

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**“ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE
Tagetes filifolia LAG. EN LA MOSCA BLANCA *Trialeurodes
vaporariorum* WEST. (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)”**

GABRIELA CAMARILLO DE LA ROSA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2009

La presente tesis titulada “Actividad biológica de extractos de *Tagetes filifolia* Lag. en la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae)”, realizada por la alumna “Gabriela Camarillo de la Rosa” bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

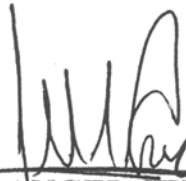
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS

ASESOR:



DR. MIGUEL ANGEL SERRATO CRUZ

ASESOR:



DR. CESÁREO RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ

Montecillo, Texcoco, Edo. de México, Octubre de 2009.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Tagetes filifolia* LAG. EN LA MOSCA
BLANCA *Trialeurodes vaporariorum* WEST. (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

Gabriela Camarillo de la Rosa, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2009

RESUMEN

Con la finalidad de proteger a los cultivos de las plagas sin provocar daño al ambiente y al humano, se ha generado la búsqueda de sustancias vegetales insecticidas y repelentes efectivos. El objetivo de este trabajo fue identificar los compuestos principales en el aceite esencial del anisillo *Tagetes filifolia* Lag. y evaluar la actividad biológica de extractos acuosos, aceites y turbios de flores, hojas, planta completa y raíz y el compuesto *trans*-anetol sobre la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae). Los compuestos se identificaron mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Se evaluó repelencia al exponer adultos a un disco foliar tratado dentro de un cilindro por 24 h; mientras que la mortalidad, inhibición del crecimiento y oviposición mediante el confinamiento de adultos en una jaula entomológica en una hoja tratada con el método de aspersión. Se identificó al *trans*-anetol (81.4-84.1 %) y alilanol (12.9-18.6 %) como compuestos principales del aceite, su variación se relacionó con la estructura de la planta. Los extractos acuosos y turbios de las diferentes estructuras de la planta no causaron efecto insecticida ni repelente significativo. En cambio, a partir de 1 mg mL⁻¹, los aceites y el *trans*-anetol causaron repelencia de adultos de más del 40 %; una mortalidad de más del 15 % y más del 50 %, respectivamente; inhibieron la oviposición más del 30 %, a partir de 10 mg mL⁻¹; interfirieron el crecimiento ninfal en más del 44 % y la emergencia de adultos en menos de 39 %; sólo el aceite foliar afectó la duración del ciclo acortándolo a 15.5 d. El *trans*-anetol tuvo mayor efecto sobre los adultos en la Concentración Letal media (6.59 mg mL⁻¹), mientras que el aceite floral en la Concentración de Repelencia media (0.004 mg mL⁻¹) a la 4ª hora. La actividad biológica de los aceites y *trans*-anetol se relacionó positivamente con la concentración. Los aceites de *T. filifolia* representan una herramienta útil en el manejo integrado de la mosca blanca.

Palabras clave: Aceites esenciales, *Tagetes*, inhibición de oviposición, mortalidad, repelencia.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Tagetes filifolia* LAG. EXTRACTS ON THE WHITEFLY
Trialeurodes vaporariorum WEST. (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

Gabriela Camarillo de la Rosa, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2009

ABSTRACT

In order to protect crops against pests avoiding damage to the environment and humans, plant substances as effective insecticides and repellents are being search. The aim of this study was to identify the main compounds in the essential oil of anisillo *Tagetes filifolia* Lag. and to evaluate the bioactivity of aqueous extracts, oils and residues (obtained by steam distillation) from flowers, leaves, whole plant and roots and *trans*-anethole on greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae). The compounds were identified using gas chromatograph coupled to mass spectrometer. Repellent effect was evaluated by exposing adults to a treated leaves disk inside a cylinder for 24 h, while toxicity, growth inhibition and oviposition inhibition in adults was evaluated by caged adults on treated leaves by the spraying method. *Trans*-anethole (81.4-84.1 %) and allylanisole (12.9-18.6 %) were the main compounds in the essential oils, their variation depend of plant structure. The aqueous extracts and residues did not cause insecticide or repellent effects. Nevertheless, from 1 mg mL⁻¹, oils and *trans*-anethole caused on adults, more than 40 % in repellency, more than 15 % in mortality, respectively, in both cases; and more than 30 % in inhibition of oviposition from 10 mg mL⁻¹; affected more than 44 % in nymphal development and in less than 39 % of adult emergence, only the foliage oil reduced the life span of *T. vaporariorum* on 15.5 d. The *trans*-anethole had the greatest effect on adult whitefly at the level of Lethal Concentration (6.59 mg mL⁻¹), while in the Repellency Concentration was the floral oil (0.004 mg mL⁻¹) at 4^a h. The biological activity of the essentials oils and *trans*-anethole was positively correlated with concentration. The oils of *T. filifolia* might represent a tool in the integrated management of whiteflies.

Key words: Essentials oils, *Tagetes*, oviposition inhibition, toxicity, repellency.

DEDICATORIA

Para:

RICARDO

y su

ABUELITA

AGRADECIMIENTOS

A Ricardo, por dar una nueva tonalidad a mi vida, gracias por hacerme sonreír, ser más feliz, responsable y sorprenderme a diario. ¡TE AMO CHIQUITIN!

A mi mejor compañera de trabajo, mami, gracias por todo el apoyo incondicional, por ser tú y por todo lo que haces por nosotros. ¡¡¡LO LOGRAMOS!!!. También te amo.

A la Dra. Laura, por todo su tiempo, por las pláticas, por sus consejos y apoyo, por su comprensión, me alegra mucho haber conocido a una mujer como usted. Gracias.

Al Dr. Serrato, le agradezco por contagiarme de buena vibra y animo, para continuar con el trabajo, por su apoyo durante la realización de la investigación.

Al Dr. Cesáreo, por su apoyo en la revisión del escrito, y hacer de esta tesis un mejor escrito.

A mis viejos amigos y a mis nuevos amigos, por darme su apoyo, por escucharme, por ayudarme cuando lo necesitaba, ustedes saben lo que siento. Gracias.

A mis compañeros del Colegio, les agradezco, porque hicieron más amena y agradable la estancia en Texcoco.

Al Ing. Saúl Barajas, por todo su apoyo durante la destilación de los aceites, gracias y mucha suerte.

Dr. Francisco Díaz del Laboratorio de Química Orgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, por su apoyo en la realización de las Cromatografías.

Al MC. Josafath Salinas, por su paciencia, tiempo y apoyo para el análisis de los resultados, y claro, por las largas sesiones.

Al Colegio de Postgraduados, y en especial al IFIT, por sus instalaciones, su personal y por el tiempo que pasé ahí.

Al CONACYT por becarme y así realizar la Maestría.

Y por su puesto a Dios por todo este tiempo de vida y todos los regalos que diario me brinda.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos particulares.....	3
3. REVISION DE LITERATURA	4
3.1. Importancia de la mosca blanca.....	4
3.2. Uso de insecticidas e insectistáticos vegetales en el combate de plagas.....	8
3.3. Importancia del género <i>Tagetes</i>	9
3.3.1. Distribución.....	9
3.3.2. Clasificación taxonómica.....	9
3.3.3. Descripción botánica.....	10
3.3.4. Antecedentes etnobotánicos.....	10
3.3.5. Composición química.....	11
3.4. Actividad biológica de <i>Tagetes</i> contra plagas insectiles.....	13
3.4.1. Insectos de importancia médica.....	13
3.4.2. Parásitos de insectos benéficos.....	14
3.4.3. Insectos de importancia agrícola.....	15
3.4.3.1. Granos almacenados.....	15
3.4.3.2. Áfidos.....	16
3.4.3.3. Mosca blanca.....	17
3.5. Modo de acción de <i>Tagetes</i> en insectos.....	17
4. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. Material biológico.....	19
4.1.1 Cría de mosca blanca.....	19
4.1.2. Siembra de frijol.....	19
4.1.3. Colecta de material vegetal.....	20

4.2. Productos evaluados.....	20
4.2.1. Extracción de aceites esenciales y obtención de turbios.....	20
4.2.2. Análisis cromatográfico de aceites esenciales.....	21
4.2.4. Extractos acuosos.....	22
4.3. Bioensayos.....	22
4.3.1. Preparación de concentraciones de prueba.....	22
4.3.2. Evaluación de repelencia de adultos.....	22
4.3.3. Evaluación de mortalidad de adultos e inhibición de oviposición.....	23
4.3.4. Evaluación de inhibición de crecimiento de ninfas de mosca blanca..	24
4.4. Diseño experimental.....	25
4.5. Análisis estadístico.....	25
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
5.1. Composición química de aceites esenciales.....	26
5.2. Repelencia de adultos de mosca blanca y CR ₅₀	29
5.3. Mortalidad y oviposición de adultos de mosca blanca.....	33
5.3.1. Mortalidad y CL ₅₀	33
5.3.2. Oviposición y CIO ₅₀	34
5.3.3. Inhibición del Crecimiento.....	36
6. CONCLUSIONES.....	41
7. LITERATURA CITADA.....	42
8. APENDICE.....	50
8.1. Bioensayo preliminar de repelencia de adultos de mosca blanca.....	50
8.2. Bioensayo preliminar de mortalidad y oviposición de adultos de mosca blanca	53

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química del <i>trans</i> -anetol (a) y alilanol (b).....	13
Figura 2. Plantas de <i>T. filifolia</i> en campo.....	20
Figura 3. Destilado de <i>T. filifolia</i> , aceite esencial (a) y turbio (b).....	21
Figura 4. Cilindro de acrílico para la evaluación de repelencia de adultos de mosca blanca	23
Figura 5. Jaula entomológica para la evaluación de mortalidad, oviposición de adultos e inhibición de crecimiento de ninfas de mosca blanca.....	24
Figura 6. Cromatograma del aceite a) floral, b) foliar y c) planta completa de <i>T. filifolia</i>	27

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Compuestos principales (%) de aceites esenciales de diferentes especies de <i>Tagetes</i>	12
Cuadro 2. Compuestos (%) y rendimiento (%) de los aceites esenciales de <i>T. filifolia</i>	28
Cuadro 3. Repelencia (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a la 4 ^a , 5 ^a , 6 ^a y 24 h postaplicación de aceites de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	30
Cuadro 4. Mortalidad (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a las 24 h postaplicación de aceites de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	33
Cuadro 5. Inhibición (%) de oviposición de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a las 24 h postaplicación de aceites de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	35
Cuadro 6. Distribución de la población de <i>T. vaporariorum</i> (%) tratada con aceites esenciales de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	37
Cuadro 7. Mortalidad (%), índice de crecimiento, duración (d) y viabilidad ninfal (%) de inmaduros de <i>T. vaporariorum</i> tratados con aceites esenciales de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	38
Cuadro 8. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a la 4 ^a , 5 ^a , 6 ^a y 24 h postaplicación de extractos acuosos de <i>T. filifolia</i>	50
Cuadro 9. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a la 4 ^a , 5 ^a , 6 ^a y 24 h postaplicación de turbios de <i>T. filifolia</i>	51
Cuadro 10. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a la 4 ^a , 5 ^a , 6 ^a y 24 h postaplicación de aceites de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	52

Cuadro 11. Mortalidad preliminar (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a las 24 h postaplicación de extractos de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	53
Cuadro 12. Oviposición preliminar (%) de adultos de mosca blanca <i>T. vaporariorum</i> a las 24 h postaplicación de extractos de <i>T. filifolia</i> y <i>trans-anetol</i>	53

1. INTRODUCCIÓN

La investigación relativa a métodos alternativos de control de insectos se ha incrementado sustancialmente en los últimos años debido a los continuos problemas asociados con el uso de insecticidas convencionales (Prabhaker *et al.*, 1985; Ortega *et al.*, 1998; Choi *et al.*, 2003), tales como el desarrollo de resistencia en los insectos, presencia de plagas secundarias, resurgencia de plagas, eliminación de fauna benéfica, y contaminación ambiental, entre otros. Esta problemática ha impulsado el uso de plantas insecticidas e insectistáticas, que permiten manejar las plagas, proteger el cultivo y por ende obtener mayor rendimiento y calidad en la producción sin poner en riesgo la salud del hombre y su entorno (Rodríguez, 2000 b).

En ese sentido, en los últimos 20 años, las plantas de la familia Asteraceae (Compositae) se han identificado como fuente promisoría de compuestos con propiedades plaguicidas y plaguistáticas (Schmutterer y Hellpap, 1988; Serrato y Quijano, 1993; Choi *et al.*, 2003), por lo que han sido objeto de estudio para investigación. Algunos miembros del género *Tagetes* han probado ser efectivos contra numerosos organismos, como bacterias (de Souza *et al.*, 2000; Eguaras *et al.*, 2005), nemátodos (Reynolds *et al.*, 2000; Ball-Coelho *et al.*, 2003), hongos y ácaros (Eguaras *et al.*, 2005), insectos como dípteros (Perich *et al.*, 1994; Nivsarkar *et al.*, 2001), piojos (Cestari *et al.*, 2004), plagas de granos almacenados (Weaver *et al.*, 1994 y 1997) y áfidos (Tomova *et al.*, 2005), entre otros. Sus propiedades biológicas se deben a que los principios activos como el *trans*-anetol, alilanisol, β -cariofileno y tagetona, por mencionar algunos, han mostrado ser tóxicos, repelentes e inhibidores de la reproducción y crecimiento en insectos (Saxena y Srivastava, 1972; Weaver *et al.*, 1997; Cestari *et al.*, 2004; Tomova *et al.*, 2005).

En particular para la mosca blanca, Cubillo *et al.* (1999) reportan que el extracto etanólico de raíz del anisillo *Tagetes filifolia* Lag. a 100 ppm inhibió en 60 % la oviposición, causó actividad repelente en 55 % y tóxica en 49 % sobre la mosca blanca del tabaco *Bemisia tabaci* (Gen.). Serrato *et al.* (2003) evaluaron la repelencia y gasto económico del aceite de *T. filifolia*, extraído por hidrodestilación, sobre *B. tabaci* y la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae); reportaron una Concentración de Repelencia media (CR₅₀) de 7.18 mg mL⁻¹ en *T. vaporariorum* y 100 % de repelencia de *B. tabaci* en campo.

Por las referencias antes citadas, se visualiza el potencial que tiene *T. filifolia*; no obstante, en esos trabajos no quedaron resueltos aspectos importantes como la composición química del aceite esencial, la posible variabilidad de éste con respecto a la parte de la planta de la cual se extrae, la actividad biológica específica del aceite esencial sobre la mosca blanca, la posible actividad de extractos acuosos, residuos de la destilación y *trans*-anetol sintético, entre otros.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de extractos de *T. filifolia* en la mosca blanca *T. vaporariorum* en ambientes controlados.

2.2. Objetivos particulares

- Identificar los principales compuestos químicos presentes en el aceite esencial de las flores, follaje y planta completa de *T. filifolia*.
- Evaluar la repelencia de adultos de *T. vaporariorum* a través del tiempo con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Determinar la Concentración de Repelencia media (CR₅₀) de adultos de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Evaluar la mortalidad de adultos de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Determinar la Concentración Letal media (CL₅₀) de adultos de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Evaluar el efecto en la oviposición de adultos de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Determinar la Inhibición de Oviposición media (IO₅₀) de adultos de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.
- Evaluar el efecto en el desarrollo ninfal de *T. vaporariorum* con los extractos acuosos, turbios y aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Importancia de la mosca blanca

La mosca blanca se conoce desde hace más de 250 años; se consideraba una plaga secundaria hasta 1981, periodo a partir del cual incrementó su población en cultivos de algodón y hortalizas, principalmente. Al principio, la aspersión oportuna de insecticidas permitía la producción agrícola sin pérdidas considerables; desafortunadamente el uso irracional y desordenado de los insecticidas, como consecuencia de la importancia que alcanzó la plaga en pocos años, lejos de solucionar el problema lo agravó, debido a que adquirió resistencia a los productos empleados para su combate (Bethke *et al.*, 1991).

