, se efectuó un ANOVA, con el propósito de encontrar diferencias significativas entre los porcentajes promedio de cada tratamiento y prueba de Tukey, para compararlos. En cambio, si estos no tenían normalidad y homogeneidad de varianza, como en los demás resultados, se analizaron con Kruskal Wallis, con el fin de encontrar diferencias significativas entre los porcentajes promedio de rangos de cada tratamiento y se llevó a cabo prueba de U de Mann-Whitney, para

contrastarlos. Los resultados de los porcentajes de repelencia y mortalidad promedio, del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, se corrigieron con la ecuación de Abbott (1925) y el testigo de agua con el propósito de hacer Probit, y obtener la CR50 y CL50. En inhibición de oviposición no se hizo corrección de resultados para realizar el análisis y tener la CIO50. En estudio de los resultados se utilizaron los programas IBM SPSS Statistics 22.0 y R Statistics 3.3.1. ($p \leq 0.05$).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Repelencia de *T. vaporariorum*

Resultados de repelencia del extracto crudo de metanol, de 3 a 72 h, se presentan en Cuadro 1. La menor fue 7.5 %, con 0.00001 %, a las 12 y 24 h, y la mayor de 90 %, por medio de 10 %, a las 72 h. En las últimas 2 h, esta se incrementó. Pero, no se logró total. La repelencia se distribuye por igual en las concentraciones y la diferencia entre estas, de forma continua, fueron menores de 15 %. El efecto del extracto se mantiene, durante 3 a 72 h, y se obtuvo CR50 de 0.066 a 0.083 %, mediante un intervalo menor y mayor de 0.024 a 0.139 %.

Cuadro 1. Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % del extracto crudo de metanol, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Concentración (%)	Repelencia promedio (%)					
	3†	6†	12††	24†	48†	72 (h)†
10	81.2±6.2a	82.5±3.2a	81.2±2.3 (34.5)a	83.7±2.3a	85.0±2.0a	90.0±2.0a
1	68.7±1.2b	71.2±1.2a	68.7±1.2 (30.5)b	68.7±1.2b	72.5±1.4b	76.2±1.2b
0.1	57.5±1.4b	58.7±2.3b	56.2±2.5 (26.5)c	58.7±2.3c	61.2±2.3b	63.7±1.2c
0.01	43.7±2.3c	46.2±2.3c	43.7±2.3 (22.5)d	45.0±2.0d	47.5±3.2c	52.5±3.2cd
0.001	32.2±4.3c	33.7±4.2d	30.0±2.0 (18.5)e	32.5±2.5e	36.2±3.1c	41.2±2.3d
0.0001	20.0±2.0c	18.7±1.2e	20.0±0.0 (14.5)f	21.2±2.3f	22.5±3.2d	25.0±3.0e
0.00001	10.0±2.0de	10.0±2.0ef	7.5±1.4 (9.7)g	7.5±1.4g	11.2±1.4de	12.5±2.4f
Agua com tween¶	8.7±1.2de	6.2±2.3f	2.5±1.4 (5.5)h	3.7±1.2g	3.7±2.3e	5.0±2.0f
Agua	5.0±2.8e	2.5±2.5f	1.2±1.2 (4.2)h	6.2±2.3g	2.5±2.5e	5.0±2.3f
CR50 (%)*	0.076	0.083	0.077	0.066	0.078	0.068
Intervalo	(0.026-0.125)	(0.027-0.139)	(0.026-0.129)	(0.025-0.106)	(0.027-0.128)	(0.024-0.112)

Las letras representan diferencias entre los resultados de repelencia promedio de porcentajes y rangos († Tukey, $p \leq 0.05$; ††U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. *Resultados del Probit de porcentajes de repelencia corregida (Z , $p \leq 0.05$).

¶ Los resultados del testigo de agua con tween, no se tomaron en cuenta para la prueba.

De la fracción de alcaloides libres la repelencia que produjo, de 3 a 72 h, se muestra en Cuadro 2. La más baja fue 11.2 %, mediante 0.00001 %. Esta se incrementó, a los 48 y 72 h. Lo cual, generó total por medio de 10 y 0.1 %. En las concentraciones la repelencia se reparte de la misma forma y la diferencia entre estas fue mayor de 15 % en 1 a 0.1 %, a las 3, 48 y 72 h; en 0.01 a 0.001 %, a las 12, 24, 48 y 72 h; y en 0.0001 a 0.00001 %, a las 3, 6, 12, 24 y 48 h. La actividad de la fracción se conserva, durante 3 a 72 h, y la CR50 fue 0.062 a 0.090 %, con un intervalo de mínimo y máximo de 0.005 a 0.176 %.

Cuadro 2. Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % de fracción de alcaloides libres, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Concentración (%)	Repelencia promedio (%)					
	3††	6†	12††	24††	48††	72 (h) ††
10	93.7±1.2 (34.3)a	95.0±2.0a	95.0±0.0 (34.5)a	95.0±0.0 (34.5)a	100.0±0.0 (34.5)a	100.0±0.0 (32.5)a
1	85.0±2.0 (30.6)a	81.2±1.4b	82.5±1.4 (30.5)b	87.5±1.4 (30.5)b	93.7±1.2 (30.5)b	100.0±0.0 (32.5)a
0.1	67.5±1.4 (26.5)b	67.5±1.4c	66.2±1.4 (26.5)c	67.5±1.4 (25.5)c	75.0±2.0 (25.7)c	81.2±1.2 (26.5)b
0.01	57.5±1.4 (22.5)c	57.5±1.4d	58.7±1.2 (22.5)d	62.5±3.2 (23.5)c	68.7±3.1 (23.2)c	71.2±2.3 (22.5)c
0.001	43.7±2.3 (18.5)d	43.7±1.4e	42.0±1.4 (18.2)e	47.0±1.4 (18.5)d	51.2±1.2 (18.5)d	53.7±2.3 (18.2)d
0.0001	30.0±2.0 (14.5)e	31.2±2.3f	35.0±2.0 (14.7)e	35.0±2.0 (14.5)e	37.5±2.5 (14.5)e	40.0±3.5 (14.7)e
0.00001	13.7±2.3 (9.0)f	11.2±3.1g	15.0±2.0 (10.5)f	17.5±1.4 (10.5)f	21.2±2.3 (10.5)f	26.2±2.3 (10.5)f
Agua con tween¶	10.0±0.0 (6.5)fg	6.2±1.4g	2.5±1.4 (5.0)g	8.7±1.2 (6.2)g	3.7±1.6 (5.0)g	3.7±2.3 (32.5)g
Agua	7.5±1.4 (4.0)g	3.7±2.0g	1.2±1.2 (4.0)g	2.5±1.4 (2.7)g	2.5±1.4 (4.0)g	3.7±2.3 (32.5)g
CR50 (%)*	0.062	0.062	0.063	0.066	0.072	0.090
Intervalo	(0.006-0.118)	(0.007-0.117)	(0.006-0.120)	(0.007-0.125)	(0.007-0.137)	(0.005-0.176)