En México, las especies *B. tabaci*, *Bemisia argentifolii* y *T. vaporariorum*, se consideran las de mayor importancia, aunque es común encontrar varias especies en un sólo cultivo (Ortega, 2008 b).

Los adultos de mosca blanca son de color amarillo, secretan una cera polvorienta que les cubre el cuerpo, dándoles una coloración blanca. Su ciclo de vida consta de huevo, cuatro instares ninfales (el primero es móvil y el cuarto se le conoce como pupa) y adulto; todos los estados se encuentran en el envés de las hojas de sus hospedantes. Las ninfas y los adultos causan daño directo por la succión de nutrimentos de los vegetales, principalmente aminoácidos y azúcares de transporte. Esta actividad ocasiona el amarillamiento de las plantas, las cuales detienen su crecimiento e incluso pueden llegar a morir cuando la población del insecto es muy alta (Ortega, 2001). Otro daño causado por la mosca blanca es la secreción de mielecilla (producto de su metabolismo) que favorece el desarrollo de fumagina (*Capnodium* sp.) (Byrne y Bellows, 1991), que de ser abundante, interfiere en la fotosíntesis de la planta, con la consecuente reducción de su vigor. Sin embargo, el daño más importante de la mosca es cuando actúa como vector de virus causantes de severas epidemias, que puede ser motivo de pérdida total del cultivo atacado; tal es el caso de la transmisión de geminivirus, carlavirus, closteovirus y potyvirus. Ortega (2008 a) menciona que en México, entre los virus más comunes en las solanáceas se encuentra el virus chino del tomate (con sus siglas en inglés TLCV), el virus moteado del tomate (ToMoV), el virus

del chile jalapeño (PJV), el virus dorado del pimentón serrano (PSGMV), y el virus rugoso de la hoja de tomate (TLCrV); en cucurbitáceas, el virus de enrollamiento de las hojas de las cucurbitáceas (CuLCV), y el virus del amarillamiento y achaparramiento de las cucurbitáceas (CYSDV).

Los adultos realizan migraciones debido al deterioro del ambiente, buscan nuevas y mejores condiciones para alimentación y oviposición. Sus movimientos generalmente son a corta distancia, cerca del nivel del suelo, pero llegan a viajar varios kilómetros a alturas de hasta 150 m arriba de la vegetación, con ayuda de las corrientes del viento o por acción del hombre (Byrne y Bellows, 1991).

Estos insectos son difíciles de combatir debido a su facilidad para desarrollar resistencia a insecticidas por la presión ejercida con el uso continuo e inadecuado de dichos productos (Prabhaker *et al.*, 1985). Por lo que, en condiciones de presión por la aplicación de productos químicos, tienen la habilidad de lograr descendencia viable y reproductivamente eficaz; esta respuesta ha sido documentada como el fenómeno de hormoligosis, en el cual las poblaciones de *B. tabaci* resistentes a ciertos insecticidas tienen la capacidad de aumentar su tasa de oviposición, cuando éstas se someten a estrés de insecticidas (Dittrich *et al.*, 1990).

Además de la capacidad de desarrollar resistencia a insecticidas convencionales, los adultos de mosca blanca tiene características biológicas y de comportamiento que les permiten tener éxito al sobrevivir en diversos ambientes. Cuando aterrizan en la superficie de la hoja, empiezan a caminar hasta el borde y se dirigen hacia el lado inferior de la misma, donde inician la prueba de la planta; este comportamiento no es sólo en respuesta a la gravedad sino aparentemente a la intensidad de la luz (Van Lenteren y Noldus, 1990). Los adultos y las ninfas móviles tienen fototaxismo positivo, al situarse en el lado abaxial de las hojas para alimentación, refugio y oviposición (Summers, 2002). Otra ventaja que tienen al permanecer en el envés de las hojas es la protección a condiciones secas, ya que la planta, al evaporar agua, logra reducir la temperatura ambiental en su entorno (Gerling, 2002). Esta misma protección ocurre durante las aplicaciones foliares de productos insecticidas, ya que los adultos y ninfas evitan el contacto con el producto y así sobreviven a las aplicaciones.

Para protegerse, los adultos emergen en forma sincronizada y exitosa en las primeras horas de la mañana, cuando la humedad relativa del ambiente es alta y la temperatura baja; estas condiciones les permiten extender y secar sus alas de forma óptima e iniciar la cópula (Hoffman y Byrne, 1986).

Cuando las poblaciones crecen, la mosca blanca puede utilizar plantas alternas que en condiciones de población baja no son consideradas como sus hospederas (Byrne y Bellows, 1991). El proceso de selección de la hospedera, tanto para la alimentación como para la oviposición, es mediado por estímulos visuales, gustativos y olfatorios (Van Lenteren y Noldus, 1990; Gerling, 2002). En primera instancia identifican al posible hospedero por medio del color (longitudes de onda de 400-550 nm), posteriormente aterrizan y con ayuda de las sensilas químico y mecanorreceptoras presentes en el labio, empiezan el proceso de prueba de la planta cuando insertan su estilete (Byrne y Bellows, 1991). La mosca blanca es capaz de detectar la calidad nutritiva de la planta y decidir si es el hospedero adecuado para mantener su descendencia (Van Lenteren y Noldus, 1990). Para utilizar los recursos nutritivos de las plantas que no son sus hospederas, la mosca blanca tiene la facultad de cambiar sus rutas metabólicas utilizando diferentes enzimas (Gerling, 2002).

Durante la época seca, puede alcanzar poblaciones desmesuradas, que no pueden controlarse con la aplicación de insecticidas. Esta característica se asocia con la gran capacidad que tienen para adaptarse a climas desérticos donde las temperaturas del verano pueden exceder los 40 °C. En respuesta al estrés térmico, sintetizan proteínas de choque térmico por la conversión de fructosa vía una cetosa reductasa; como el sorbitol (alcohol polihídrico) que a menudo aumentan sus niveles de 10 a 12 veces a las 3 h de exposición al estrés térmico (Wolfe *et al.*, 1997). Otra opción para lograr ajustarse al calor incluye la permanencia en el envés de la hoja (May, 1985; Prange, 1996; Gerling, 2002).

La mosca blanca se alimenta del floema de las plantas, y se asocian con endosimbiontes que les ayudan a cubrir sus carencias nutrimentales y las facultan para colonizar plantas herbáceas en diferentes hábitats. Los endosimbiontes son esenciales para la supervivencia y reproducción del

hospedero, están confinados en células especializadas llamadas bacteriocitos y éstos a su vez, se alojan en órganos especializados llamados bacteriosomas. Estas bacterias son transmitidas a la progenie cuando los bacteriocitos migran a los ovarios y penetran a los huevos. Los endosimbiontes más frecuentemente asociados a la mosca blanca, son del género *Wolbachia* (Rickettsiales) y participan en la síntesis de todos o algunos de los aminoácidos esenciales como triptófano, lípidos como esteroides, pigmentos, antibióticos, vitaminas y carboxilesterasas (Zchori-Fein y Brown, 2002; Baumann, 2005; Gottlieb *et al.*, 2006). Debido a que los simbiosiontes participan en el desarrollo y reproducción, estas bacterias son consideradas como blanco para el control de ésta (Costa *et al.*, 1997).

Ortega (2008 b), menciona que la forma más común para controlar a la mosca blanca ha sido mediante insecticidas; sin embargo, no se ha logrado el éxito esperado debido a que: a) son pequeñas y con facilidad se dispersan a grandes distancias y extensiones, b) varias especies han adquirido resistencia a insecticidas empleados, c) la transmisión de los patógenos con frecuencia ocurre antes que el insecto muera y d) muchas de las epidemias donde interviene la mosca blanca son causadas por patógenos que son transitorios en el cultivo afectado.

En México, el control legal de la mosca blanca está regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, en la cual se utilizan medidas fitosanitarias que permitan la prevención, control o posible erradicación de *B. argentifolii*, *B. tabaci*, *T. vaporariorum*, *Trialeurodes abutilonea*, *Tetraleurodes ursorum* y *Aleurothrixus floccosus*, con el manejo y eliminación de focos de infestación, establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos (SAGARPA, 2002)

El manejo de la mosca blanca es complejo y debe enmarcarse dentro de un manejo integrado, en dicho contexto, las estrategias deben basarse en acciones de interferencia, distracción, repelencia y supresión de los insectos; como por ejemplo, la protección del semillero, manejo de fechas de siembra, selección de variedades tolerantes, eliminación de plantas enfermas, rotación de cultivos, uso de trampas amarillas, establecimiento de barreras vivas, cubiertas flotantes y acolchados, introducción y manipulación de enemigos naturales (parasitoides, depredadores y

patógenos), el uso de jabones y aceites, resistencia vegetal, insecticidas e insectistáticos vegetales y el uso de insecticidas químicos (Ortega, 2008b).

3.2. Uso de insecticidas e insectistáticos vegetales en el combate de plagas

El uso de sustancias vegetales y sus derivados como método de control de plagas se ha utilizado desde épocas antiguas; este conocimiento empírico se ha retomado para combatir insectos difíciles de manejar por el uso inadecuado de insecticidas convencionales. Los productos vegetales con acción fitosanitaria se han utilizado desde los chinos, griegos y romanos; como polvos a partir de *Veratrum* sp., extractos de tejo *Taxus baccata*, nim *Azadirachta indica*. Durante el siglo XVII, los naturalistas de la época plantearon las bases de la fitoprotección, al integrar tóxicos vegetales, aceites, caldos, entre otros, para la lucha física contra enfermedades e insectos perjudiciales. El siglo XIX se caracterizó por el uso de aceites y moléculas obtenidas de plantas: alcaloides como la nicotina extraída del tabaco *Nicotiana tabacum*; la anabasina *Anabasis aphylla*; la nornicotina *Duboisia howoodi*; la veratrina *Veratrum album*; la rianodina *Ryania speciosa*. Otras moléculas como la rotenona, piretrinas y los aceites vegetales también se utilizaron como emulsiones.

Después de la segunda guerra mundial (1940), el combate de plagas se caracterizó por el descubrimiento y posteriormente el desarrollo de insecticidas orgánicos de síntesis química, como los organoclorados, organofosforados y carbamatos, que sustituyeron a la nicotina y piretrinas. Los problemas ocasionados por el uso de estos insecticidas fueron eminentes. Una nueva etapa se sustentó con investigación más detallada acerca de la relación insecto-planta, con plantas y compuestos bioactivos cuyo potencial fue evaluado por medio de bioensayos, como ejemplo surgió la síntesis de los piretroides a partir del piretro, la extracción de moléculas con múltiples modos de acción del nim y la elaboración de productos comerciales a partir de esta planta (Rodríguez, 2000b; Philogéne *et al.*, 2004).

El uso de las plantas y sus derivados como alternativas al uso de insecticidas convencionales trae ventajas; son fuente natural de diversos químicos bioactivos y a menudo se degradan rápidamente, tienen amplio espectro de actividad contra varias especies de plagas de cultivos de

importancia económica, y tienen diferentes modos de acción: fumigante, inhibición de la reproducción, efecto tóxico de contacto, disuasivos de la alimentación, inhibición de crecimiento y fecundidad (Chiasson *et al.*, 2004), repelente y son de baja toxicidad en organismos no blanco (Lui y Stansly, 1995), al medio ambiente y al humano (Gioanetto y Cerna, 2000).

Numerosas especies vegetales han sido evaluadas y tienen un gran potencial en el control de diversos insectos plaga, como es el caso del ajo *Allium sativum*, anona *Annona* sp., nim *A. indica*, chile *Capsicum* spp., tabaco *N. tabacum* (Rodríguez, 2000b); higuierilla *Ricinus communis*, epazote *Telexys ambrosioides* (Rodríguez, 2000a), chicalote *Argemone mexicana*, jengibre *Zingiber cassumunar*, helecho *Cyathea medullaris*, mastuerzo *Tropaelum majus*, quelites *Chenopodium* sp. y cempasúchil *Tagetes* sp. (Gioanetto y Cerna, 2000), entre otros. Su actividad biológica se debe a la presencia de compuestos activos característicos de cada especie vegetal y las proporciones que se mantienen durante la fenología de la planta.

3.3. Importancia del género *Tagetes*

3.3.1. Distribución

El género *Tagetes* es nativo de América, las especies silvestres ocurren desde Arizona y Nuevo México, suroeste de Estados Unidos a través de América Central hasta Argentina (Calderón y Rzedowski, 2001). En México se encuentra alrededor del 50 % de las especies de este género (Turner, 1996).

3.3.2. Clasificación taxonómica

De acuerdo con Neher (1965), el género *Tagetes* pertenece a la familia Compositae, subfamilia Asteraceae, tribu Helianthae y subtribu Tagetininae; en este género se reconocen los subgéneros *Lucida* y *Tagetes*. Este género cuenta con 56 especies, que incluyen plantas perennes y anuales (Soule, 1996); son conocidas como cempasuchitl o caléndulas.

3.3.3. Descripción botánica

Plantas herbáceas anuales o perennes, aromáticas al estrujarse; con hojas todas opuestas, por lo común pinnadas, con numerosas glándulas oleíferas translúcidas; cabezuelas solitarias o más o menos cimoso-corimbosas, involucreo cilíndrico, fusiforme o angostamente campanulado, sus brácteas de tamaño subigual, unidas entre sí hasta cerca del ápice y provistas de dos hileras de glándulas oleíferas; receptáculo plano o convexo, desnudo; flores liguladas generalmente presentes, fértiles, sus corolas amarillas, anaranjadas, rojizas o blancas; flores hermafroditas, corola con garganta infundibuliforme, anteras con las bases obtusas, ramas del estilo truncadas y peniciliadas en el ápice con anexos cónicos cortos; aquenios lineares o claviformes, vilano de tres a 10 escamas desiguales lineares, a veces más o menos unidas entre sí (Calderón y Rzedowski, 2001).

En particular, a *T. filifolia* se le conoce como “anisillo” o “encaje irlandés” (Soule, 1996). Es una planta anual, erecta, hasta de 45 cm de alto, con olor a anís al estrujarse; tallos generalmente muy ramificados, estriados, glabros o finamente puberulentos; hojas hasta de 3 cm de largo, pinnadas o bipinadas divididas en segmentos linear-filiformes, comúnmente más de 7 por hoja y hasta de 12 mm de largo, glabros o puberulentos; cabezuelas con frecuencia numerosas, sobre pedúnculos de 5 a 20 mm de largo; involucreo fusiforme o a veces cilíndrico, de 6 a 9 mm de largo, con 5 brácteas, con el ápice truncado y apiculado; flores liguladas 0 a 3, generalmente blancas, sus láminas elípticas, de 1 a 1.5 mm de largo. Se le puede encontrar en altitudes de 1250 a 2300 m; en lugares con suelo húmedo, orillas de campos cultivados. Conocida desde Baja California y Sonora a San Luis Potosí y hacia el sur, hasta el norte de Argentina (Calderón y Rzedowski, 2001).

3.3.4. Antecedentes etnobotánicos

Su cultivo y uso se remonta a épocas prehispánicas, principalmente en México, su centro de origen. Debido a su olor característico, las plantas de algunas especies se utilizaron en rituales como la ceremonia de Día de Muertos. Le atribuían propiedades medicinales para combatir enfermedades asociadas con el sistema digestivo, respiratorio y otras partes del cuerpo humano,

las cuales eran aliviadas con infusiones y tés de diferentes especies de *Tagetes*. También se empleó como componente de bebidas, condimentos y como planta ornamental (Neher, 1968; Pulido, 1993; Soule, 1993; Marotti *et al.*, 2004). Actualmente, son materia prima de productos para consumo humano (Singh *et al.*, 2003). En el ramo de la perfumería se extraen fragancias a partir del aceite esencial de las semillas (Serrato y Quijano, 1993; Marotti *et al.*, 2004), además de ser componente de alimentos para pollos de engorda (Martínez *et al.*, 2004).

Sus propiedades biológicas afectan diversos organismos, desde bacterias (Gram positivas y negativas), virus, hongos, nematodos, ácaros e insectos, inclusive otras especies de plantas (Serrato y Quijano, 1993). Se les atribuyen propiedades repelentes (Neher, 1968) y tóxicas para artrópodos, nematodos e inhibitorias para bacterias y hongos. Por lo que el gran espectro de acción biológica de este género brinda una alternativa para el control de diversas plagas de forma segura y efectiva.

3.3.5. Composición química

La composición química del género *Tagetes* es diversa entre las especies. Algunos de los compuestos encontrados en los aceites esenciales pertenecen a los grupos de carbohidratos, alcoholes, éteres, aldehídos, cetonas, ésteres, carotenoides, flavonoides y tiofenos, entre otros (Zygadlo *et al.*, 1993; Marotti *et al.*, 2004). En el Cuadro 1, se muestran los principales compuestos identificados (en porcentaje) de diferentes especies de *Tagetes*. La caracterización de aceites esenciales de las mismas especies, en los cuales las proporciones y compuestos son diferentes entre sí; se ha documentado, y se atribuye a los factores externos y genética de las plantas, además del método de obtención del aceite que también influye en el producto final.

Cuadro 1. Compuestos principales (%) de aceites esenciales de diferentes especies de *Tagetes*.

Compuesto / Planta	<i>Tagetes aff. maxima</i>	<i>Tagetes erecta</i> Hoja Flor	<i>T. filifolia</i> Flor	<i>Tagetes laxa</i> Flor	<i>Tagetes lucida</i> Hoja Flor	<i>Tagetes minuta</i> Hoja Flor Fruto	<i>Tagetes multiflora</i>	<i>Tagetes patula</i> Hoja Flor	<i>Tagetes tenuifolia</i> Hoja Flor
β -cariofileno					2.1	9.4		18.2	
Dihidrotagetona	26.7		1			61.1			12.6
Dihidrotagetona + (E)- β -ocimeno									20.2
(E)-anetol			67			15.5			
(E)-tagetona						9	58		9.8
(E)-tagetonona	22.4			33.2			17.2		41.6
Limoneno		7.6				8.8		13.4	24.7
Metil chavicol *			30.3		93.8				
Metil eugenol						3.6			
Piperitenona		11							
Piperitona		52.4	28.5					22.6	14.6
Terpinoleno		11.2							
(Z)- β -ocimeno				15.8		36.8	12.8		15
(Z)-tagetona	31.2					17.1	47.3		17
(Z)-tagetonona				27.1					
Referencia	Pichette <i>et al.</i> , 2005	Krishna <i>et al.</i> , 2004	Zygodlo <i>et al.</i> , 1993	Zygodlo <i>et al.</i> , 1993	Marotti <i>et al.</i> , 2004	Kaul <i>et al.</i> , 2005	Pichette <i>et al.</i> , 2005	Marotti <i>et al.</i> , 2004	Marotti <i>et al.</i> , 2004

* aliamisol y estrangol.

La variabilidad en la composición de los aceites esenciales y su diversidad química es genéticamente determinada y estrictamente relacionada con las especies. El contenido y cantidad de compuestos en los aceites esenciales de *Tagetes* depende del lugar y sitio de crecimiento de la planta, de la etapa fenológica, de la parte de la cual se extrae el aceite, la composición del suelo y la fertilización mineral, entre otros, por lo que es común encontrar diferencias en el contenido del aceite entre las plantas de la misma especie (Marotti *et al.*, 2004).

Serrato *et al.* (2008) determinaron la composición química del aceite esencial de *T. filifolia* en floración de 78 colectas de la región Centro-Sur de México, y encontraron que el 4-alilanol y *trans*-anetol (Figura 1), son los principales compuestos del aceite, con variaciones considerables; el 1.3 % de las recolectas contuvieron sólo anetol, el 7.7 % sólo alilanol y el 91 % de recolectas presentaron una mezcla de ambos compuestos. Esta mezcla de compuestos ya se había identificado en el aceite de *T. filifolia*, junto con otro en menor proporción (anetol a 67 %, alilanol a 30.2 % y la hidrotagetonona al 1 %) (Zygadlo *et al.*, 1993).



Figura 1. Estructura química del *trans*-anetol (a) y alilanol (b).

3.4. Actividad biológica de *Tagetes* contra plagas insectiles

3.4.1. Insectos de importancia médica

El uso de plantas del género *Tagetes* se ha extendido para controlar vectores de agentes causales de enfermedades en humanos, tanto en etapas larvales como adultos de insectos. Perich *et al.* (1994) evaluaron extractos, con cloruro de metilo como solvente orgánico, de flores, hojas, raíz y planta completa de las especies *T. minuta*, *T. erecta* y *T. patula*, sobre larvas y adultos de los mosquitos *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi*. Encontraron que la composición química de los extractos varió entre las especies y que el extracto floral de *T. minuta* fue el más tóxico y la DL₉₀ estimada fue de 4-8 ppm para larvas y de 0.40-0.45 % para adultos, respectivamente, para las dos especies. Además, observaron que los machos fueron más susceptibles a los compuestos

de *T. minuta* que las hembras y no encontraron especificidad de los aceites con las diferentes especies de mosquitos evaluadas. El efecto tóxico observado en larvas se debe posiblemente a una interrupción osmótica y alteración de la regulación iónica que se manifestó en la hinchazón de las papilas anales de ambas especies. Los autores concluyen que el extracto floral de *T. minuta* ofrece una alternativa para ser desarrollada como un nuevo insecticida biorracional en países en desarrollo.

Por otro lado, Cestari *et al.* (2004) evaluaron la actividad insecticida del aceite de *T. minuta* para controlar el piojo de cabeza *Pediculus humanis capitis*. Utilizaron 100 ppm de aceite esencial para determinar la toxicidad y su efecto histopatológico. El valor del TL₅₀ fue de 16.4 ± 1.62 min y hubo un desensamble de los filamentos de miosina y actina presentes en los músculos de los piojos tratados al compararse con los testigos. La toxicidad la atribuyen al efecto del aceite en la bicapa lipídica que permitió una elevada fluidez y permeabilidad de las células musculares, esto causó disminución en la movilidad de las patas y antenas, posteriormente sobrevino la muerte. Con este trabajo los autores incrementaron el rango de insectos plaga que podrían ser controlados con los extractos de las especies de *Tagetes*.

3.4.2. Parásitos de insectos benéficos

Los aceites no sólo se han evaluado para controlar insectos plaga de cultivos sino también para la protección de insectos de importancia económica, como es el caso de los parásitos de las abejas, como lo demostraron Eguaras *et al.* (2005) al evaluar *in vitro* la acción del aceite esencial de *T. minuta* en *Ascosphaera apis*, *Paenibacillus larvae* y *Varroa destructor*. Para el caso de los ácaros (*V. destructor*), el valor de la CL₅₀ estimada fue de 4.37 mg por jaula. La respuesta fue similar con las concentraciones evaluadas (3, 4 y 5 %) pero diferente respecto al testigo. No se observó efecto tóxico en las abejas, inclusive al aplicar concentraciones de 5 %, ya que la proporción de selección fue de 3:1, con lo que se podrían incrementar las dosis para combatir al ácaro y no cuasar daño a las abejas. La concentración mínima inhibitoria en la bacteria (*A. apis*) fue de 700-800 $\mu\text{L L}^{-1}$; mientras que para el hongo (*P. larvae*), 200 ppm de aceite fueron suficientes para causar inhibición leve; a 700-800 ppm se inhibió en 67 % el crecimiento, pero éste fue reversible, por lo que se requirieron concentraciones superiores a 800

ppm para detener el crecimiento. Por tanto, el aceite de *T. minuta* mostró efecto moderado en la inhibición del crecimiento de *P. larvae* y *A. apis* y alta efectividad para el combate de la varroa, por lo que consideran que el aceite puede emplearse junto con otras estrategias en un manejo integrado de plagas de las abejas.

3.4.3. Insectos de importancia agrícola

La agricultura en México y alrededor del mundo, provee la base de la alimentación, por lo que su protección contra plagas es de gran importancia. El empleo de insecticidas ha sido el método de control más empleado para la variedad amplia de insectos plaga.

3.4.3.1. Granos almacenados

Los extractos con cloruro de metilo de *T. minuta* de la parte floral, foliar y de raíz, fueron evaluados por Weaver *et al.* (1994) contra adultos machos y hembras de gorgojos *Zabrotes subfasciatus*. Encontraron que el extracto floral y foliar tuvieron un efecto más rápido que el de raíz, debido a la presencia de compuestos volátiles con acción fumigante. Lo anterior se evidenció en los valores de Tiempo Letal medio (TL₅₀), que para el extracto floral fue de 4.75 y 9.87 min, para machos y hembras, y para el extracto de raíz de 20.4 min en machos; los machos fueron más susceptibles que las hembras al tener una CL₅₀ a las 24 h de 138 µg cm⁻², mientras que en las hembras fue de 803 µg cm⁻² a las 48 h de exposición. Los valores más bajos a nivel de la CL₅₀ se obtuvieron con los extractos de raíz a las 24 h. Los autores atribuyen este comportamiento a la acumulación de compuestos fotoactivos como el α-tertienil, el cual requiere acumularse en dosis suficiente para que la luz actúe y cause mortalidad. Sin embargo, los resultados muestran que a las 48 h ya no hubo actividad de estos compuestos, en comparación con los extractos florales y foliares. Concluyen que los extractos florales y foliares de *T. minuta* pueden emplearse como insecticidas para controlar plagas de productos almacenados, especialmente el floral, que resultó ser tres veces más potente que el foliar.

Con la misma línea de investigación, Weaver *et al.* (1997) evaluaron la toxicidad del aceite floral de *T. minuta* (extracto crudo) y de sus fracciones (aceite en diferentes condiciones:

exposición al aire, luz y oscuridad) aplicados en el tórax de adultos hembras y machos del gorgojo *Sitophilus zeamais*. Las CL₅₀ y CL₉₀ fueron de 35-47 y 319-816 µg por gorgojo, respectivamente, en ambos sexos y en condiciones de luz. Concluyeron que el extracto crudo es moderadamente más tóxico que las fracciones; éstas últimas en el proceso de fracción reducen la cantidad de compuestos biológicamente activos, de ahí la diferencia en actividad con respecto al crudo. Los autores no encontraron diferencias en la actividad de las fracciones en presencia y ausencia de iluminación, aún con la presencia de compuestos fotoactivos como los tiofenos. Tampoco detectaron diferencias en susceptibilidad entre machos y hembras. Sugieren que el uso de los extractos crudos para el control a corto plazo de estos insectos por los agricultores de subsistencia, es prometedor.

3.4.3.2. Áfidos

Tomova *et al.* (2005) investigaron la actividad fumigante de volátiles del aceite esencial de *T. minuta*, fracciones del mismo y algunos compuestos comerciales presentes en el aceite y su efecto en la reproducción de los pulgones *Acyrtosiphon pisum*, *Aulacorthum solani* y *Myzus persicae*. Encontraron que las fracciones con mayor punto de ebullición (fracción 1) fueron menos activas en disminuir la progenie, por lo que aquéllas con menor punto de ebullición (fracciones 2 y 3) tuvieron una actividad similar al del aceite esencial, al igual que el residuo obtenido durante el proceso de destilación. Para el caso de los compuestos puros, el β-cariofileno tuvo mayor efecto, incluso superior al del aceite, por disminuir totalmente el número de pulgones en el cuarto día. Los autores atribuyen el efecto tóxico de las fracciones 2 y 3, del aceite esencial y del residuo, a la presencia de monoterpenos oxigenados. También comentan que los sesquiterpenos fueron más activos que los monoterpenos, razón por la cual el β-cariofileno fue el más efectivo para disminuir la población de pulgones. Concluyen que los volátiles del aceite esencial de *T. minuta* tienen un uso potencial como una alternativa a tradicionales aficidas en invernaderos.

3.4.3.3. Mosca blanca

La mosca blanca actúa como vector de fitopatógenos causantes de enfermedades, por lo que se buscan otros efectos además de la toxicidad para evitar que el insecto se acerque a la planta (repelencia) y se evite la inoculación y la propagación de la enfermedad. Cubillo *et al.* (1999) evaluaron la repelencia, oviposición y mortalidad de *B. tabaci*, con insecticidas comerciales y extractos vegetales. Reportaron que el extracto etanólico de raíz del anisillo a 100 ppm inhibió la oviposición en 60 % a las 48 h postratamiento, mostró actividad repelente de 55 % a las 24 h y tóxica con 49 % a las 48 h. El extracto de anisillo fue el más efectivo de los extractos evaluados, pero al compararse con el endosulfán el efecto de éste último duplicó al de *T. filifolia*.

Por otro lado, Serrato *et al.* (2003) evaluaron este efecto del aceite de *T. filifolia* en el control de *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, reportaron una CR_{50} de 6.5 a 8.8 mg mL⁻¹, además de que a 3.5 mg mL⁻¹ observaron mortalidad y repelencia del 100 % en adultos de mosca blanca a las 24 h postratamiento. Para el caso del rendimiento y gasto económico del uso del aceite, mencionan que a 64 plantas por m² permite mayor producción de biomasa por planta, lo que equivale a 160 L de aceite por ha de planta, con un rendimiento de aceite de 1.6 mL por 100 g de planta, aunado a este rendimiento el costo para el mantenimiento y obtención del aceite fue significativamente menor al costo de la inversión con un insecticida químico comercial. Los autores concluyen que el aceite de *T. filifolia* es una opción ecológica y económica para controlar plagas

3.5. Modo de acción de extractos de *Tagetes* en insectos

Los bioensayos realizados con diferentes insectos y especies de *Tagetes* evidencian un gran potencial de los derivados de estas plantas y que son considerados como alternativas al uso de insecticidas convencionales, principalmente en países en desarrollo. Sin embargo, aún falta investigación que permita vislumbrar el modo en que actúan los diferentes productos elaborados de plantas en los organismos blanco e insectos plaga.

La escasa información de que se dispone fue obtenida por Perich *et al.* (1994), al evaluar extractos de diferentes partes de la planta y especies de *Tagetes* en larvas y adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi*. Los autores observaron que los adultos mostraron síntomas típicos de envenenamiento en el sistema nervioso. El mosquito expuesto exhibió excitación inicial, seguida por parálisis y finalmente la muerte. Mencionan que los síntomas son similares a los efectos provocados por las piretrinas, pero se sabe que los aceites esenciales de *Tagetes* no contienen moléculas de piretrinas, y sí moléculas semejantes como los ésteres monoterpénicos (tiofenos), que posiblemente fueron los causantes de este efecto.

Otros investigadores como Saxena y Srivastava (1972) encontraron que al exponer diferentes fases de desarrollo de *Aedes aegypti*, *Dysdercus koenigii* y *Musca domestica* al aceite esencial de *T. minuta*, éstos exhibieron cambios repentinos en la muda, infiriendo que el modo de acción era análogo al de la hormona juvenil. Al exponer ninfas de quinto ínstar de *D. koenigii* a una concentración de 0.08 μL de aceite esencial y compuestos del aceite, el 64 % mudaron a sexto ínstar. Mencionan que existe una relación directa entre concentración y efecto, aunque la mortalidad incrementó durante la muda. Concluyen que los aceites no exhiben propiedades quimioesterilizantes en el insecto, pero a la concentración de 0.04 μL hubo 30 % de adultoides, y las chinches que emergieron de huevos puestos por adultos tratados con aceite, no sobrevivieron 24 h después de la primera muda. El efecto como análogo de la hormona juvenil, lo atribuyeron a la presencia de la tagetona presente en el aceite esencial de esta planta.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó de Noviembre de 2006 a Junio de 2007 en el invernadero y laboratorio del área de Insectos Vectores del Programa en Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México.