Las letras representan diferencias entre los resultados de repelencia promedio de porcentajes y rangos († Tukey, $p \leq 0.05$; ††U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. *Resultados del Probit de porcentajes de repelencia corregida (Z, $p \leq 0.05$).

¶ Los resultados del testigo de agua con tween, no se tomaron en cuenta para la prueba.

De la fracción de alcaloides liberados resultados de repelencia, de 3 a 72 h, se exponen en Cuadro 3. La menor fue 8.7 %, con 0.00001 %, a las 3 h. A la última hora, esta aumentó. Sin embargo, se consiguió total con 10 %, desde 24 h. En las concentraciones la repelencia se distribuye de la misma manera y la diferencia entre estas superó 15 % en 10 a 1 %, a las 24 y 48 h; en 1 a 0.1 %, a las 12 h; y en 0.0001 a 0.00001, a las 3 h. El efecto de la fracción no cambia, durante 3 a 72 h, y se consiguió CR50 de 0.048 a 0.066 %, mediante un intervalo menor y mayor de 0.018 a 0.109 %.

Cuadro 3. Repelencia promedio (%) de mosca blanca y CR50 (%), mediante concentraciones de 10 a 0.00001 % de fracción de alcaloides liberados, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Concentración (%)	Repelencia promedio (%)					
	3†	6†	12††	24††	48††	72(h)††
10	90.0±2.0a	92.5±1.4a	95.0±2.0 (34.5)a	100±0.0 (34.5)a	100±0.0 (34.5)a	100±0.0 (34.5)a
1	76.2±1.4b	77.5±2.4b	78.7±2.3 (30.5)b	80.0±2.0 (30.5)b	82.5±1.4 (30.5)b	85.0±2.0 (30.5)b
0.1	63.7±1.4c	63.7±1.2c	60.0±0.0 (26.5)c	65.0±2.0 (26.5)c	67.5±1.4 (26.5)c	70.0±2.0 (26.4)c
0.01	46.2±3.4d	50.0±2.0d	47.5±1.4 (22.2)d	48.7±3.7 (22.3)d	51.2±4.2 (22.5)d	55.5±3.5 (22.4)d
0.001	35.0±4.5d	37.5±4.3e	33.7±4.2 (18.5)d	33.7±2.3 (18.3)e	37.5±2.5 (18.7)d	40.0±3.5 (18.7)d
0.0001	21.2±3.4e	22.5±3.2f	18.7±3.5 (13.7)e	20.0±4.5 (14.0)f	22.2±3.2 (14.4)e	26.2±2.3 (14.5)e
0.00001	8.7±1.2f	12.5±1.4g	11.2±2.3 (10.7)e	10.0±1.0 (10.0)g	11.2±1.2 (9.5)f	13.7±1.2 (10.2)f
Agua con tween¶	8.7±1.2f	5.0±2.0g	3.7±2.3 (5.7)f	6.2±1.2 (5.1)h	7.5±1.4 (6.0)fg	6.2±1.2 (5.0)g
Agua	7.5±2.4f	6.2±2.3g	1.2±1.2 (4.0)f	6.2±1.2 (5.1)h	5.0±2.0 (4.1)g	5.0±2.0 (4.2)g
CR50 (%)* Intervalo	0.066 (0.023-0.109)	0.062 (0.022-0.102)	0.058 (0.019-0.097)	0.048 (0.018-0.079)	0.055 (0.020-0.090)	0.061 (0.021-0.102)

Las letras representan diferencias entre los resultados de repelencia promedio de porcentajes y rangos († Tukey, $p \leq 0.05$; ††U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. * Resultados del Probit de porcentajes de repelencia corregida (Z , $p \leq 0.05$).

¶ Los resultados del testigo de agua con tween, no se tomaron en cuenta para la prueba.

En extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, la repelencia tiene una misma distribución en las concentraciones, y si se contrastan porcentajes, parece ser mejor fracción de alcaloides libres. Sin embargo, al comparan los intervalos mínimo y máximo de CR50, de cada uno, estos se relacionan. Lo cual indica, que la actividad del extracto y fracciones es la misma, de 3 a 72 h, y se alcanza 50 % de repelencia, mediante intervalo de 0.005 a 0.176 % del extracto y fracciones.

Resultados del estudio comparativo, donde se muestra la repelencia de moléculas semi-purificadas, durante 3 a 72 h, se presentan en Cuadro 4. El extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, con respecto al experimento anterior, no tuvieron actividad diferente. La repelencia de β -eritrodina y erisodina fue similar a fracción de alcaloides libres, de 3 a 48 h; a fracción de alcaloides liberados, a las 6 y 24 h; y al concentrado de tabaco, a las 3 y 6 h.