4. 1. Material biológico

4.1.1. Cría de mosca blanca

La cría masiva de la mosca blanca *T. vaporariorum*, se estableció con ~2,500 adultos obtenidos de una colonia mantenida durante un año sin exposición a insecticidas. Los adultos se introdujeron en jaulas entomológicas (60 x 40 x 60 cm) cubiertas por tela tricot en cuyo interior se colocaron plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* L. variedad Bayomex de seis semanas de edad, en macetas de plástico que contenían una mezcla de suelo esterilizado y vermiculita 9:1 (v/v) como medio de soporte. Los adultos se mantuvieron sobre las plantas durante una semana para que ovipositaran, se sacudieron las plantas y luego se retiraron con un aspirador (que consistió en una pipeta Pasteur sin punta, acoplada a una manguera de látex). Las plantas infestadas se trasladaron a otra jaula para esperar la emergencia de nuevos adultos. Este proceso se realizó en forma periódica para tener material biológico durante el experimento. La colonia se mantuvo en condiciones de invernadero con temperatura de 25 ± 5 °C y fotoperiodo de 12 h.

4.1.2. Siembra de frijol

Las plantas de frijol *P. vulgaris* variedad Bayomex se sembraron en vasos térmicos de 750 mL de capacidad con suelo esterilizado y vermiculita 9:1 (v/v) como sustrato. Se mantuvieron en jaulas por 15 a 20 d de edad después de la germinación, posteriormente se utilizaron en los bioensayos. Para la evaluación de mortalidad en ninfas, las plantas de frijol utilizadas tenían aproximadamente un mes de edad, hasta que desarrollaron las primeras hojas verdaderas.

4.1.3. Colecta de material vegetal

La colecta de plantas silvestres de *T. filifolia* (Figura 2) se realizó el 28 de septiembre de 2006 en la localidad de Tlalámac, municipio de Atlautla, Estado de México, en las coordenadas 19° 05' N; 98° 49' O, a un altitud de 1780 m, con clima transicional (A) Cb' (w_2) y suelo aluvial. El material colectado se transportó en costales al laboratorio en donde se separaron por estructuras para su posterior destilación en fresco y en seco. La identificación de la especie, la efectuó el M. C. Ricardo Vega Muñoz, Curador del Herbario del Colegio de Postgraduados, con la comparación del material colectado con especímenes existentes en el herbario y la descripción de la especie de Calderón y Rzedowski (2001).



Figura 2. Plantas de *T. filifolia* en campo.

4.2. Productos evaluados

4.2.1. Extracción de aceites esenciales y obtención de turbios

Una porción del material fresco colectado ~30 Kg, se separó por partes (floral, foliar y planta completa) y se cortó en trozos ~2.5 cm, posteriormente se colocó en un matraz de bola de 20 L de capacidad con 6 L de agua destilada caliente. El matraz se puso en una fuente de poder que generó el suficiente calor y así permitió la hidrodestilación, ésta duró ~3 h, durante la cual, el vapor que arrastró los compuestos solubles e insolubles, se condensó al pasar por el sistema de refrigeración, por el que circuló agua fría, y posteriormente, el aceite esencial y el turbio (residuo del destilado) se precipitaron en un embudo de separación, donde el aceite quedó en la parte superior y el turbio en la inferior (Figura 3). El aceite y el turbio se almacenaron en frascos, en condiciones de refrigeración normal. Este procedimiento de extracción se realizó con el apoyo del Dr. Miguel A. Serrato del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo.

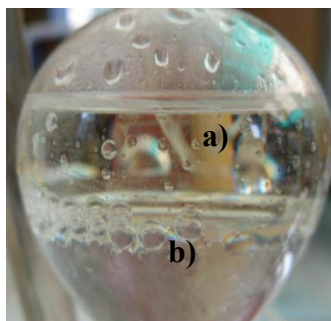


Figura 3. Destilado de *T. filifolia*, aceite esencial (a) y turbio (b).

4.2.2. Análisis cromatográfico de aceites esenciales

Las muestras de 1 μL de aceite esencial de la parte floral, foliar y planta completa se diluyeron en 2 mL de cloruro de metilo y de esta solución se tomó una alícuota y se inyectó a un cromatógrafo de gases modelo Finningan Trace GC Ultra, con las siguientes características: inyector Split a 250 °C, columna RTX-5MX, 5 % difenil-95 % dimetilpolisiloxano, 30 m X 0.25 mm D X 0.25 μm , con detector de masas Polariz Q., horno a una temperatura inicial de 70 °C por min y una rampa de 20 °C por min; hasta una temperatura final de 250 °C; inyector con temperatura de la línea de transferencia de 300, velocidad de flujo 50 mL min^{-1} , tiempo de purga 1 min, gas acarreador de helio presión 100 kp, y volumen de inyección de 1 μL . El equipo de cromatografía se acopló al programa Xcalibur para el proceso cuantitativo y graficación de los datos.

La identificación y cuantificación de los compuestos se realizó al comparar los tiempos de retención cromatográficos, espectros de masas y de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ^1H), con los determinados a partir de patrones auténticos. En todas las muestras el porcentaje de cada compuesto de la mezcla se estableció relacionando el área bajo la curva del compuesto identificado con la de un estándar interno. Todas las calibraciones de patrones y muestras se realizaron por triplicado (Zhang y Zuo, 2004). El análisis cromatográfico de los aceites esenciales lo realizó el Dr. Francisco Díaz del Laboratorio de Química Orgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

4.2.3. Extractos acuosos

La otra porción del material fresco ~5 Kg, separado por estructuras (floral, foliar, planta completa y raíz) se dejó secar a la sombra y temperatura ambiente, posteriormente se cortó y pulverizó hasta obtener un polvo fino, en seguida, 200 g del polvo se sumergieron en 1000 mL de agua destilada y se agitaron hasta obtener una mezcla, la cual se dejó reposar por 24 h a temperatura ambiente y después se filtró en papel Whatman 40 y obtener los extractos acuosos al 20 %.

4.3. Bioensayos

4.3.1. Preparación de concentraciones de prueba

A partir de los aceites esenciales, turbios, extractos acuosos y el *trans*-anetol se prepararon soluciones al 10 %, de las cuales, por diluciones subsecuentes, se obtuvieron concentraciones desde 1 al 0.00001 % de cada extracto y *trans*-anetol, para detectar las concentraciones con efecto máximo y mínimo de mortalidad y repelencia en el intervalo de 0 a 100 % (bioensayo preliminar). Posteriormente, se efectuó el bioensayo completo, intercalando dosis entre aquellas que mostraron efecto.

4.3.2. Evaluación de repelencia en adultos

La repelencia se evaluó con el método del cilindro propuesto por Ortega y Schuster (2000). La base del cilindro transparente, se cubrió con tela de organza para dar ventilación; en la parte superior se ensambló una tapa de acrílico con un orificio central, en el cual se colocó un dispositivo que consistió en una tapa de envase fotográfico, una bolita de algodón y un disco de papel Whatman 40 saturados con agua destilada, el disco foliar tratado o testigo, tela de tul y un anillo de plástico para sujetar el dispositivo (Figura 4). Para el disco foliar, se seleccionó un hoja cotiledonal de frijol de entre 15-20 d de edad, se cortó un círculo con un sacabocados y se sumergió durante 5 segundos en el extracto, posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente para eliminar el exceso del extracto. Cuando se terminó de instalar el dispositivo en el

cilindro, por un orificio lateral, con ayuda de un pequeño aspirador, se introdujeron 20 adultos de mosca blanca.



Figura 4. Cilindro de acrílico para la evaluación de repelencia de adultos de mosca blanca.

La disposición de los cilindros fue al azar en una mesa blanca con una lámpara de neón en la parte superior en condiciones de laboratorio (fotoperiodo de 12 h). El número de adultos posados en el disco foliar tratado se registró a la 4^a, 5^a, 6^a y a las 24 h postratamiento. La repelencia se obtuvo por la diferencia entre insectos posados y no posados en el disco foliar y se expresó en porcentaje, considerando 20 adultos como el 100 % en cada repetición.

4.3.3. Evaluación de mortalidad de adultos e inhibición de oviposición

La mortalidad e inhibición de oviposición en adultos, se evaluó con el método propuesto por Ortega *et al.* (1998) (Figura 5). En una hoja cotiledonal, con la lámina completamente extendida de frijol de 15-20 d de edad, se asperjó el extracto hasta el punto de escurrimiento y se dejó secar a temperatura ambiente. Posteriormente se sujetó una jaula entomológica pequeña de poliuretano a la hoja tratada y por un orificio lateral de la jaula se introdujeron 20 adultos de mosca blanca. La disposición de las plantas tratadas fue al azar en una mesa blanca en condiciones de invernadero. A las 24 h después de la aplicación, se registró el número de insectos muertos, y huevos depositados en una superficie circular de 3 cm, con ayuda de un microscopio estereoscópico. La mortalidad se obtuvo por la diferencia entre insectos vivos y muertos y se expresó en porcentaje, al considerar 20 adultos como 100 % en cada repetición; y

para el porcentaje de inhibición de la oviposición, se tomó el número de huevos depositado del testigo como el 100 % y con la diferencia entre el porcentaje del testigo y del tratamiento, se obtuvo la inhibición.



Figura 5. Jaula entomológica para la evaluación de mortalidad, oviposición de adultos e inhibición de crecimiento de ninfas de mosca blanca.

4.3.4. Evaluación de inhibición de crecimiento en ninfas de mosca blanca.

Los aceites esenciales de las diferentes partes de *T. filifolia* y el *trans*-anetol (a nivel de la CL₃₀, CL₅₀ y CL₈₀ del bioensayo de mortalidad), se aplicaron en ninfas de segundo ínstar para estimar el efecto en el crecimiento. En un trifolio de frijol de un mes de edad, se sujetó una jaula entomológica pequeña (Figura 5) y por un orificio lateral se introdujeron 50 adultos de mosca blanca, con proporción de sexos 1:1 y de 1 a 6 d de edad, y se mantuvieron confinados por 48 h para que ovipositaran. Posteriormente, las jaulas y los adultos se retiraron y las plantas infestadas con huevos se transfirieron a jaulas de dimensiones mayores. Cuando las ninfas alcanzaron el segundo ínstar (18-20 d después) se seleccionaron 100 de ellas por cada trifolio y el resto se removió con un alfiler entomológico. Enseguida, las ninfas y trifolios seleccionados se asperjaron con los aceites hasta punto de escurrimiento. Posteriormente, las plantas se colocaron en jaulas aisladas, se revisaron diariamente y se registró el número de ninfas vivas y muertas y su ínstar, hasta el momento en que el 84-90 % de adultos emergió en las plantas testigo tratadas con agua destilada. Con los datos obtenidos se calculó la duración y viabilidad ninfal, y el índice de crecimiento (IC), que se calculó mediante la fórmula (Rodríguez, 1995):

$$IC = \left[\sum_{i=1}^4 [n_i \times i] \quad \sum_{i=1}^4 [n'_i \times i - 1] \right] [N \times I]^{-1}$$

Donde:

- n_i = Número de insecto vivos en el estado de desarrollo i ;
- i = Estado de desarrollo del insecto: 1-3 (II a IV ínstar) y 4 (adulto);
- n'_i = Número de insectos muertos en el estado de desarrollo i ;
- N = Número de insectos evaluados;
- I = Número total de estados de desarrollo.

4.4. Diseño experimental

El diseño de los bioensayos fue completamente al azar, para cada concentración y repetición (mínimo seis) se utilizaron 20 adultos de mosca blanca de 3 a 6 d de edad, sin sexar y en ayuno durante 2 h previas a la evaluación; se incluyeron dos testigos, uno al que sólo se le aplicó agua destilada y otro con *trans*-anetol 99 % como testigo referencial, adquirido en Sigma-Aldrich Química S. A. de C. V., México. A todos los tratamientos se les añadió Tween 20 al 1 % como adherente.

4.5. Análisis estadístico

Los porcentajes de repelencia, mortalidad, inhibición de la oviposición, índice de crecimiento, duración y viabilidad ninfal, se sometieron a un análisis de varianza mediante el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 1999) ($p \leq 0.05$) y a una prueba de comparación múltiple de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Mediante el mismo programa, se realizó un análisis Probit para obtener la línea de respuesta log dosis-probit de la correlación de efecto y concentración y los valores de las concentraciones letales, de repelencia y de oviposición medias, expresadas en mg mL^{-1} .

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Composición química de aceites esenciales

El análisis cromatográfico de los tres aceites de *T. filifolia* reveló la presencia de alilanol y *trans*-anetol como compuestos principales (Figura 6); en el aceite de planta completa se encontró un compuesto traza que no fue identificado. En el Cuadro 2, se observa que el porcentaje del *trans*-anetol va de 12.9 a 18.6, mientras que para el alilanol varió de 81.4 a 84.1. Los compuestos identificados en los aceites de *T. filifolia*, pertenecen al grupo de los fenilpropanoides; esta composición es considerada como inusual comparada con otras especies de *Tagetes*, debido a la presencia de dicho grupo químico (De Feo *et al.*, 1998); ya que el análisis de otras especies muestra presencia de monoterpenos y sesquiterpenos como compuestos principales. Los compuestos identificados en este trabajo, ya habían sido reportados por Serrato *et al.* (2008) en diferentes colectas del anisillo de la región centro-sur de México. Sin embargo, en un análisis del aceite de la inflorescencia de *T. filifolia*, se encontraron proporciones de 67 % para el *trans*-anetol y de 30.3 % para el metil chavicol (Zygodlo *et al.*, 1993) y *cis*-anetol al 68.2 % y estrangol al 13.7 %, en el aceite de las partes aéreas (De Feo *et al.*, 1998); mientras que Marotti *et al.* (2004) encontraron en el aceite de hoja, que el metil chavicol fue el compuesto más abundante (90.4 %) y el *trans*-anetol el de menor porcentaje (5.5 %).

La diferencia en la composición del aceite, en el presente trabajo y otros, se debe a la existencia de quimiotipos o razas químicas resultante de la adaptación al ambiente, en plantas de la misma especie y con diferente lugar de origen (De Feo *et al.*, 1998; Serrato *et al.*, 2008). Aunado a los quimiotipos, la diferencia también está en función de la etapa de desarrollo de la planta, de la cual se extrae el aceite; Moghaddam *et al.* (2007) señalaron que el aceite esencial de *T. minuta* obtenido en la etapa vegetativa contiene principalmente limoneno (49.2 %), dihidrotagetona (14.8 %) y α -terpineol (7.4 %); en la floración prevalecen la dihidrotagetona (21.4 %), α -terpineol (15.6 %), (Z)-tagetona (13 %), (E)-ocimenona (11.8 %) y (Z)- β -ocimeno (8.3 %), y en fructificación, dihidrotagetona (20.7 %), α -terpineol (18.4 %), (Z)-tagetona (13.4 %), (E)-ocimenona (8.6 %) y (Z)- β -ocimeno (7.4 %).

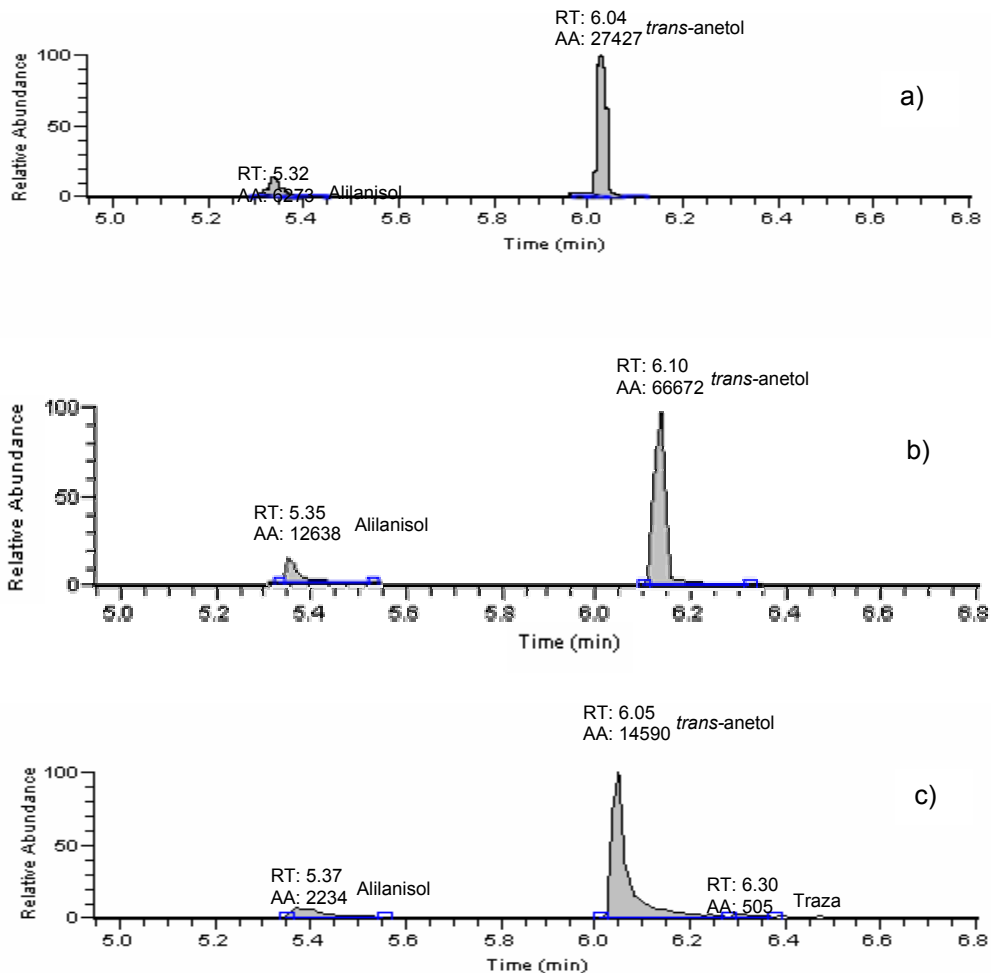


Figura 6. Cromatograma del aceite a) floral, b) foliar y c) planta completa de *T. filifolia*.

El rendimiento del aceite de *T. filifolia* (Cuadro 2) en este trabajo, varió de 0.5 a 0.6 %, valores que están en el intervalo obtenido por Muñoz *et al.*, (2007) de 0.4 a 1.6 % para esta misma especie; sin embargo, se considera bajo si se compara con otras plantas de las cuales se extrae aceite esencial, como el hinojo *Foeniculum vulgare* y anís *Illicium verum*, con rendimientos de 4-6 % y 1.5-4 %, respectivamente (Figmay, 2004); pero este rendimiento bajo, se compensa con la producción de biomasa por unidad de superficie que es mayor para el anisillo (Serrato *et al.*, 2003), y coincide con lo reportado por Marotti *et al.* (2004) quienes encontraron que la producción de biomasa, materia seca y aceite esencial de hoja de *T. filifolia* fue de 33.3 %, 30.6

% y 422.7 kg ha⁻¹, respectivamente, valores superiores a los obtenidos con *T. erecta* (15.9 %, 18.5 % y 6.8 kg ha⁻¹), entre otras especies evaluadas.

Cuadro 2. Compuestos (%) y rendimiento (%) de los aceites esenciales de *T. filifolia*.

Aceite	Alilanisol	<i>trans</i> -anetol	Rendimiento
Floral	18.6	81.4	0.5
Foliar	15.9	84.1	0.6
Planta	12.9	84.1	0.6

En *T. filifolia* se ha encontrado que en el intervalo del inicio de la fase reproductiva hasta un 50 % de floración se produce 1.66 mL de aceite por 500 g⁻¹ de tejido vegetal, rendimiento superior comparado con el obtenido durante la fase vegetativa y floración (1.1 y 0.7 mL por 500 g⁻¹, respectivamente) (Serrato *et al.*, 2004), además de que en diferentes fechas de siembra se encontró una estabilidad en la proporción del *trans*-anetol (77.92-80.76 %) y alilanisol (19-22.07 %), lo cual resulta ventajoso si se desea extraer el aceite con fines comerciales. La estabilidad de las proporciones de los componentes del aceite de diferentes estructuras de *T. filifolia* y su rendimiento elevado, se considera una ventaja, ya que cualquier parte de la planta se puede utilizar como materia prima para la extracción del aceite esencial, y su posterior formulación en un insecticida botánico, conteniendo las propiedades biológicamente activas para el control de plagas. (Serrato, 2008)¹.

¹ Serrato, M. A. 2008. Ventajas de la extracción de aceite del anisillo. Departamento de Fitotecnia, UACh.

5.2. Repelencia de adultos de mosca blanca y CR₅₀

Los adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* mostraron susceptibilidad diferencial a los extractos de *T. filifolia*. En los bioensayos preliminares, los porcentajes de repelencia más elevados se obtuvieron con los extractos acuosos floral y de raíz con 57.8 y 55.9, respectivamente, a la 4^a h postaplicación, pero después de este periodo, el porcentaje disminuyó considerablemente (Apéndice, Cuadro 8). Para el caso de los turbios foliar y de planta, a la concentración de 100 mg mL⁻¹, se alcanzó el 71.3 % y 62 % a la 4^a h, respectivamente, pero en las horas subsecuentes se registró también una caída en el efecto; sin embargo, a 100 mg mL⁻¹ no causaron fitotoxicidad, por lo que pueden ser sujetos a una evaluación más detallada y constituir una alternativa como repelente a corto plazo para la mosca blanca (Apéndice, Cuadro 9). En cambio, los aceites y el *trans*-anetol causaron repelencia de adultos del 44 al 100 %, a partir de 1 mg mL⁻¹ (Apéndice, Cuadro 10).

La repelencia causada por los aceites y el *trans*-anetol se manifestó en cuatro ciclos logarítmicos y varió en función de la concentración y el tiempo (Cuadro 3). En la concentración de 0.001 mg mL⁻¹, se registraron porcentajes de repelencia de 12.8 a 49.5, mientras que a 100 mg mL⁻¹ los valores fueron de 89.3 a 100 %. La repelencia total se registró a 100 mg mL⁻¹ a la 6^a h en el aceite de planta, y a las 24 h en todos los tratamientos. Sin embargo, se observó un efecto leve de fitotoxicidad en todos los tratamientos a 10 mg mL⁻¹, daño que aumentó al incrementarse la concentración. El efecto fitotóxico lo había observado Serrato *et al.* (2003) al aplicar el aceite foliar de *T. filifolia* a partir de 1 mg mL⁻¹, en hojas de frijol. En el presente trabajo, el aceite floral fue el más efectivo, a la concentración de 35 mg mL⁻¹, alcanzó valores de repelencia superiores en todas las evaluaciones, a comparación con los otros tratamientos.

Cuadro 3. Repelencia (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h postaplicación de aceites de *T. filifolia* y *trans-anetol*.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Aceites															
	Floral						Planta						trans-anetol			
	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h
100	95.8 a	89.3 a	90.4 a	100 a	99.0 a	95.6 a	98.2 a	100 a	94.3 a	97.6 a	100 a	100 a	97.0 a	99.2 a	98.3 a	100 a
10	82.5 a	75.7 a	72.3 b	89.9 b	92.8 a	79.3 b	80.3 a	86.7 b	88.1 a	78.9 a	78.6 a	93.2 a	85.5 a	84.8 a	85.0 a	86.9 b
1	59.2 b	46.1 c	39.3 d	73.1 d	69.3 b	59.7 c	46.7 b	68.5 b	49.5 b	48.4 b	47.0 b	86.4 b	43.9 b	36.4 b	42.2 b	55.2 c
0.35	52.1 c	53.8 b	53.6 c	79.4 c	28.2 d	28.9 d	24.6 c	25.3 d	35.6 c	30.0 c	30.0 c	51.1 c	29.4 c	18.5 c	27.2 c	35.1 d
0.1	39.4 d	34.4 d	26.6 e	63.3 e	35.3 c	27.8 d	20.7 c	53.2 c	27.2 c	20.1 d	10.8 d	25.3 d	35.3 c	22.2 c	6.5 d	31.6 d
0.035	34.2 e	31.9 d	27.0 e	62.5 e	23.7 d	15.7 d	7.5 c	25.0 d	38.0 c	29.2 c	24.2 c	34.5 d	25.7 c	18.0 c	14.7 d	24.8 d
0.01	37.3 e	32.5 d	19.1 f	58.2 f	34.6 c	25.4 d	22.3 c	21.7 d	22.1 c	21.7 c	16.2 d	25.9 d	24.1 c	17.4 c	16.9 d	21.6 d
0.001	24.6 f	28.0 e	20.2 f	49.5 g	19.1 d	19.1 d	17.6 c	22.6 d	29.6 c	24.5 c	18.6 d	31.3 d	20.4 c	13.5 d	12.8 d	29.6 d
Testigo	11.6 g	7.5 f	5.8 g	11.9 h	10.0 e	11.9 d	7.7 c	11.8 e	11.0 d	7.9 d	5.1 d	11.3 e	10.3 d	8.6 d	6.8 d	12.6 e
C. V.	22.9	21.2	27.4	14.4	19.3	29.6	30.2	27.3	35.2	36.8	36.3	35.9	30.1	30.6	33.3	38.1
D. M. S.	21.0	17.8	20.4	19.8	18.5	22.6	20.6	36.5	32.5	27.7	25.2	38.4	26.1	20.5	21.7	35.4
CR ₅₀ (mg mL ⁻¹)	0.13	0.27	0.62	0.004	0.23	0.51	0.85	0.14	0.24	0.54	0.75	0.11	0.45	0.91	0.94	0.24
	(0.08- 0.21)*	(0.16- 0.46)	(0.39- 1.02)	(0.001- 0.008)	(0.16- 0.34)	(0.34- 0.78)	(0.58- 1.29)	(0.09- 0.19)	(0.15- 0.39)	(0.35- 0.86)	(0.51- 1.14)	(0.07- 0.16)	(0.29- 0.70)	(0.63- 1.36)	(0.66- 1.37)	(0.16- 0.36)
b ± s	0.44 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.54 ± 0.03	0.52 ± 0.03	0.57 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.56 ± 0.03	0.55 ± 0.04	0.49 ± 0.03	0.60 ± 0.04	0.65 ± 0.04	0.49 ± 0.03

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí (p≤0.05), *Límites de confianza al 95 %, C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa, b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

Los valores de CR₅₀ (Cuadro 3) oscilaron desde 0.004 a 0.94 mg mL⁻¹. En todas las horas evaluadas, el aceite floral mostró mayor actividad repelente (0.13, 0.27, 0.62 y 0.004 mg mL⁻¹, a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h, respectivamente), continuando en orden decreciente, el de planta, el foliar y el *trans*-anetol. La actividad de los aceites y *trans*-anetol disminuyó notablemente de la 4^a a la 6^a h postaplicación; sin embargo, a las 24 h, en todos los tratamientos se registró un incremento de la misma, y en consecuencia, una ligera reducción en los valores de las CR₅₀; nuevamente el aceite floral fue el más efectivo y el *trans*-anetol, el de menor efecto biológico.

Los valores de las CR₅₀ de los cuatro tratamientos del presente trabajo fueron de 0.004 a 0.24 mg mL⁻¹, a las 24 h, valores menores al reportado por Schuster *et al.* (2009) para el aceite de *Tagetes*, ya que requirieron aplicar concentraciones de 0.35 mg mL⁻¹ para repeler al 50 % de la población de adultos de *B. argentifolii*, a la 24 h. En cambio, Serrato *et al.* (2003) al evaluar la actividad repelente del aceite de las partes aéreas de *T. filifolia* en *T. vaporariorum* estimaron valores de CR₅₀ de 0.04 a 8.8 mg mL⁻¹ a la 1^a y 6^a h, respectivamente y una disminución a las 24 h (3.5 mg mL⁻¹); en el presente trabajo, las CR₅₀ a través del tiempo, se mantuvieron en valores inferiores a 8.8. Probablemente las diferencias en la actividad repelente, se deba a que la extracción se obtuvo de diferentes partes de la planta, la proporción de compuestos activos, origen del aceite, estado fenológico de la planta, condiciones del ambiente, suelo y su fertilización mineral (Marotti *et al.*, 2004), y en el primer caso, la plaga objeto fue de diferente especie.

El incremento en actividad repelente a las 24 h, en mayor magnitud que en la primera evaluación, ya había sido registrado por Cubillo *et al.* (1999), al evaluar productos acuosos de nim *A. indica* en *B. tabaci* y por Garmendia (2002) con extractos acuosos de ajo *A. sativum* aplicados en *T. vaporariorum*. Al parecer, la actividad repelente y persistencia de los productos depende en gran medida de la concentración, proporción, tamaño y forma de las moléculas, así como su permanencia en los receptores sensoriales de las antenas de la mosca blanca por interacción molecular (Wright, 1975). Pero, una vez que ocurre la saturación de los sensores, el insecto no responde aún cuando se incrementa la concentración y, según Van Lenteren y Noldus (1990), la saturación de los quimiorreceptores ocurre de forma inmediata o gradual. La disminución de la repelencia en la 6^a h probablemente se debió a la volatilidad de los compuestos

secundarios y el incremento del efecto hacia las 24 h indicó que los sensores de la mosca blanca pasaron por un estado de saturación temporal.

Se infiere que el aceite floral fue el mejor tratamiento, ya que a la concentración de 0.35 mg mL¹ tuvo una repelencia superior al 50 %, en las cuatro evaluaciones. A 1 mg mL¹, en todos los tratamientos se obtuvo una repelencia arriba del 36 %, incrementándose a las 24 h postaplicación, sin causar efectos fitotóxicos en el frijol. Los aceites esenciales de *T. filifolia* fueron más activos en comparación del *trans*-anetol; debido a la mezcla de compuestos identificados (*trans*-anetol + alilanisol), sin embargo, la ligera diferencia de actividad entre ellos, se debió a la diferente proporción de los componentes presentes.

La marcada diferencia en la respuesta de los aceites y *trans*-anetol, respecto a los turbios y éstos sobre los extractos acuosos, hace suponer que se debió a las características propias de los aceites; como la nula o poca solubilidad en agua, mayor adherencia, volatilidad y persistencia. El grado de viscosidad y densidad de los aceites los hace más pesados y por ello son retenidos por más tiempo sobre la hoja, de modo que las sustancias repelentes se liberan gradualmente retrasando o evitando, por más tiempo que los insectos arriben a la planta tratada (Davison *et al.*, 1991). Esta liberación gradual, por la volatilidad de los compuestos, se pudo constatar en los cuatro tratamientos, ya que en los cilindros donde se aplicaron las concentraciones más altas, después de las 24 h, era perceptible un penetrante olor a anís, característico de *T. filifolia*, y se observó una mortalidad total de la mosca blanca, posiblemente a causa de un efecto de contacto, ya que la mosca se posó en el disco foliar tratado, o un efecto fumigante.

El efecto fumigante del *trans*-anetol y estrangole, se evaluó en *Callosobruchus chinensis*, *Lasioderma serricorne* y *Sitophilus oryzae*, en contenedores cerrados con papel filtro a la concentración de 0.42 mg cm⁻², y se observó en todos tratamientos una mortalidad total, debido a que hay una relación entre la estructura química de los monoterpenos y la actividad fumigante, y que penetran en el cuerpo del insecto vía sistema respiratorio (Do-Hyoung y Young-Joon, 2001).

5.3. Mortalidad y oviposición de adultos de mosca blanca

5.3.1. Mortalidad y CL₅₀

Los adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* mostraron susceptibilidad diferencial a los extractos de *T. filifolia*. En el bioensayo preliminar, los extractos acuosos y turbios alcanzaron un máximo de 19 % de mortalidad de adultos, inclusive en las concentraciones de 100 mg mL⁻¹. En cambio, los aceites y *trans*-anetol causaron mortalidad de 72.8 a 98.7 % a la concentración de 100 mg mL⁻¹ (Apéndice, Cuadro 11).

La mortalidad ocasionada por los aceites y *trans*-anetol se relacionó positivamente con la concentración pues se registró una respuesta contundente al aplicar tratamientos a partir de 40 mg mL⁻¹ (Cuadro 4), y una mortalidad total a 135 mg mL⁻¹ con el aceite de floral y a 100 mg mL⁻¹ con el *trans*-anetol; sin embargo, se registró fitotoxicidad a concentraciones superiores a 10 mg mL⁻¹, en todos los tratamientos, daño que ya había sido reportado por Serrato *et al.* (2003) al aplicar el aceite de partes aéreas de *T. filifolia* a partir de 1 mg mL⁻¹.