Cuadro 4. Repelencia promedio (%) del análisis comparativo de mosca blanca, por medio de concentraciones de 0.1 % del extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas, a las 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Tratamientos (0.1%)	Repelencia promedio (%)					
	3††	6†	12††	24†	48††	72(h)††
Extracto crudo de metanol	55.0±2.0 (10.6)d	45.0±2.8c	42.5±3.2 (10.5)d	52.5±4.3c	43.7±6.5 (10.5)d	53.7±6.2 (10.8)e
Fracción de alcaloides libres	78.7±1.2 (22.6)ab	77.5±7.5ab	70.0±0.0 (22.0)b	76.2±1.2ab	73.7±1.2 (21.3)b	76.2±2.3 (23.7)b
Fracción de alcaloides liberados	70.0±4.5 (17.2)c	68.7±1.2b	62.5±3.2 (16.38)c	72.5±3.2b	67.5±1.4 (16.2)c	65.0±2.0 (15.0)d
β -eritrodina	86.2±8.0 (24.2)ab	77.5±4.7ab	72.5±3.2 (23.3)b	77.5±4.3ab	75.0±3.5 (22.5)b	76.2±1.2 (23.6)b
Erisodina	78.7±1.2 (22.3)ab	72.5±2.4ab	68.7±2.3 (20.3)b	71.2±1.2b	75.0±4.0 (21.8)b	71.2±3.1 (19.7)c
Concentrado de tabaco	87.5±6.6 (25.8)a	90.0±4.0a	92.5±4.3 (30.3)a	87.5±1.2a	91.2±1.2 (30.5)a	90.0±3.5 (30.0)a
Agua con tween	6.2±1.2 (5.0)e	7.5±2.5d	2.5±2.5 (4.5)e	7.5±1.4d	6.2±1.2 (4.8)e	8.7±1.2 (5.8)f
Agua	7.5±1.4 (4.0)e	5.0±2.0d	2.5±2.5 (4.5)e	7.5±2.5d	5.0±2.0 (4.1)e	2.5±2.5 (3.1)f

Las letras representan diferencias entre los resultados de repelencia promedio de porcentajes y rangos († Tukey, $p \leq 0.05$; ††U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar.

Moléculas semi-purificadas y fracción de alcaloides libres tuvieron el mismo efecto, durante 3 a 48 h. Por lo que, en relación con la primera evaluación de repelencia y el procedimiento que se realizó con el propósito de obtenerlas. Los alcaloides β -eritroidina y erisodina, no presentan actividad diferente del extracto crudo de metanol y fracciones.

Al comparar el intervalo de CR50, de 0.005 a 0.176 %, que engloba los resultados del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, con el de productos de Nim, de 0.013 a 0.114 %, durante 24 a 72 h (Muñiz *et al.*, 2016) y del aceite de estructuras vegetales de *T. filifolia* y principio activo *trans*-anetol, por medio de 0.001 a 0.137 %, a las 24 h (Camarillo *et al.* 2009), se tiene actividad idéntica; y con respecto de extractos oleosos de 1 % y acuosos de 1 a 10 % de *A. sativum*, que tienen menos de 50 % de repelencia (Garmendia, 2002); el extracto de metanol de las semillas de *R. communis* de 71.1 %, a través de 10 % (Salazar, 2003); y el extracto acuoso y de etanol de *R. raphanistrum* de 72 y 76 %, por medio de 20 % (Mendoza, 2010), a las 24 h, se muestra mejor efecto.

La repelencia que producen los alcaloides de *E. americana*, en *T. vaporariorum*, es semejante con la de terpenos y fenoles, y esta puede deberse a saturación de quimi-receptores del insecto (Vázquez *et al.*, 2007). Lo que impide interacción con plantas por alteración de comportamiento (Miresmailli y Isman, 2014), como en el caso de ratas, donde la ingesta de pequeñas fracciones de alcaloides disminuyen la conducta agresiva (García 2000b; Garín *et al.*, 2000).

5.2. Mortalidad e inhibición de oviposición de *T. vaporariorum*

Mortalidad que causó el extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, a las 24 h, se presentan en Cuadro 5. Del extracto fue de 77.5 a 37.5 %, de la fracción de alcaloides libres 97.5 a 46.2 % y de la fracción de alcaloides liberados 97.5 a 37.5 %, a través de 10 a 0.01 %. En las concentraciones, la mortalidad se distribuye por igual y la diferencia entre estas, de manera continua, fue igual o superior de 15 %, con excepción de 0.1 a 0.01 del extracto y fracción de alcaloides libres. Se obtuvo CL50 del extracto de 0.064 %, mediante alcaloides libres de 0.049 % y por medio de liberados de 0.044 %.

Cuadro 5. Mortalidad promedio (%) de mosca blanca y CL₅₀ (%), con concentraciones de 10 a 0.01 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, a las 24 h.

Concentración (%)	Mortalidad promedio (%)		
	Extracto crudo de metanol	Fracción de alcaloides libres	Fracción de alcaloides liberados
10	77.5±1.4 (22.5) a	97.5±1.4 (22.5)a	97.5±1.4 (22.5)a
1	62.5±1.4 (18.5)b	78.75±1.2 (18.5)b	77.5±1.4 (18.5)b
0.1	47.5±3.2 (14.2)c	56.2±2.3 (14.2)c	53.7±2.3 (14.5)c
0.01	37.5±1.4 (10.7)c	46.2±2.3 (10.7)c	37.5±4.3 (10.5)d
Agua con tween¶	6.2±2.3 (5.5) d	10.0±0.0 (6.00)d	10.0±0.0 (5.5)e
Agua	2.5±1.4 (3.5)d	5.0±2.0 (3.00)d	7.5±1.4 (3.5)e
CL ₅₀ (%)* Intervalo	0.064 (0.022-0.106)	0.049 (0.016-0.081)	0.044 (0.014-0.074)

Las letras representan diferencias entre los resultados de mortalidad promedio de rangos (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. * Resultados del Probit de porcentajes de mortalidad corregida (Z, $p \leq 0.05$). ¶ Los resultados del testigo de agua con tween, no se tomaron en cuenta para la prueba.

El extracto crudo de metanol origina menos mortalidad que las fracciones de alcaloides si se comparan porcentajes de mortalidad. Sin embargo, al confrontan los intervalos de CL₅₀, estos se asocian. Por lo que, el extracto y fracciones, tienen mismo efecto. Lo cual indica, que con intervalo de 0.014 a 0.106 %, generan 50 % de mortalidad, a las 24 h.