Cuadro 4. Mortalidad (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a las 24 h postaplicación de aceites de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Aceites			<i>trans</i> -anetol
	Floral	Foliar	Planta	
135	100.0 a	98.3 a	99.2 a	---
100	97.7 a	87.7 a	95.7 a	100 a
60	94.7 a	78.1 a	79.9 b	87.5 b
40	84.3 a	77.1 a	69.1 c	85.8 b
10	15.4 b	19.8 b	19.9 d	59.4 c
3.5	9.4 b	19.8 b	16.7 d	30.5 d
1	16.5 b	12.7 b	14.4 d	26.4 e
0.1	25.1 b	15.9 b	14.4 d	25.4 e
0.01	---	---	---	25.4 e
Testigo	11.7 b	5.9 b	6.7 d	7.3 e
C. V.	16.9	25.5	27.2	32.9
D. M. S.	17.9	22.4	23.8	31.0
CL ₅₀	6.59	10.29	9.99	1.74
(mg mL ⁻¹)	(5.10-8.44) *	(8.17-12.91)	(7.99-12.45)	(1.19-2.48)
b ± s	0.96 ± 0.05	0.94 ± 0.05	0.99 ± 0.05	0.57 ± 0.03

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí (p≤0.05), --- Concentración no evaluada, *Límites de confianza al 95%, C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa, b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

El *trans*-anetol mostró mayor toxicidad a nivel de la CL_{50} (1.74 mg mL⁻¹), continuando en orden decreciente los aceites floral (6.59), de planta completa (9.99) y foliar (10.29 mg mL⁻¹). Los límites fiduciales correspondientes a las CL_{50} de los tres aceites se traslapan entre sí, pero no con los del *trans*-anetol, resultados que muestran una acción diferencial entre los productos (Cuadro 4).

El *trans*-anetol tuvo una CL_{50} casi cuatro veces menor al aceite floral, siendo el segundo más tóxico, por lo que ejerce un fuerte efecto sobre los adultos de mosca blanca. Por tanto, se infiere que de los tratamientos evaluados el *trans*-anetol resultó el producto más efectivo, dado que no se observó efecto fitotóxico en la hoja de frijol y ocasionó hasta un 59.4 % de mortalidad a la concentración de 10 mg mL⁻¹.

La toxicidad diferencial ocasionada por los aceites evaluados se debió a la presencia de diferentes proporciones de los dos principios activos identificados en el presente trabajo. Lo anterior, lo constataron Weaver *et al.* (1994) quienes sostienen que el aceite floral de *T. minuta* es más activo comparado con los aceites extraídos de otras partes de la planta, debido a que éste contiene mayor cantidad de terpenos de bajo peso molecular, que al ser aplicados se volatilizan rápidamente y provocan un efecto fumigante en el gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus*. Tomova *et al.* (2005) mencionan que la posible diferencia en la composición y concentración de principios activos presentes en las diferentes estructuras vegetales, causan efecto tóxico diferencial.

5.3.2. Oviposición y CIO_{50}

La oviposición de la mosca blanca, se afectó adversamente con los aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol. En el bioensayo preliminar, con los extractos acuosos y turbios se registraron porcentajes de oviposición de 29.7 al 100%, en la concentración de 100 mg mL⁻¹. En cambio, los aceites y *trans*-anetol registraron de 1.1 a 7.3 % en la misma concentración (Apéndice, Cuadro 12).

Los aceites floral y foliar, a la concentración de 135 mg mL⁻¹, inhibieron totalmente la puesta de huevos y a 100 mg mL⁻¹ con el *trans*-anetol; sin embargo, con éste último, las concentraciones de 0.01 a 3.5 mg mL⁻¹ estimularon la oviposición, probablemente en respuesta al estrés ocasionado en la hembra por concentraciones subletales, tratando ésta de privilegiar la supervivencia a través de una mayor tasa de oviposición, dando lugar al fenómeno de hormoligosis, observado también con aceite floral a 0.1 mg mL⁻¹; donde el incremento de oviposición de *T. vaporariorum* fue de 3.7 %.(Cuadro 5)

Cuadro 5. Inhibición (%) de oviposición de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a las 24 h postaplicación de aceites de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Aceites			
	Floral	Foliar	Planta	<i>trans</i> -anetol
135	100	100	99.4	---
100	98.2	97.2	96.0	100
60	97.2	96.2	94.7	97.2
40	95.3	92.5	97.7	96.3
10	30.2	56.6	47.4	84.4
3.5	26.4	25.5	35.6	-11.9 *
1.0	11.3	20.5	24.6	-3.6 *
0.1	-3.7 *	13.2	43.9	-7.3 *
0.01	---	---	---	-11.9 *
CIO ₅₀	8.43 (4.36-16.26) **	3.88 (0.97-15.40)	3.56 (0.92-13.77)	1.55 (0.16-3.78)
b ± s	1.81 ± 0.31	1.31 ± 0.27	0.94 ± 0.22	1.24 ± 0.28

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí (p≤0.05), --- Concentración no evaluada, * Datos no considerados en el análisis Probit, ** Límites de confianza al 95 %, b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

La aplicación del aceite de planta requirió una CIO₅₀ de 3.56 mg mL⁻¹; en orden decreciente de inhibición, continuaron los aceites foliar (3.88) y floral (8.43 mg mL⁻¹), caso particular fue el *trans*-anetol ya que su CIO₅₀ fue de 1.55 mg mL⁻¹, sin embargo, a este valor estimula a la hembra a la oviposición. (Cuadro 5).

La inhibición de la oviposición fue fuerte a partir de 40 mg mL⁻¹, sin embargo, a esta concentración, la lamina foliar del frijol sufrió diferentes grados de fitotoxicidad. Considerando lo anterior, el *trans*-anetol y aceite foliar de *T. filifolia*, a 10 mg mL⁻¹ fueron los más efectivos al inhibir la puesta de huevos en más del 84 y 56 %, respectivamente. .

La actividad de los aceites y el *trans*-anetol para inhibir la oviposición, coincide con lo reportado por otros autores, quienes observaron que los extractos con disolventes no polares son más eficientes que aquellos extractos solubles en agua (Ascher *et al.*, 1984; Saito *et al.*, 1989; Roel *et al.*, 2000). Sin embargo, De Souza y Vendramim (2004) sostienen que los extractos acuosos de ramas de *Trichilia pallida* y semillas de nim fueron más efectivos que los extractos hexánicos y clorofórmicos para controlar ninfas de *B. tabaci*. Con base en esta información, varios autores prefieren obtener extractos botánicos con solventes de polaridad intermedia (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999). Aunque, se debe considerar que la mayor actividad biológica se relaciona con la estructura química del compuesto activo como anotan Tomova *et al.* (2005), quienes al evaluar la actividad del aceite esencial, el residuo de la destilación, fracciones y compuestos puros del aceite de *T. minuta* contra pulgones encontraron que el compuesto puro β -cariofileno, fue más activo que el aceite en disminuir la reproducción, al 4º día de evaluación a la concentración de 1 μ L.

Al parecer, la reducción en la oviposición en algunos insectos, se debe a que los plaguicidas y los extractos vegetales alteran la actividad de los quimiosensores o la integración de la información durante el proceso de búsqueda y aceptación del hospedero (Umoru *et al.*, 1996). Sin embargo, la mayor oviposición de la mosca blanca se asocia con la mayor preferencia por plantas con alto contenido de azúcares y aminoácidos y bajo pH, como lo comprobaron Abdullah *et al.* (2006) en *B. tabaci* al tratar plantas de algodón con diferentes dosis de fenvalerato y acefato.

5.3.3. Inhibición del crecimiento

Los aceites de *T. filifolia* y el *trans*-anetol afectaron adversamente el crecimiento de la población de la mosca blanca *T. vaporariorum*, al exponer ninfas de segundo ínstar a dichos tratamientos. En el Cuadro 6, se muestra la distribución de la población postratamiento, cuando en los testigos se alcanzó 84-90 % de adultos emergidos.

Cuadro 6. Distribución de la población de *T. vaporariorum* (%) tratada con aceites esenciales de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Tratamiento	Concentración mg mL ⁻¹	Ínstar ninfal			Adulto
		II	III	IV	
Floral					
CL ₈₀	50	0 / 100 *	-	-	-
CL ₅₀	7	0 / 81.0	0 / 6.2	0.1 / 2.2	10.5 / 0
CL ₃₀	2	0 / 67.7	0 / 5.8	1.3 / 2.5	22.7 / 0
Testigo	0	0 / 7.9	0 / 4.9	0 / 1.8	85.4 / 0
Foliar					
CL ₈₀	80.3	0 / 100	-	-	-
CL ₅₀	10.3	0 / 87.9	0 / 4.5	0 / 2.1	5.5 / 0
CL ₃₀	3	0 / 71.2	0 / 3.4	1.4 / 2.1	21.9 / 0
Testigo	0	0 / 8.5	0 / 3.3	0 / 1.8	86.4 / 0
Planta					
CL ₈₀	70.4	0 / 100	-	-	-
CL ₅₀	10	0 / 78.1	0 / 3.3	0 / 0.7	17.4 / 0
CL ₃₀	3	0 / 72.7	0 / 6.2	0.2 / 3.7	17.2 / 0
Testigo	0	0 / 10.7	0 / 3.2	0 / 1.6	84.5 / 0
<i>trans</i>-anetol					
CL ₈₀	52	0 / 100	-	-	-
CL ₅₀	2	0 / 65.8	0 / 9.6	0.2 / 8.7	15.7 / 0
CL ₃₀	0.2	0 / 47.6	0 / 10.2	0.4 / 2.2	39.3 / 0.3
Testigo	0	0 / 7.3	0 / 2.2	0 / 0.9	89.6 / 0

* Individuos vivos / muertos.

El crecimiento de la población (índice de crecimiento) se nulificó cuando las ninfas se trataron con las CL₈₀ de los adultos, debido a la mortalidad total de ninfas ocurrida un día después de la aplicación; respuesta que fue diferente ($p < 0.05$) de lo observado en el testigo y en el resto de los tratamientos (Cuadro 7). Las ninfas expuestas a las CL₅₀ de los aceites foliar, floral, planta y al *trans*-anetol evidenciaron fuerte reducción en su crecimiento (90, 90, 80 y 80 %, respectivamente), mientras que las ninfas tratadas con las CL₃₀ lograron continuar con su desarrollo y los sobrevivientes fueron capaces de completar su ciclo, aunque con diferencia significativa ($p < 0.0001$) con respecto al testigo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Mortalidad (%), índice de crecimiento, duración (d) y viabilidad ninfal (%) de inmaduros de *T. vaporariorum* tratados con aceites esenciales de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Tratamiento	Concentración mg mL ⁻¹	Mortalidad	Índice de crecimiento	Duración ninfal	Viabilidad ninfal
Floral					
CL ₈₀	50	100 *	0 d **	0***	0 d
CL ₅₀	7	60.3	0.1 c	21.1 a	10.6 c
CL ₃₀	2	36.1	0.3 b	31.8 a	23.8 b
Testigo	0	3.4	0.9 a	32.5 a	85.4 a
D. M. S.			0.1	15.9	14.7
C. V.			26.8	35.2	29.5
Foliar					
CL ₈₀	80.3	100	0 c	0	0 c
CL ₅₀	10.3	55.4	0.1 c	15.5 b	5.4 c
CL ₃₀	3	40.7	0.2 b	33.1 a	22.2 b
Testigo	0	3.2	0.9 a	31.8 a	86.4 a
D. M. S.			0.1	15.4	13.2
C. V.			28.1	36.4	27.7
Planta					
CL ₈₀	70.4	100	0 c	0	0 c
CL ₅₀	10	39.7	0.2 b	21.8 a	17.4 b
CL ₃₀	3	44.2	0.2 b	30.3 a	17.4 b
Testigo	0	3.7	0.9 a	32.7 a	84.4 a
D. M. S.			0.1	14.3	14.1
C. V.			24.9	31.9	28.5
<i>trans</i>-anetol					
CL ₈₀	52	100	0 d	0	0 c
CL ₅₀	2	29.5	0.2 c	30.5 a	15.8 c
CL ₃₀	0.2	28.2	0.4 b	30.2 a	39.5 b
Testigo	0	2.2	0.9 a	31.3 a	89.6 a
D. M. S.			0.1	3.8	17.4
C. V.			22.9	7.9	28.8

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa, * Porcentaje de mortalidad registrada el primer día postratamiento, ** Evaluación realizada cuando los testigos alcanzaron 84-90 % de emergencia de adultos, *** No se consideraron las CL₈₀ en el análisis estadístico.

Los valores de índice de crecimiento (Cuadro 7) aumentaron a medida en que se disminuyó la concentración y se redujo la mortalidad. En los antecedentes se menciona que el índice de crecimiento tiende a disminuir, al aumentar el número de larvas muertas en los primeros instares y alcanza valores de cero cuando toda la población muere en el primer estado tratado (Rodríguez, 1995). Se ha reportado que la aplicación del extracto de semillas de nim al 0.2 y 2 % en ninfas de primer instar de *B. tabaci* registró una elevada mortalidad del 33 y 100 %, respectivamente, semejantes a los registrados para las ninfas de segundo y tercer instar (Coudriet *et al.*, 1985).

La aplicación de los aceites de flor y planta de *T. filifolia* y *trans*-anetol no afectó contundentemente la duración ninfal (tiempo requerido para que las ninfas lleguen a adulto), ya que el tiempo promedio de desarrollo de ninfa II a IV fue de 21 a 33 d, tiempo similar al testigo ($p > 0.0001$) (Cuadro 7); a excepción del aceite foliar, a nivel de la CL_{30} , que alargó ligeramente la duración ninfal a 33.1 d, pero no fue estadísticamente diferente al testigo ($p < 0.0001$), y a nivel de la CL_{50} acortó este periodo 16.3 d, en comparación con el testigo fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.0001$); aspecto que en el marco del manejo de una plaga no es favorable, debido a que hay un adelanto en la emergencia de los insectos, que posiblemente colonicen a los cultivos en una etapa fenológica temprana y más susceptible a las plagas.

La elevada mortalidad, un día después de la aplicación, afectó la viabilidad ninfal (porcentaje de ninfas que alcanzan el estado adulto) ($p < 0.0001$) (Cuadro 7). A medida que disminuyó la concentración, la emergencia de adultos se incrementó de 5 a 39 %; sin embargo, en ningún caso se alcanzó la emergencia obtenida en los testigos (84.4 a 89.6 %) ($p < 0.0001$). De los productos evaluados a nivel de CL_{30} , el aceite de planta fue el más efectivo al inhibir en 82.6 % la emergencia de adultos, seguido por el foliar (77.8 %), floral (76.2 %) y por último el *trans*-anetol (60.5 %). A nivel de la CL_{50} , prácticamente todos los aceites y *trans*-anetol afectaron adversamente la viabilidad ninfal (Cuadro 7), sin embargo, las plantas de frijol tratadas evidenciaron síntomas de fitotoxicidad, lo cual finalmente limita su uso práctico.

En este trabajo, los aceites esenciales de flor y planta de *T. filifolia* y *trans*-anetol no afectaron directamente la duración y viabilidad ninfal, debido al efecto rápido de mortalidad de los tratamientos sobre las ninfas, resultados que se contraponen a lo reportado por Coudriet *et al.* (1985) y Schmutterer (1990), quienes sostienen que la aplicación de productos vegetales a menudo prolonga el tiempo de desarrollo de los insectos, por la intervención de las moléculas vegetales sobre el sistema hormonal, especialmente sobre los ecdiesteroides. Este hecho fue confirmado por Saxena y Srivastava (1972) al evaluar el efecto del aceite de *T. minuta*, sobre *Dysdercus koenigii* puesto que el ciclo biológico de la chinche se alargó en el intervalo del quinto al sexto ínstar y hubo mayor mortalidad conforme las concentraciones se elevaban. Se sugirió que la tagetona, compuesto presente en el aceite, actuó como hormona juvenil y causó este alargamiento. Resultados similares obtuvieron Natarajan y Sundaramurthy (1990) quienes

también registraron altas tasas de mortalidad de ninfas de *B. tabaci* con el aceite de nim a dosis de 0.5 y 1.0 %, en algodónero; además infieren que el aceite de nim suprime el crecimiento y desarrollo de las ninfas ya que apenas el 14 % de ellas alcanzaron el estado adulto. Aun cuando en este trabajo no se prolongó el ciclo biológico de *T. vaporariorum* debido a la alta mortalidad durante los primeros instares, los efectos de los aceites y la alta cantidad de *trans*-anetol que se encuentra en la composición de éstos constituyen importantes indicios para su estudio detallado sobre los mecanismos fisiológicos que desencadenan en este insecto.

El potencial de *T. filifolia* en el control de la mosca blanca de los invernaderos, se reportó con el uso de extractos obtenidos con solventes no polares y con hidrodestilación (Cubillo *et al.*, 1999; Serrato *et al.*, 2003); en el presente trabajo se investigó el potencial de esta planta con aceites esenciales, turbios y extractos acuosos y el *trans*-anetol que es uno de los compuestos principales en el aceite. Los resultados mostraron que los extractos acuosos no afectaron en los parámetros evaluados, sin embargo, los turbios a pesar de que no fueron contundentes sus resultados en el bioensayo preliminar, se pueden considerar objeto de evaluación posterior, debido a su penetrante olor característico de la planta que causó mortalidad y repelencia en este insecto, y a su abundancia durante el proceso de extracción de los aceites esenciales. Para el caso de los aceites esenciales y el *trans*-anetol, sus resultados fueron satisfactorios en cuanto a la repelencia, mortalidad de adultos y ninfas de la mosca blanca en concentraciones en las cuales no se causó fitotoxicidad. En la práctica, el uso de estos aceites y el *trans*-anetol, puede ser una alternativa de control, ya que si es aplicado en el envés de las hojas puede proporcionar un efecto de contacto, causando mortalidad en menos de 24 h, aunado a este efecto, las hojas de los cultivos quedan impregnadas de ese olor a anís, el cual repele a la mosca blanca y puede permanecer más de 24 h; considerando un control en un lugar cerrado puede favorecer que actúe en forma de fumigante. Además de sus modos de acción, otra ventaja que se ha mencionado es el precio de producción, rendimiento y estabilidad de compuestos activos presentes en diferentes estructuras de la planta, lo que favorece para que sea objeto de extracción a una escala mayor.

6. CONCLUSIONES

Los compuestos principales que se identificaron en los aceites floral, foliar y de planta de *T. filifolia* fueron el *trans*-anetol y el alilanol; el primero fue el más abundante en los tres aceites, sus rendimientos en la obtención de aceite fueron semejantes entre sí. Los extractos acuosos y turbio no mostraron efecto tóxico y repelente contundente. Los aceites y el *trans*-anetol mostraron un efecto repelente, tóxico e inhibitorio de la oviposición en adultos y de crecimiento y duración ninfal en inmaduros de *T. vaporariorum*. Como repelente sobresalió el aceite de flor ya que obtuvo valores de más del 50 % a 3.5 mg mL⁻¹ y una CR₅₀ de 0.13 y 0.004 mg mL⁻¹ a la 4^a y 24 h, respectivamente. El *trans*-anetol fue más tóxico, causó más del 59 % de mortalidad a 10 mg mL⁻¹ y una CL₅₀ de 1.74 mg mL⁻¹. El aceite de planta fue el más efectivo al inhibir la oviposición en más del 47 % y una CIO₅₀ 3.5 mg mL⁻¹, sin embargo con el *trans*-anetol a concentraciones menores a 3.56 mg mL⁻¹ se estimuló la oviposición. Los aceites foliar y el floral fueron los más contundentes para inhibir el crecimiento ninfal y por tanto, para disminuir la viabilidad. Ninguno de los extractos alargó significativamente la duración del ciclo biológico de la mosca, sin embargo el aceite foliar a nivel de la CL₅₀, acortó el ciclo. Se registró un efecto fitotóxico con todos los aceites y el *trans*-anetol a partir de 10 mg mL⁻¹, efecto que se incrementó en función de la concentración. Los aceites esenciales de *T. filifolia* y el *trans*-anetol, representan una alternativa para el manejo de mosca blanca, pero su efectividad dependerá en gran medida de la concentración, estructuras para la extracción, formulación y oportunidad de aplicación en campo.

7. LITERATURA CITADA

- Abdullah N., M. M. J. Singh and B. S. Sohal. 2006. Behavioral hormoligosis in oviposition preference of *Bemisia tabaci* on cotton. *Pesticide Biochemistry Physiology* 84 (1): 10-16.
- Ascher K. R., M. Eliyahy, N. E. Nemny and J. Meisner. 1984. Neem seed kernel extract as an inhibitor or growth and fecundity in *Spodoptera littoralis*. p. 331-344. *In: Natural Pesticides from the Neem Tree (Azadirachta indica A. Juss) and other tropical plants.* Schmutterer, H., K. R. S Ascher (eds.). Proc. Second International Neem Conference, 1983. German Agency of Technical Cooperation. Alemania.
- Ball-Coelho B., A. J. Bruin, R. C. Roy and E. Riga. 2003. Forage pearl millet and marigold as rotation crops for biological control of root-lesion nematodes in potato. *Agronomy Journal* 95: 282-292.
- Baumann P. 2005. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review of Microbiology* 59: 155-189.
- Bethke J. A., T. D. Paine and G. S. Nuessly. 1991. Comparative biology, morphometrics, and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84 (4): 407-411.
- Byrne D. N. and T. S. Bellows. 1991. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36: 431-457.
- Calderón G. y J. Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2a. ed. Pátzcuaro, Michoacán, México. 1406 p.
- Cestari I. M., S. J. Sarti, C. M. Waib and A. Castello. 2004. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Scientific Note. Neotropical Entomology*. 33 (6): 805-807.
- Chiasson H., C. Vincent and N. J. Bostanian. 2004. Insecticidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. *Journal of Economic Entomology* 97 (4): 1378-1383.
- Choi W. I., E. H. Lee, B. R. Choi, H. M. Park and Y. J. Ahn. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 96 (5): 1479-1484.

- Costa H. S., T. J. Henneberry and N. C. Toscano. 1997. Effects of antibacterial materials on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition, growth, survival, and sex ratio. *Journal of Economic Entomology* 90 (2): 333-339.
- Coudriet D. L., N. Prabhaker and D. E. Meyerdirk. 1985. Sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae): Effects of neem-seed extract on oviposition and immature stages. *Environmental Entomology* 14: 776-779.
- Cubillo D., G. Sanabria y L. Hilje. 1999. Evaluación de repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. *Manejo Integrado de Plagas* 53: 65-72.
- Davison N., J. Dibble, M. Flint, P. Marer and A. Guye. 1991. Managing insects and mites with sprays oils. University of California. USA. 47 p.
- De Feo V., G. Della, E. Urrunaga, R. Urrunaga and F. Senatore. 1998. Composition of the essential oil of *Tagetes filifolia* Lag. *Flavour and Fragrance Journal* 13: 145-147.
- De Souza A. P. and J. D. Vendramim. 2004. Bioatividade de extratos orgânicos e aquosos de Meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B em tomateiro. *Arquivos do Instituto Biológico São Paulo* 71 (4): 493-497.
- De Souza C. A. S., C. A. M. Avancini and J. M. Wiest. 2000. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L.- Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Brazilian Journal of Veterinary Research of Animal Science* 37 (6): 429-433.
- Dittrich V. S. and G. H. Ernst. 1990. Chemical control and insecticide resistance of whiteflies. pp. 263-285. *In: Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Gerling, D. (ed). Intercep. Great Britain.
- Do-Hyoung Kim and Young-Joon, A. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruits against three coleopteran stored-products insects. *Pest Management Science* 57: 301-306.
- Eguaras M. J., S. Fuselli, L. Gende, R. Fritz, S. R. Ruffinengo, G. Clemente, A. González, P. N. Bailac and M. I. Ponzi. 2005. An *in vitro* evaluation of *Tagetes minuta* essential oil for the control of the honeybee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the parasitic mite *Varroa destructor*. *Journal of Essential Oil Research* 17: 336-340.
- Figmay S. L. R. 2004. Producción de aceites esenciales por arrastre de vapor. Disponible en: <http://www.figmay.com.ar> (Consulta: Enero 2008).

- Garmendia A. J. 2002. Repelencia de productos a base de ajo sobre la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Homoptera: Aleyrodidae) en condiciones de invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias. IFIT, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 74 p.
- Gerling D. 2002. Una reinterpretación sobre las moscas blancas. Manejo Integrado de Plagas 63: 13-21.
- Gioanetto F. y E. Cerna. 2000. Desarrollo actual de las investigaciones alelopáticas y de la producción de insecticidas botánicos en Michoacán (México). *In: Memorias del VI Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas.* Rodríguez H., C. (ed). Acapulco, Gro. México.
- Gómez P., D. Cubillo, G. A. Mora y L. Hilje. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II. Extractos vegetales. Manejo Integrado de Plagas 46: 17-25.
- Gottlieb Y., M. Ghanim, E. Chiel, D. Gerling, V. Portnoy, S. Steinberg, G. Tzuri, Horowitz, A. R. Belausov, E. Mozes-Daube, N. Kontsedalov, S. Gershon, M. S. Gal, N. Katzir and E. Zchori-Fein. 2006. Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Applied and Environmental Microbiology 72 (5): 3646-3652.
- Hoffman C. J. and D. N. Byrne. 1986. Effects of temperature and photoperiod upon adult eclosion of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. Entomologia Experimentalis et Applicata 42: 139-143.
- Kaul P. N., A. K. Bhattacharya, B. R. Rajeswara, K. V. Syamasundar and S. Ramesh. 2005. Essential oil composition of *Tagetes minuta* L. fruits. Journal of Essential Oil Research 17:184-185.
- Krishna A., S. Kumar, G. R. Mallavarapu and S. Ramesh. 2004. Composition of the essential oils of the leaves and flowers of *Tagetes erecta* L. Journal of Essential Oil Research 16: 520-522.
- Lui T. X. and P. A. Stansly. 1995. Toxicity and repellency of some biorational insecticides to *Bemisia argentifolii* on tomato plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 74: 137-143.
- Marotti M., R. Piccaglia, B. Biavati and I. Marotti. 2004. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. Journal of Essential Oil Research. 16: 440-444.

- Martínez M., A. Cortés y E. Ávila. 2004. Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. *Técnica Pecuaria en México* 42 (1): 105-111.
- May M. L. 1985. Thermoregulation. pp: 507-522. *In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Kerkut, G.A. and L.I. Gilbert (eds), Vol. 4. Pergamon Press. New York, USA.
- Moghaddam M., R. Omidbiagi and F. Sefidkon. 2007. Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. *Journal of Essential Oil Research* 19: 18-20.
- Muñoz A., E. J. Bottia, C. Y. Cardenas, J. G. Patino, O. L. Díaz, J. C. Martinez, V. V. Kouznetsov y E. E. Stashenko. 2007. Estudio comparativo sobre la capacidad de atrapamiento del catiónradical ABTS⁺ por los aceites esenciales de especies aromáticas con alto contenido de *trans*-anetol y estrangol. *Scientia et Technica* XII (33): 117-120.
- Natarajan K. and V. T. Sundaramurthy. 1990. Effect of neem oil on cotton whitefly (*Bemisia tabaci*). *Indian Journal of Agricultural Science* 60 (4): 290-291.
- Neher R. T. 1965. Monograph of the genus *Tagetes* (Compositae). Thesis Ph. D. (Botany). Indiana University. USA. 306 p.
- Neher R. T. 1968. The entobotany of *Tagetes*. *Economic Botany* 22: 317-325.
- Nivsarkar M., B. Cheruan and H. Padh. 2001. Alpha-terthienyl: A plant-derived new generation insecticide. *Current Science* 81 (6): 667-672.
- Ortega L. D. 2001. Control alternativo de mosca blanca. Folleto técnico. COLPOS, CONACYT y RAPAM. México. 16 p.
- Ortega A. L. D. 2008 a. Bioecología de las Moscas Blancas pp: 1-6. *In: Moscas Blancas: Temas selectos sobre su manejo*. Infante G., S. (ed). Editorial Colegio de Postgraduados- Mundi Prensa. México, D.F. 146 p.
- Ortega A. L. D. 2008 b. Manejo Integrado de Moscas Blancas. pp: 113-120. *In: Moscas Blancas: Temas selectos sobre su manejo*. S. Infante G. (ed). Editorial Colegio de Postgraduados- Mundi Prensa. México, D.F. 146 p.
- Ortega A. L. D., A. Lagunes, J. C. Rodríguez, C. Rodríguez, R. Alatorre y N. M. Barcenas. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum*

- (West.) (Homoptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. *Agrociencia* 32 (3): 249-254.
- Ortega A. L. D. and D. J. Schuster. 2000. Repellency to silverleaf whitefly adults. Gulf Coast Research y Education Center. University of Florida. Bradenton, FL. USA. 2 p.
- Perich M. J., C. Wells, W. Bertsch and K. E. Tredway. 1994. Toxicity of extracts from three *Tagetes* against adults and larvae of yellowfever mosquito and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 31 (6): 833-837.
- Philogéne B. J. R., C. Regnault-Roger y C. Vincent. 2004. Productos fitosanitarios insecticidas de origen vegetal: promesas de ayer y hoy. pp. 1-16. *In: Biopesticidas de origen vegetal*. C. Regnault-Roger, B. J. R. Philogéne and C. Vincent (eds.). Versión española. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Pichette A., F. X. Garneau, G. Collin, F. I. Jean, H. Gagnon and J. B. Lopez. 2005. Essential oils from Bolivia. IV. Compositae: *Tagetes aff. maxima* Kuntze and *Tagetes multiflora* H. B. K. *Journal of Essential Oil Research* 17: 27-28.
- Prabhaker N., Coudriet, L. D. and D. F. Meyerdirk. 1985. Insecticides resistance in the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 78: 748-752.
- Prange H. D. 1996. Evaporative cooling in insects. *Journal of Insect Physiology* 42(5):493-499.
- Pulido M. T. 1993. Plantas útiles para consumo familiar en la región de la frontera México-Belice. *Caribbean Journal of Science* 29 (3-4): 235-249.
- Reynolds L. B., J. W. Potter and B. R. Ball-Coelho. 2000. Crop rotation with *Tagetes* sp. is an alternative to chemical fumigation for control of root-lesion nematodes. *Agronomy Journal* 92: 957-966.
- Rodríguez H., C. 1995. Efeito de extratos acuosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de Doutor em Ciências. Brasil. 100 p.
- Rodríguez H., C. 2000a. Propiedades plaguicidas del epazote *Telexys ambrosioides* (Chenopodiaceae). *In: Memorias del VI Simposio Nacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas*. Rodríguez H., C. (ed). Acapulco, Gro. México.
- Rodríguez H., C. 2000b. Plantas contra plagas: potencial práctico del ajo, anona, nim, chile y tabaco. RAPAM. México. 133 p.