Del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides resultados de inhibición de oviposición, a las 24 h, se muestran en Cuadro 6. El extracto no tuvo efecto sobre oviposición; la fracción de alcaloides libres presentó 91.6 %, mediante 10 % y de 1 a 0.01 % fueron inestables; y la fracción de alcaloides liberados tuvo de 89.8 a 55.8 %, por medio de 10 a 0.1 %, donde la inhibición de oviposición tiene una misma distribución y diferencias mayores de 10 %. A la vez, 0.01 % fue inconsistente. La CIO₅₀ del extracto no se calculó, de alcaloides libres fue 0.237 % y de liberados 0.111 %.

Cuadro 6. Inhibición de oviposición promedio (%) de mosca blanca y CIO50 (%), con concentraciones de 10 a 0.01 % del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, a las 24 h.

Concentración (%)	Inhibición de oviposición promedio (%)		
	Extracto crudo de metanol	Fracción de alcaloides libres	Fracción de alcaloides liberados
10	-57.5±4.2 (2.5)e	91.6±3.4 (22.5)a	89.8±1.9 (22.5)a
1	17.5±2.5 (21.5)a	37.5±4.4¶ (14.0)b	62.6±5.8 (17.2)b
0.1	10.0±4.0 (16.7)b	33.3±14.0 (13.5)bc	55.8±1.9 (15.7)b
0.01	5.0±2.3 (13.5)bc	33.3±11.7¶ (11.5)bc	-2.04±0.0¶ (3.0)d
Agua con tween	2.5±2.5 (11.5)cd	27.08±3.9¶ (10.0)c	16.6±10.5¶ (9.0)c
Agua	0 (9.5)d	0 (3.5)d	0¶ (7.5)c
CIO50 (%)* Intervalo	N.P.	0.237 (0.196-0.279)	0.111 (0.071-0.150)

Las letras representan diferencias entre los resultados de inhibición de oviposición promedio de rangos (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. * Resultados del Probit de porcentajes de inhibición de oviposición sin corregir (Z, $p \leq 0.05$). **N.P.** Significa no se calculó. ¶ Datos que no se tomaron en cuenta para el análisis. Los números negativo indican incremento de oviposición.

En inhibición de oviposición, al relacionar los intervalos de CIO50, la fracción de alcaloides liberados es mejor que la fracción de alcaloides libres, a las 24 h. Por lo cual, con respecto a los resultados anteriores, tiene 50 % de mortalidad e inhibición de oviposición, mediante intervalo de 0.014 a 0.150 %.

Del análisis comparativo mortalidad e inhibición de oviposición de moléculas semi-purificadas, a las 24 h, se presentan en Cuadro 7. El extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, no tienen un efecto diferente al registrado anteriormente en mortalidad. Sin embargo, en este experimento incrementaron oviposición. Moléculas semi-purificadas y fracciones muestran la misma actividad en mortalidad; y en oviposición, β -eritroidina estímulo y erisodina la inhibió 70 %, resultado superior al del concentrado de tabaco.

Cuadro 7. Mortalidad e inhibición de oviposición promedio (%) del análisis comparativo de mosca blanca, por medio de concentraciones de 0.1 % del extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas, a las 24 h.

Tratamientos (0.1%)	Mortalidad promedio (%)	Inhibición de oviposición promedio (%)
Extracto crudo de metanol	32.5±5.20 (14.0)d	-25.7±19.2 (9.7)d
Fracción de alcaloides libres	43.7±7.4 (18.8)bc	-42.8±20.5c (7.0)d
Fracción de alcaloides liberados	42.5±9.2 (16.8)bcd	-20.0±7.3 (10.1)d
β-eritrodina	56.2±7.18 (23.2)b	-28.5±17.6 (10.1)d
Erisodina	46.50±9.4 (19.5)bc	71.4±9.8 (29.5)a
Concentrado de tabaco	86.2±3.2 (30.5)a	40.0±14.2 (24.7)b
Agua con tween	5.0±2.0 (4.5)e	34.2±8.7 (24.2)b
Agua	5.0±2.0 (4.5)e	0 (16.5)c

Las letras representan diferencias entre los resultados de mortalidad e inhibición de oviposición promedio de rangos (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. Los números negativos indican incremento de oviposición.

En mortalidad el extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas tienen el mismo efecto y en inhibición de oviposición la inconsistencia del extracto continúa y aparece en fracciones, que se mantiene por medio de β-eritrodina y desaparece con erisodina. La inestabilidad del extracto, fracción de alcaloides libre y β-eritrodina, se puede relacionar con una insuficiencia de la concentración de 0.1 %, para generar la actividad de inhibición. Sin embargo, también puede ser “hormoligosis”, una estimulación de oviposición producida por estrés o cambios de comportamiento (Dittrich y Ernst, 1990; Miresmailli y Isman, 2014); y que explica porque la fracción de alcaloides liberados igualmente incremento oviposición. Del estudio comparativo si se elimina la inestabilidad de la fracción de alcaloides librados se puede pensar que erisodina es la responsable de inhibir oviposición y valdría la pena purificarla, con el propósito de aprovechar el efecto.

Al comparar el intervalo de 0.014 a 0.150 % de la fracción de alcaloides liberados, que produce 50 % de mortalidad e inhibición de oviposición, con respecto a la CL50 de insecticidas neonicotinoides, de 0.000086 a 0.0136 % (Rauch y Nauen, 2003; Ortega *et al.*, 1998), son menos

tóxicos; mediante el intervalo de productos de Nim, de 0.009 a 0.073 %, que genera en algunos casos 100 % de mortalidad y 50 % de inhibición de oviposición (Muñiz *et al.*, 2016), son inferiores o iguales; y del aceite de estructuras vegetales de *Tagetes filifolia* y principio activo *trans*-anetol, de 0.036 a 1.626 % (Camarillo *et al.*, 2009), pueden ser idénticos o mejores. También son más tóxicos que extractos a 20 % de etanol de *P. auritum* y *R. raphanistrum* que muestran mortalidad de 66 y 56 %; y tienen mejor inhibición de oviposición que extractos acuosos de *P. auritum* y *R. raphanistrum*; y de etanol de *T. officinale*, *P. auritum*, *R. raphanistrum* y *A. artemisiifolia* que la impiden, con 20 % y estimulan, mediante 6 % (Mendoza, 2010).