- Roel A. R., J. D Vendramim, R. T. S. Frighetto e N. Frighetto. 2000. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* (Swartz) (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29: 799-808.
- SAGARPA. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-081-FITO-2001, Manejo y eliminación de focos de infestación de plagas, mediante el establecimiento o reordenamiento de fechas de siembra, cosecha y destrucción de residuos. Disponible en: http://senasicaw.senasica.sagarpa.gob.mx/portal/html/senasica_principal/normalizacion/normas_sanidad_vegetal/NOM-081-FITO-2001.pdf (Consulta: 19 mayo 2008)
- Saito M. L., F. Oliveira, D. Fell, A. P. Takematsu, T. Jocys e L. J. Oliveira. 1989. Verificação da atividade inseticida de alguns vegetais brasileiros. Arquivos do Instituto Biológico São Paulo 56 (1/2): 53-59.
- SAS Institute. 1999. The SAS System for Windows v.8. SAS Institute. Carry, N.C.
- Saxena B. and J. B. Srivastava. 1972. *Tagetes minuta* L. oil- A new source of juvenile hormone mimicking substance. Indian Journal Experimental Biology 11: 56-58.
- Schmutterer H. and C. Hellpap. 1988. Effect of neem on insect pests of vegetables and fruit trees. Focus on Phytochemical pesticides. The neem tree. Jacobson, M. (ed.) 1: 69-87.
- Schmutterer H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology 35: 271-719.
- Schuster D. J., S. Thompson, L. D. Ortega and J. E. Polston. 2009. Evaluating repellents for the sweetpotato whitefly in the laboratory. Journal of Economic Entomology (in Press).
- Serrato M. A. 2003. Estado actual del conocimiento sobre *Tagetes* como ornamental. In: Plantas nativas de México con potencial ornamental. Análisis y perspectivas. Mejía, M. J. M. y F. A. Espinoza (Compiladores). UACH. México. 217 p.
- Serrato M. A. y M. L. Quijano. 1993. Usos de algunas especies de *Tagetes*: Revisión bibliográfica (1984-1992). pp. 228- 238. In: Memorias I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible: Importancia y Contribución de la Agricultura Tradicional. Comisión de Estudios Ambientales y Centro de Enseñanza, Investigación y Capacitación para el desarrollo Agrícola Regional (CEICADAR). Colegio de Postgraduados. Puebla, México.
- Serrato M. A., F. Díaz y J. S. Barajas. 2008. Composición del aceite esencial en germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la región Centro-Sur de México. Agrobiencia 42(3): 277-285.

- Serrato M. A., B. Reyes, L. Ortega, A. Domingo, N. Gómez, F. López, M. A. Sánchez, L. Carvajal, O. Jiménez, A. Morgado, E. Pérez, J. Quiroz y C. I. Vallejo. 2003. Anisillo (*Tagetes filifolia* Lag.): Recurso genético mexicano para controlar la mosquita blanca (*Bemisia* sp. y *Trialeurodes* sp.). *Revista del Jardín Botánico Nacional* 24 (1-2): 65-70.
- Serrato M. A., B. Reyes, A. Sánchez, A. Domingo, N. F. Gómez, F. López, O. García, J. M. López, F. Aguilar, G. Cruz, A. Pérez, E. Solórzano y S. Sánchez. 2004. Producción de aceite esencial y fenología preliminar de plantas de *Tagetes erecta* L., *Tagetes filifolia* Lag. y *Tagetes foetidissima* D. C. *Memorias del VII Congreso Nacional Agronómico*. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. pp. 13-22.
- Serrato M. A., J. S. Barajas, S. Bonilla, G. L. Basurto, J. Cortés, E. Solórzano y F. Díaz. 2005. Seasonal influence on phenology and essential oil content of *Tagetes filifolia* Lag. *Annalen der Meteorologie*, 41 (1): 82-85.
- Singh V., B. Singh and V. K. Kaul. 2003. Domestication of wild Marigold (*Tagetes minuta* L.) as a potential economic crop in Western Himalaya and North Indian plains. *Economic Botany* 57 (4): 535-544.
- Soule J. A. 1993. *Tagetes minuta*: A potential new herb from South America. pp. 649-654. *In*: *New Crops*. Janick, J. and J.E. Simon (eds), Wiley. U.S.A.
- Soule J. A. 1996. Novel annual and perennial *Tagetes*. pp. 546-551. *In*: *Progress in New Crops*. Janick, J. (ed.). ASHS Press. U.S.A.
- Summers C. G. 2002. Leaf surface selection by *Bemisia argentifolii* crawlers. *Southwest Entomologist* 27 (3/4): 263-267.
- Tomova B. S., J. S. Waterhouse and J. Doberski. 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on hid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115 (1): 153-159.
- Turner B. L. 1996. The Corps of Mexico-A systematic account of the family Asteraceae. Vol. 6, *Tageteae and Anthemideae*. *Phytologia Memoirs* 10:1-93.
- Umoru P. A., W. Powell and S. J. Clark. 1996. Effect of pirimicarb on the foraging behaviour of *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) On host-free and infested oilseed rape plants. *Bulletin Entomological Research* 86:193-201.
- Van Lenteren J. C. and L. P. J. J. Noldus. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioral and ecological aspects. pp. 47-80. *In*: *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Gerling D. (ed). Intercept. Great Britain.

- Weaver D. K., C. D. Wells, F. V. Dunkel, W. Bertsch, S. E. Sing and S. Sriharan. 1994. Insecticidal activity of floral, foliar, and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Economic Entomology* 87 (6): 1718-1725.
- Weaver D. K., J. L. Zettler, C. D. Wells, J. E. Baker, W. Bertsch and J. E. Throne. 1997. Toxicity of fractionated and degraded Mexican marigold floral extract to adult *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 90 (6): 1678-1683.
- Wolfe G. R., D. L. Hendrix and M. E. Salvucci. 1997. A thermoprotective role for sorbitol in the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Insect Physiology* 44: 597-603.
- Wright R. H. 1975. How mosquito repellents repell. *Scientific American* 233 (1): 104-111.
- Zchori-Fein E. and J.K. Brown, 2002. Diversity of Prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society American* 95:711-718.
- Zhang K. and Y. Zuo. 2004. GC-MS Determination of flavonoids and phenolic and benzoic acids in human plasma after consumption of cranberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 222-227.
- Zygodlo J. A., A. L. Lamarque, D. M. Maestri, C. A. Guzman and N. R. Grosso. 1993. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. *Journal of Essential Oil Research* 5: 679-681.

8. APENDICE

8.1. Bioensayo preliminar de repelencia de adultos de mosca blanca

Cuadro 8. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h postaplicación de extractos acuosos de *T. filifolia*.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Floral				Foliar				Planta				Raíz			
	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h
100	57.8 a	42.4 a	15.2 a	20.4 a	41.6 a	17.3 a	8.5 a	23.5 a	33.1 a	22.6 a	6.8 a	19.9 a	37.3 b	11.6 a	5.1 a	28.9 a
10	42.3 a	20.2 b	10.6 a	24.0 a	44.6 a	27.7 a	18.1 a	33.2 a	32.8 a	18.8 a	14.9 a	27.3 a	40.8 b	26.1 a	19.1 a	26.5 a
1	53.7 a	37.3 b	17.3 a	37.5 a	41.5 a	39.3 a	21.6 a	35.0 a	38.9 a	18.9 a	9.4 a	34.9 a	50.9 a	27.4 a	15.9 a	22.7 a
0.1	31.9 a	17.3 b	20.4 a	30.0 a	36.8 a	31.6 a	17.8 a	39.5 a	46.5 a	28.6 a	16.9 a	38.5 a	48.1 a	28.3 a	15.9 a	28.9 a
0.01	33.0 a	17.6 b	6.2 a	32.7 a	37.0 a	36.7 a	14.5 a	31.6 a	37.9 a	27.8 a	20.5 a	32.2 a	54.4 a	24.8 a	20.6 a	22.2 a
0.001	38.0 a	23.2 b	14.9 a	29.7 a	32.7 a	21.1 a	19.4 a	36.9 a	39.4 a	17.2 a	13.2 a	44.4 a	55.9 a	36.7 a	27.1 a	31.9 a
0.0001	50.2 a	25.8 b	24.6 a	30.1 a	33.7 a	33.6 a	15.2 a	31.2 a	37.9 a	19.3 a	6.5 a	27.2 a	46.8 b	21.5 a	13.3 a	30.2 a
Testigo	11.3 a	9.3 c	8.8 a	9.5 a	11.7 a	10.9 a	11.7 a	11.2 a	11.1 a	9.4 a	4.3 a	10.9 a	6.7 c	5.2 a	4.4 a	10.1 a
C. V.	53.8	50.3	54.2	49.6	50.8	58.7	58.1	42.8	44.9	75.5	99.1	57.0	40.3	67.7	74.8	40.5
D. M. S.	50.2	28.0	19.0	31.1	49.7	39.3	21.8	30.4	36.9	36.4	27.2	39.3	40.7	36.4	26.4	24.2

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 9. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h postaplicación de turbios de *T. filifolia*.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Floral			Foliar			Planta						
	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a		
100	47.5 a	28.7 b	23.7 a	33.3 a	71.3 a	48.2 a	31.9 a	39.0 a	62.0 a	46.2 a	20.0 a	24 h	34.0 a
10	49.7 a	35.7 a	25.2 a	25.7 a	36.7 b	30.0 b	21.2 a	20.0 a	48.7 b	28.7 b	22.5 a	40.0 a	40.0 a
1	36.5 b	31.4 b	14.0 a	31.6 a	45.2 b	46.7 a	21.4 a	32.0 a	37.3 b	20.4 c	16.9 a	17.6 a	17.6 a
0.1	40.4 b	29.8 b	14.6 a	35.1 a	35.9 b	32.1 b	12.4 a	19.8 a	41.0 b	22.2 c	13.7 a	34.0 a	34.0 a
0.01	32.0 b	28.0 b	18.0 a	22.7 a	51.4 b	28.8 b	13.1 a	17.3 a	40.4 b	20.9 c	17.1 a	32.7 a	32.7 a
0.001	32.9 b	20.5 b	15.8 a	43.3 a	56.7 a	27.1 b	25.9 a	21.7 a	35.9 c	19.7 c	22.2 a	23.3 a	23.3 a
0.0001	46.7 a	17.3 b	10.7 a	30.1 a	44.3 b	25.5 b	17.8 a	23.7 a	30.1 d	16.2 c	16.4 a	25.5 a	25.5 a
Testigo	10.9 c	4.9 c	8.5 a	11.7 a	11.4 c	9.5 c	6.02a	11.3 a	8.4 e	7.3 c	9.4 a	11.1 a	11.1 a
C. V.	33.9	50.9	65.5	49.6	33.3	33.7	61.4	52.3	31.1	40.02	47.1	62.1	62.1
D. M. S.	29.8	29.6	25.4	40.0	41.5	24.8	27.3	34.2	28.0	21.6	19.3	47.9	47.9

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 10. Repelencia preliminar (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h postaplicación de aceites de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Aceites															
	Floral						Planta						<i>trans</i> -anetol			
	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h	4 ^a	5 ^a	6 ^a	24 h
100	98.3 a	93.5 a	94.7 a	100 a	94.1 a	95.6 a	98.5 a	100 a	98.4 a	97.5 a	98.5 a	100 a	97.2 a	100 a	98.5 a	100 a
10	87.2 b	72.6 b	61.4 b	94.8 a	88.1 b	84.4 b	84.4 a	95.0 a	88.2 b	88.3 a	85.9 b	96.2 b	73.8 b	65.9 b	76.4 b	96.2 b
1	61.0 c	47.9 c	44.0 c	80.9 b	51.1 c	58.4 c	49.9 b	84.0 b	64.3 c	55.4 b	69.5 c	84.5 c	60.7 c	49.4 c	47.6 c	71.0 c
0.1	49.7 e	42.5 d	36.2 d	56.0 c	39.8 c	25.0 d	22.1 c	56.5 c	36.2 e	25.0 c	23.7 d	63.3 d	21.4 c	12.7 e	13.9 e	40.9 e
0.01	49.7 e	25.5 e	15.2 e	56.7 c	23.7 c	21.0 d	6.9 d	34.6 d	39.4 d	29.0 c	26.3 d	40.5 f	26.5 c	26.6 d	25.2 d	55.9 d
0.001	53.2 d	24.7 e	15.3 e	56.8 c	34.9 c	10.4 d	11.8 c	35.1 d	22.1 f	28.9 c	16.9 d	43.1 f	25.0 c	25.0 e	16.2 e	51.7 e
0.0001	26.6 d	21.4 e	20.0 e	39.8 d	30.3 c	15.7 d	19.3 c	42.2 d	31.8 f	24.6 c	27.4 d	49.9 e	26.8 c	15.2 e	22.6 d	41.5 e
Testigo	12.0 g	3.7 f	4.0 f	12.0 e	10.7 c	11.7 d	11.3 d	16.7 e	8.9 g	10.3 c	11.6 d	11.6 g	11.4 c	11.5 c	11.4 e	11.7 f
C. V.	24.4	28.9	25.2	25.7	48.1	31.3	29.6	19.9	22.7	22.5	20.9	16.4	21.7	26.3	31.8	25.8
D. M. S.	31.1	28.5	21.7	45.1	35.8	29.9	26.7	28.0	26.2	23.9	22.3	34.5	22.1	23.9	29.4	42.7

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), C. V. = Coeficiente de Variación, D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa.

8.2. Bioensayo preliminar de mortalidad y oviposición de adultos de mosca blanca.

Cuadro 11. Mortalidad preliminar (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a las 24 h postaplicación de extractos de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Concentración mg mL ⁻¹	Aceites			<i>trans</i> - <i>anetol</i>	Acuosos				Turbios		
	Floral	Foliar	Planta		Floral	Foliar	Planta	Raíz	Floral	Foliar	Planta
100	78.9 a	88.2 a	72.8 a	98.7 a	3.6 a	7.9 a	12.4 a	2.3 a	13.3 a	8.20a	5.2 a
10	15.3 b	27.9 b	18.3 b	42.9 b	9.9 a	12.4 a	8.3 a	1.4 a	3.8 a	11.2 a	8.1 a
1	20.5 b	20.5 b	20.1 b	30.9 b	10.3 a	3.1 a	18.6 a	3.7 a	8.5 a	7.6 a	2.6 a
0.1	19.9 b	13.2 b	9.9 b	19.3 b	8.8 a	5.9 a	7.4 a	4.0 a	8.1 a	16.9 a	8.6 a
0.01	16.9 b	19.0 b	12.4 b	22.7 b	2.4 a	6.0 a	18.0 a	9.5 a	9.6 a	7.5 a	6.1 a
0.001	22.1 b	13.3 b	14.9 b	21.1 b	4.7 a	8.6 a	12.4 a	7.3 a	15.2 a	11.1 a	5.9 a
0.0001	15.9 b	13.5 b	11.0 b	11.0 b	6.1 a	3.5 a	5 a	9.4 a	8.4 a	6.2 a	1.2 a
Testigo	5 b	8.8 b	8.4 b	11.9 b	3.7 a	2.5 a	4.2 a	2.5 a	9.9 a	1.2 a	11.2 a
D. M. S.	25.3	23.8	31.3	40.0	15.9	17.3	15.1	11.2	15.4	16.5	17.6

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 12. Oviposición (%) de adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a las 24 h postaplicación de extractos de *T. filifolia* y *trans*-anetol.

Concentración mg mL ⁻¹	Aceites			<i>trans</i> - <i>anetol</i>	Acuosos				Turbios		
	Floral	Foliar	Planta		Floral	Foliar	Planta	Raíz	Floral	Foliar	Planta
100	1.1 a	1.3 a	7.3 a	7.0 a	70.7 a	96.6 a	58.6 a	100 a	42.2 a	36.8 a	29.7 a
10	46.2 b	31.2 a	48.2 b	34.1 a	80.8 a	100 a	81.5 a	100 a	16.3 a	66.1 a	39.2 a
1	68.4 b	58.6 a	100 b	100 a	100 a	100 a	84.9 a	76.1 a	22.6 a	100 a	89.8 a
0.1	56.3 b	100 a	100 c	100 a	74.8 a	100 a	94.9 a	100 a	58.9 a	95.3 a	54.7 a
0.01	57.4 b	100 a	99.1 b	34.8 a	100 a	80.2 a	89.7 a	100 a	75.9 a	100 a	64.8 a
0.001	90.7 c	100 a	69.4 b	100 a	71.2 a	65.6 a	84.4 a	100 a	38.4 a	100 a	81.8 a
0.0001	178. e	100 a	100 b	61.7 a	74.3 a	100 a	89.4 a	100 a	77.6 a	49.5 a	47.8 a
D. M. S.	86.0	255.5	202.2	213.8	113.4	140.8	106.0	183.5	88.6	334.7	102.8

Medias con la misma letra en una columna no difieren estadísticamente entre sí ($p \leq 0.05$), D. M. S. = Diferencia Mínima Significativa.