El efecto sobre mortalidad de alcaloides de *E. americana*, en *T. vaporariorum*, puede ser similar al de neonicotinoides, que afectan el sistema nervioso de insectos, al actuar como agonistas y antagonistas de receptores de acetil colina (Devine y Furlong, 2007), lo que daña locomoción y causa muerte (Rauch y Nauen, 2003), debido a que en ratas la administración oral de β -eritroidina y erisodina en bajas concentraciones impide consolidación de memoria de corto plazo, al actuar sobre el mismo tipo de receptores (García *et al.*, 2000b; Garín *et al.*, 2009). En relación con inhibición de oviposición, la fracción de alcaloides libres y erisodina, probablemente tengan un efecto protector similar al que impide el crecimiento de bacterias (García *et al.*, 2000a) y hongos fitopatógenos (Ibarra *et al.*, 2009).

5.3. Persistencia del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides

Resultados del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides en relación con actividad repelente, durante 15 d, se muestran en Cuadro 8. La actividad del extracto de 10 % fue 80.6 a 50.7 % y dura 3 d, después al igual que concentraciones menores mostró inconsistencia; fracción de alcaloides libres de 1 %, tuvo de 92.5 a 53.7 % y dura 5 d, y de 0.1 % fue de 79.37 a 48.1 % y puede durar 1 o 4 d, luego fue inestabilidad; y fracción de alcaloides liberados de 0.1 %, mostró de 92.5 a 68.6 % y dura 3 d, después fue inconstante.

Cuadro 8. Repelencia promedio (%) del bioensayo de persistencia, mediante concentraciones de 10 a 0.1 % del extracto crudo de metanol (Ex.), de 1 y 0.1 % de fracción de alcaloides libres (A.L.) y de 0.1 % de fracción de alcaloides liberados (A. Li.), durante 15 d.

Tratamientos	Repelencia promedio (%)														
	Planta de 1			Plantas de 3			Plantas de 6			Plantas de 9			Plantas de 12 (d) †		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3 (d)††
Ex. (10%)	80.6 (20.5)b	68.6 (25.0)a	50.7 (21.0)b	10.21 (14.2)cd	0 (15.1)c	9.9 (23.2)ab	-10.2 (14.6)d	22.4 (16.3)d	-71.6 (9.8)d	45.4 (20.6)bc	41.5 (19.2)bc	-24.1 (3.5)d	-38.1 (9.8)e	1.4 (9.2)d	31.4 (21.5)a
Ex. (1%)	3.1 (10.0)c	23.6 (12.0)c	-39.3 (8.0)cd	-16.7 (10.8)de	-76.5 (6.0)d	-22.9 (15.0)d	-59.5 (5.6)e	32.1 (19.7)bc	-88.8 (7.8)d	30.4 (12.6)d	38.4 (16.1)c	29.9 (19.2)b	11.2 (18.8)bc	25.6 (19.5)b	39.1 (23.2)a
Ex. (0.1%)	5.0 (8.2)c	16.3 (10.2)cd	-44.7 (7.6)d	-105.1 (2.5)f	-92.4 (4.0)d	-101.5 (2.7)f	11.0 (22.3)b	38.5 (20.5)bc	-15.6 (21.0)b	25.3 (11.2)d	35.2 (19.2)bc	29.4 (19.5)b	-3.7 (14.2)cd	15.9 (16.0)bc	5.0 (9.1)c
A.L. (1%)	92.5 (28.3)a	78.6 (28.5)a	74.1 (28.3)a	62.0 (28.2)a	53.7 (30.5)a	23.6 (25.7)a	30.1 (29.0)a	47.8 (24.0)a	-2.9 (21.7)ab	51.9 (24.5)a	54.5 (25.0)a	43.3 (24.8)a	25.0 (24.3)a	21.7 (17.8)b	23.6 (18.3)b
A.L. (0.1 %)	79.37 (20.7)b	47.7 (17.8)b	49.7 (20.8)b	48.1 (25.7)ab	17.7 (21.1)b	-41.2 (10.7)e	-42.6 (8.7)e	13.1 (8.6)e	-61.9 (8.6)d	45.9 (21.7)ab	43.1 (19.7)b	29.4 (19.0)b	3.7 (15.8)c	13.5 (14.6)c	20.2 (16.6)b
A.Li. (0.1 %)	92.5 (28.3)a	69.5 (25.0)a	68.6 (27.5)a	37.2 (22.7)b	17.0 (21.0)b	-9.1 (17.5)cd	6.6 (19.5)bc	45.85 (22.0)ab	-0.74 (23.3)a	41.2 (18.5)c	47.8 (22.3)ab	50.0 (26.6)a	18.1 (22.1)a	51.6 (28.1)a	29.9 (18.2)b
Agua con tween	-7.5 (7.7)c	-9.09 (7.3)de	-48.2 (7.1)d	19.7 (17.3)c	11.3 (19.7)b	-5.3 (16.5)d	-8.0 (15.1)d	28.7 (15.2)d	-91.79 (15.0)c	38.1 (20.25)b	10.9 (6.7)d	-5.8 (11.2)c	3.1 (14.3)cd	22.7 (19.1)b	23.6 (16.3)b
Agua	0 (8.0)c	0 (6.0)e	0 (11.5)c	0 (10.5)e	0 (14.5)c	0 (20.5)bc	0 (17.0)cd	0 (5.5)e	0 (24.5)a	0 (2.5)e	0 (3.5)e	0 (9.0)c	0 (12.5)de	0 (7.5)d	0 (8.5)c

Las letras representan diferencias entre los resultados de repelencia promedio de rangos (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. Los números negativos indican un incremento de insectos posados. † Grupos de plantas formados después de la aplicación de tratamientos. †† Días de toma datos agrupados en base al tiempo en que las plantas estuvieron dentro de la jaula.

La fracción de alcaloides libres es mejor que el extracto crudo de metanol y fracción de alcaloides liberados en repelencia.

En cuadro 9 se presentan resultados de inhibición de oviposición del extracto crudo de metanol y fracciones de alcaloides, durante 15 d. El extracto de 10 % mostró 97.6 %, a los 3 d, y después fue inconstante al igual que concentraciones menores; fracción de alcaloides libres de 1 %, tuvo 83.7 % y de 0.1 % fue 77.9 %, a los 3 d, y después mostraron inconsistencia; y la fracción de alcaloides libres presentó de 83.7 a 56.3 %, durante 6 d y luego fue inestable.

Cuadro 9. Inhibición de oviposición promedio (%) del bioensayo de persistencia con las concentraciones de 10 a 0.1 % del extracto crudo de metanol, de 1 y 0.1 % de la fracción de alcaloides libres y de 0.1 % de la fracción de alcaloides liberados, durante el periodo de 15 d.

Tratamientos	Inhibición de oviposición promedio (%)				
	3	6	9	12	15 (d)
Extracto crudo de metanol (10%)	97.6 (27.5)a	-73.5 (14.2)c	4.2 (24.0)b	33.8 (9.5)f	14.6 (16.2)c
Extracto crudo de matanol (1%)	-60.4 (11.5)c	-225.2 (4.0)d	-39.3 (6.5)g	89.1 (29.8)a	27.8 (19.3)b
Extracto crudo de metanol (0.1%)	5.0 (3.2)d	-195.4 (6.5)d	-44.7 (10.6)f	52.5 (12.2)ef	-47.1 (3.2)f
Fracción de alcaloides libres (1%)	83.7 (24.5)ab	-9.1 (22.2)b	-71.4 (14.5)de	76.6 (19.8)c	51.4 (24.2)a
Fracción de alcaloides libres (0.1 %)	77.9 (21.6)b	-74.7 (15.3)c	-78.5 (11.8)ef	71.2 (16.5)cd	22.6 (17.5)bc
Fracción de alcaloides liberados (0.1 %)	83.7 (23.1)b	56.3 (30.3)a	40.0 (27.5)a	86.17 (25.3)b	32.0 (18.7)bc
Agua con tween	12.7 (12.0)c	-59.7 (16.7)c	-77.14 (16.0)d	43.8 (15.1)de	45.7 (23.1)a
Agua	0 (8.5)c	0 (22.5)b	0 (20.5)c	0 (3.5)g	0 (9.5)e

Las letras representan diferencias entre los resultados de inhibición de oviposición promedio de rangos (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$). El \pm indica error estándar. Los números negativos indican un incremento de oviposición.

La fracción de alcaloides liberados es mejor en inhibición de oviposición que el extracto crudo de metanol y fracción de alcaloides libres.

Si se relacionan los resultados de repelencia e inhibición de oviposición, se puede decir que el extracto a 10 % mantiene estos efectos 3 d, y sus concentraciones menores son inestables. Fracción de alcaloides libres, conserva la primera actividad 5 d y la segunda 3 d. Lo cual,

muestra probable acción incitante. Fracción de alcaloides liberados preserva el primer efecto 3 d y el segundo 6 d. Lo que indica, posible acción disuasiva (Castillo *et al.*, 2009) y la convertiría en el mejor tratamiento. Las inconsistencias de los experimentos y que se aprecian mejor desde 6 d, puede deberse a saturación de quimi-receptores (Vázquez *et al.*, 2007) u “hormoligosis” (Dittrich y Ernst, 1990), fenómenos que generaron aumentos y descensos de insectos posados y oviposición por alteración de comportamiento.

La evaluación de sustancias y productos vegetales se realiza generalmente durante 1 o 3 d (Salazar, 2003; Mendoza; 2010; Muñiz *et al.*, 2016), por lo que, el extracto crudo de metanol de 10 %, tiene una actividad normal y las fracciones de alcaloides son más eficientes. Fracción de alcaloides libres es mejor en repelencia y fracción de alcaloides liberados en inhibición de oviposición, y su duración es similar a la de insecticidas organosintéticos en mortalidad con una duración de aproximada de 7 d (Ortega, 1998; Devine y Furlong 2007).

5.4. Relación de resultados

Rendimiento del extracto crudo de metanol fue 18.33 % (600 g), donde 0.064 % (21 g) eran alcaloides libres y 0.06 % (2 g) alcaloides liberados. La fracción de alcaloides libres presentó 0.005 % (1659 mg) de β -eritroidina y 0.0009 % (315 mg) de erisodina semi-purificadas. Resultados que se encuentran dentro de los parámetros reportados en literatura (García *et al.* 2004; Ibarra *et al.*, 2011; Salazar, 2011).

Extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas tuvieron la misma actividad en repelencia y mortalidad, a las 24 h. En inhibición de oviposición el extracto no fue bueno; fracciones de alcaloides libres mostraron inestabilidad, pero se calculó una CIO50 de 0.196 a 0.279 %; y fracción de alcaloides libres la impidió mediante intervalo de 0.071 a 0.150 %, a las 24 h. Extracto, fracciones y β -eritroidina en el estudio comparativo mostraron inconsistencia, y erisodina tuvo 70 % de inhibición de oviposición, a las 24 h. En persistencia el extracto de 10 % produjo repelencia e inhibición de oviposición por 3 d, lo que muestra que es útil; la fracción de alcaloides libres de 1 % fue más efectiva en repelencia, porque duró 5 d; y la fracción de alcaloides liberados de 0.1 % fue mejor para impedir oviposición. Lo cual indica, que es el tratamiento más sobresaliente, porque por medio de intervalo de 0.005 a 0.175 %, puede producir 50 % de repelencia y mortalidad, durante 3 d, e inhibición de oviposición de 6 d.

La actividad de repelencia de fracción de alcaloides liberados probablemente se deba a que sus componentes mayoritarios son eritroidinas, alcaloides relacionados con disminuir el comportamiento agresivo en ratas (García 2000b; Garín *et al.*, 2000). Los cuales en mosca blanca pueden alterar la conducta e impedir interacción con plantas en alimentación, pero no para oviposición. En mortalidad el extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas tuvieron el mismo efecto. Sin embargo, este puede variar, en larvas de mosquitos los alcaloides libres son más tóxicos que liberados (García *et al.*, 2004; Salazar, 2011), mientras que en nematodos y crustáceos el efecto se invierte (García *et al.*, 2000a). En inhibición de oviposición fracción de alcaloides liberados es mejor posiblemente porque erisodina es uno de los componentes mayoritarios. El cual, generó 70 % de inhibición de oviposición, y se le atribuyen propiedades que impiden el crecimiento de bacterias y hongos fitopatógenos (García *et al.*, 2000a; Ibarra *et al.*, 2009).

Inconsistencias en la investigación se pueden deber a un vínculo entre los micro-ambientes de cada experimento ligados a “hormoligosis” (Ditrich y Ernst, 1990), saturación de quimio-receptores (Vázquez *et al.*, 2007; Miresmailli y Isman, 2014) o insuficiencia de algunas concentraciones para generar el efecto. Lo que incrementó en el estudio de persistencia después de 3 d, el número de insectos posados y en general en los demás bioensayos la oviposición, a las 24 h y 3 d. Sin embargo, se debe considerar que en el ensayo de persistencia todos los tratamientos estuvieron en un mismo ambiente, por lo que, efectos se pudieron enmascarar o antagonizar.

En relación con el proceso y costo de obtener el extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas de semilla de *E. americana* (Ibarra *et al.*, 2011; San Miguel *et al.*, 2007), el extracto a 10 % puede ser la mejor opción o se pueden probar concentraciones de 10 a 1 %. Sin embargo, hay que tener en cuenta que puede incrementar oviposición, la persistencia de las sustancias es de 3 d y el tratamiento más eficiente es fracción de alcaloides liberados, porque protege de oviposición. Pese a que se obtienen pequeñas cantidades de los compuestos puros o semi-purificados, solo erisodina probablemente se pueda aislar, sintetizar y usar a futuro, por su actividad para impedir oviposición.

6. CONCLUSIONES

Fracción de alcaloides libres muestra la mejor repelencia. El extracto crudo de metanol, fracciones de alcaloides y moléculas semi-purificadas, generan la misma mortalidad. Fracción de alcaloides liberados y erisodina son más efectivas, para impedir oviposición. El relación repelencia e inhibición de oviposición el extracto y fracciones duran 3 d, y fracción de alcaloides liberados es el mejor tratamiento. La actividad del extracto y fracciones se puede usar en protección de cultivos contra mosca blanca.

7. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Bernal L., A.; Pesca A.; Rodríguez D.; Cantor F. and R. Cure J. 2008. Estandarización de un método de monitoreo directo de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) en plantas de tomate. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas* 27: 475-478.
- Bueno J.; Cardona C. y Chacón P. 2005. Fenología, distribución espacial y desarrollo de métodos de muestreo para *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en habichuela y fríjol. *Revista Colombiana de Entomología* 31: 34-42.
- Byrne, D. N. and T. S. Bellows. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36: 431-457.
- Cardona C.; Rodríguez I.; Bueno J. M. y Tapia X. 2002. Biología y manejo de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en habichuela y frijol. CIAT. Colombia. pp: 54.
- Camarillo R. G.; L. D. Ortega A.; M. A. Serrato C. y C. Rodríguez H. 2009b. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 35: 177-184.

- Carapio R. V. E. y C. Gutiérrez A. 2013. Estudio Comparativo Sobre la Morfología De *Traleurodes Vaporariorum* (Weswood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hmiptera: Aleyrodidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 29: 178-193.
- Castillo, L.; C. A. González; A. M. González; E. Díaz; P. Santos and E. Alonso. 2009. Screening of Uruguayan plants for deterrent activity against insects. *Industrial Crops and Products* 29: 235-240.
- Devine, G. J. and J. M. Furlong. 2007. Insecticide use: contexts and ecological consequences. *Agriculture and Human Values*. DOI 10.1007/s10460-007-9067-z
- Dittrich, V. S. and G. H. Ernst. 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies. Gerlin, D. *In: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercep. Great Britain. pp: 263-285.
- Fereres, A.; M. F. G. V. Peñaflor; C. F. Favaro; K. E. X. Azevedo; C. H., Landi; N. K P. Multata; J. M. S. Bento and J. R. S. Lopes. 2016. Tomato Infection by Whitefly-Transmitted Circulative and Non- Circulative Viruses Induce Contrasting Changes in Plant Volatiles and Vector Behaviour. *Viruses*. DOI: 10.3390/v8080225.
- García M. R.; R. M. Soto H. y M. Martínez. 2000a. Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*. *Ciencia Ergo Sum* 7: 166-170.
- García M. R.; M. E. Garín A.; R. M. Soto H.; M. Martínez V. 2000b. Effect of β -erythroidine and dihidro- β -erythroidine from *Erythrina americana* on rats aggressive behaviour. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters* 10: 34-37.
- García M. R.; y R. M. Soto H. 2001a. Alcaloides como una alternativa en la obtención de principios activos. *Productos Naturales, Perspectiva Biotecnológica* 6:1-9.
- García M. R.; R. M. Soto H. and H. Vibrans H. 2001b. *Erythrina Americana* Miller (“Colorín”, Fabaceae), a versatile resource from México: a review. *Economic Botany* 55: 392-400.
- García M. R.; R. Pérez P.; C. Rodríguez H. y R. M. Soto H. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Erythrina america* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27: 297-303.

- Garín, M. E.; J. E. L. Ramírez; R. M. Soto; G. Valencia del Toro and M. V. Martínez. 2000. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. On aggressive behavior in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69:189-196.
- Garín M. E.; G. Valencia del T.; S. G. Sánchez H., R. M. Soto H. y J. García A. 2001. Alcaloides de *Erythrina herbácea*. *Productos Naturales, Perspectivas Biotecnológicas* 6: 10-19.
- Garín M. E., S. López V., C. L. Martínez V., G. Valencia del T., R. M. Soto H., R. A. Prado A. 2009. Erisodina y receptores nicotínicos $\alpha_4\beta_2$ del hipocampo dorsal en la consolidación de la memoria. *Revista Latinoamericana de Química* 37: 206 -217.
- Gerling, D. 2002. Una interpretación sobre las moscas blancas. *Manejo Integrado De Plagas* 63:13-21.
- Garmendia A. M. J. 2002. Repelencia de productos de ajo sobre la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis Para Obtener El Grado de Maestro en Ciencias: Entomología y Acarología. Colegio De Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Edo. de México pp.53.
- Ibarra E.; R. Téllez M.; R. M. Soto H.; M. Martínez V.; R. García M. y R. San Miguel Ch. 2009. Actividad antimicótica *in vitro* de erisovina. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 327-330.
- Ibarra E.; M. Sánchez P.; R. García M.; R. San Miguel C.; G. Ramírez V. y R. M. Soto H. 2010. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Tesis para obtener el Grado de Maestro en Ciencias: Fisiología Vegetal. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Edo. de México pp.85.
- Ibarra E.; M. Sánchez P.; R. García M.; R. San Miguel Ch.; G. Ramírez V. y R. M. Soto H. 2011. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Erythrina americana* Miller. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34: 241-246.
- Jones, D. R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109: 195–219.
- Manzano, M. R. and J. C. van Lenteren. 2009. Life history parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) at different environmental conditions on two bean cultivars. *Neotropical Entomology* 38: 452–8.

- McKee, G. J. and F. G. Zalom. 2009. A model of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) population development and management on Camarosa variety strawberry plants. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 12: 117–122.
- Mendoza G., E. E. 2010. Toxicidad y repelencia de extractos vegetales para el control de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae). Tesis para obtener el Grado de Maestro en Ciencias: Protección y Producción Vegetal. Instituto Politécnico Nacional. Santa Cruz-Xoxocotlán Oaxaca, México. pp. 66.
- Miresmailli, S. and M. B. Isman. 2014. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science* 19: 29-35.
- Muñiz R. E.; C. A. Ramos B.; C. Rodríguez H.; y L. D. Ortega A. 2016. Actividad biológica de nim en adultos de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Aleyrodidae) West*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7: 1283-1295
- Ortega A., L. D.; A. Tejada L., J.C. Maciel R., C. Rodríguez H., R. Rosas A. y N. M. Ortega B. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Homoptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. *Agrociencia* 32: 249-254.
- Ortega, A. L. D. and D. J. Schuster 2000. Repellency to silver leaf whitefly adults. Gulf Coast Research & Education Center. University of Florida. *Bradenton, FL*. Pp 2.
- Ortega A., L. D. 2008. *In: Moscas Blancas. Temas selectos sobre su manejo.* Mundi Prensa. México, D. F. pp: 146.
- Rauch, N., and R. Nauen. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54: 165-176.
- Rendón F.; Cardona C. and Bueno J.M. 2001. Pérdidas causadas por *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) en habichuela en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 27: 39–43.
- Reimann, E. 2007. Synthesis pathways to *Erythrina* alkaloids and *Erythrina* type compounds. *In Progress in the chemistry of organic natural products; Herz, W., Falk, H., Kirby, G. W., Ed.; SpringerVerlag/Wien: Austria, 88: 1–62.*

- Salazar M. L. 2003. Repelencia y Mortalidad de Adultos de *Trialeurodes vaporariorum* (Weetwood) con cuatro extractos vegetales. Tesis para obtener el Grado de Maestro en Ciencias: Entomología y Acarología. Colegio De Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Edo. de México pp.53.
- Salazar A. S. 2011. Alcaloides de Pemoche (*Erythrina herbacea* L.) como larvicidas contra el mosquito de la Fiebre Amarilla (*Aedes aegypti* L.). Tesis para obtener el Grado de Maestro En Ciencias: Botánica. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Edo. de México pp. 69.
- Sánchez S. G., R. M. Soto H., G. Kite, y M. R. García M. 2001. Identificación de alcaloides en las inflorescencias de *Erythrina americana* Miller. Revista Chapingo Serie Horticultura 7:37-48.
- San Miguel, C. R.; R.M. Soto; A.C. Ramos; G. Kite; M. V. Martínez; M. R. García and T. S. Terrazas 2003. Production of alkaloids by *in vitro* culture of *Erythrina americana* Miller. Biotechnology Letters 25: 1055-1059.
- San Miguel, C. R.; R. M. Soto; T. S. Terrazas and G. Kite. 2006. Morphology and alkaloidal profile oh the seelings of *Erythrina americana* Mill. And *E. coralloides* A. DC. Feddes. Repertorium 117: 232-239.
- Santillán O., C. 2005. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). Tesis para obtener el Grado de Doctor en Ciencias: Entomología y Acarología. Colegio De Postgraduados, Montecillo. Texcoco, Edo. de México pp.103.
- Scotta R., R.; A. E. Sánchez D. y C. Arregui M. 2014. Determinación de las pérdidas causadas por la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) en cultivos de tomate bajo invernadero. Ciencias Agrarias 13: 55-60.
- Serrato M. A.; Reyes B.; L. D. Ortega A.; Domingo A.; Gómez N.; López F.; M. Sanchez A.; Carvajal L.; Jiménez O.; Morgado A.; Pérez E.; Quiroz J. y C. Vallejo I. 2003. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): recurso genético mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp., y *Trialeurodes* sp.). Revista del Jardín Botánico Nacional 24: 65-70.

- Silva A., A. Lagunés, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales. Una vieja nueva alternativa en el control de plagas. *Manejo Integrado de Plagas* 66: 4-12.
- Sotelo, A.; R. M. Soto; B. Lucas and F. Giral. 1993. Comparative studies of the alkaloidal composition of two Mexican species and nutritive value of detoxified seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 2340-2343.
- Suarez G., L. F.; M. A. Díaz T.; D. Rodríguez C. y F. Cantor R. 2015. Medición indirecta de la tasa de consumo de adultos e inmaduros de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre fríjol. *Acta Biológica Colombiana* 20: 99-109.
- Summers, C. G. 2002. Leaf surface selection by *Bemisia argentifolii* crawlers. *Southwest Entomologist* 27: 263-267.
- Van Lenteren, J. C. and L. P. Noldus J. J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioral and ecological aspect. Gerlin D. *In: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercept. Great Britain. pp: 47-80.
- Vázquez L., A.; P. Flores L. y D. Sobac R. 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la salud alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5: 306-313.