



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

## COMPATIBILIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES CON EL PARASITOIDE *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL CONTROL DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

**EDGAR EDUARDO MENDOZA GARCÍA**

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2015

La presente tesis titulada: **COMPATIBILIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES CON EL PARASITOIDE *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL CONTROL DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)** realizada por el alumno **EDGAR EDUARDO MENDOZA GARCÍA** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**  
**FITOSANIDAD**  
**ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO   
\_\_\_\_\_  
**DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS**

ASESOR   
\_\_\_\_\_  
**DR. MIGUEL ÁNGEL SERRATO CRUZ**

ASESOR   
\_\_\_\_\_  
**DR. JUAN ANTONIO VILLANUEVA JIMÉNEZ**

ASESOR   
\_\_\_\_\_  
**DR. JOSÉ ISABEL LÓPEZ ARROYO**

ASESOR   
\_\_\_\_\_  
**DR. RAFAEL PÉREZ PACHECO**

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Octubre de 2015.

Esta tesis titulada **“COMPATIBILIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES CON EL PARASITOIDE *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL CONTROL DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)”**, se realizó bajo la dirección de la **Dra. Laura Delia Ortega Arenas**, Profesora Investigadora del Colegio de Postgraduados, como parte del megaproyecto **“MANEJO DE LA ENFERMEDAD HUANGLONGBING (HLB) MEDIANTE EL CONTROL DE POBLACIONES DEL VECTOR *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS”**, bajo la responsabilidad de **Dr. J. Isabel López Arroyo** y con el apoyo financiero **FONSEC-SAGARPA-CONACYT** con clave **2009-108591**.

# COMPATIBILIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES CON EL PARASITOIDE

*Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL CONTROL DE

*Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Edgar Eduardo Mendoza-García, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2015

## RESUMEN

Los extractos vegetales son métodos alternos para el manejo de plagas, compatibles con otras tácticas de control y caracterizados por su bajo impacto en ecosistemas. El objetivo de este estudio fue determinar la compatibilidad de aceites esenciales de *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), *Tagetes coronopifolia* Willd., *T. lemmonii* Gray, *T. lucida* Cav. y *T. terniflora* Kunth (Asteraceae) con el parasitoide *Tamarixia radiata* Waterson (Hymenoptera: Eulophidae) para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), vector de la bacteria causal del Huanglongbing, una enfermedad letal de los cítricos.

En una primera fase, se determinó la composición química de los aceites de la parte aérea de las plantas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). En total se identificaron de 18 a 31 compuestos, con abundancia de *trans*-anetol y  $\alpha$ -pineno para *F. vulgare*; alcanfor, eucaliptol y  $\alpha$ -pineno para *R. officinalis*; D-limoneno,  $\beta$ -mirceno, canfeno y germacreno D para *S. molle*; mientras que  $\beta$ -ocimeno, 4-etil-4-metil-1-hexano, anetol, *trans*-tagetona, *cis*-tagetona, verbenona, *cis*-verbenona y  $\beta$ -cariofileno fueron comunes para *T. coronopifolia*, *T. lemmonii*, *T. lucida* y *T. terniflora*.

En la fase dos, se determinaron los efectos tóxicos y repelentes de los aceites esenciales sobre ninfas y adultos de *D. citri*. Para determinar el efecto tóxico, los insectos se expusieron a discos de hoja de *Citrus sinensis* cv. 'Valencia' (Rutaceae) tratados por aspersión e inmersión con diferentes concentraciones de aceites. La repelencia se determinó al contabilizar los insectos posados en hojas tratadas dentro de arenas experimentales a las 4, 5, 6 y 24 h. Los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* a 10

mg mL<sup>-1</sup> causaron alta mortalidad sobre ninfas de *D. citri*; mientras que para adultos sobresalieron los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* a partir de 20 mg mL<sup>-1</sup>, a las 24 h posteriores de la aplicación. Los aceites extraídos de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* revelaron una mayor repelencia (> 92%) a 40 mg mL<sup>-1</sup>; esto se correlacionó con la concentración y disminuyó con el tiempo.

En la fase tres, se exploró la compatibilidad del parasitoide *T. radiata* con el uso de aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* para el manejo de *D. citri*. Se evaluó el efecto de tres Concentraciones Letales (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>) de los aceites para *D. citri* sobre adultos del parasitoide. En una primera prueba de compatibilidad se aplicó de manera directa las concentraciones de los aceites sobre ninfas de *D. citri* y la posterior exposición de éstas a *T. radiata*. La segunda prueba consistió en exponer las ninfas al parasitoide y posteriormente la aplicación de los aceites. Los aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* no causaron mortalidad significativa en adultos de *T. radiata*; sin embargo, *T. terniflora* resultó ligeramente nociva (IOBC) al parasitoide. El testigo no tratado con aceite presentó mayor parasitismo y depredación por *T. radiata*. El manejo de *D. citri* es factible al permitir primero la acción del parasitoide y después se aplica la CL<sub>30</sub> del aceite de *T. lemmonii*, *T. coronopifolia* y/o *F. vulgare*, debido a que se encontraron parasitismo y depredación altos en estas combinaciones. La selectividad de los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* sobre *T. radiata* permite considerarlos en programas de manejo integrado de *D. citri*.

**PALABRAS CLAVES:** Control biológico, Cítricos, MIP, plantas aromáticas, selectividad.

**COMPATIBILITY OF PLANT EXTRACTS WITH *Tamarixia radiata* PARASITOID  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) IN THE CONTROL OF *Diaphorina citri*  
(HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

**Edgar Eduardo Mendoza-García, Dr.  
Colegio de Postgraduados, 2015**

**ABSTRACT**

Plant extracts are alternative methods for pest management; they are considered compatible with other control tactics and characterized for its low impact in ecosystems. The objective of this study was to determine the compatibility of plant essential oils from *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), *Tagetes coronopifolia* Willd., *T. lemmonii* Gray., *T. lucida* Cav., and *T. terniflora* Kunth (Asteraceae) with the parasitoid *Tamarixia radiata* Waterson (Hymenoptera: Eulophidae) for the control of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), the vector of Huanglongbing, a lethal disease of citrus.

In a first phase, chemical composition of extracted oils from the aerial part of the plants was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC / MS). In total, 18 to 31 compounds were identified, major components were *trans*-anethole and  $\alpha$ -pinene in *F. vulgare*; camphor, eucalyptol and  $\alpha$ -pinene in *R. officinalis*; D-limonene,  $\beta$ -myrcene, canfene and germacrene in *S. molle*; while  $\beta$ -ocimene, 4-ethyl-4-methyl-1-hexene, anethole, *trans*-tagetone, *cis*-tagetone, verbenone, *cis*-verbenone and  $\beta$ -caryophyllene were common in *T. coronopifolia*, *T. lemmonii*, *T. lucida* and *T. terniflora*.

In the seconds phase, toxicity and repellency of the extracted oils were determined on nymphs and adults of *D. citri*. In order to determine toxic effects, the insects were exposed to leaf discs of *Citrus sinensis* cv. 'Valencia' that were previously treated by spraying or immersion with different concentrations of extracted oils. Repellency was assessed by the number of insects that remained on the treated leaves in experimental arenas after 4, 5, 6 and 24 h of exposition to the treatments. *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T.*

*lemmonii* and *T. terniflora* oils at 10 mg mL<sup>-1</sup> caused high mortality on *D. citri* nymphs; while in adults, *F. vulgare*, *T. coronopifolia* and *T. lemmonii* caused such effects at 20 mg mL<sup>-1</sup> after 24 h of application. Oils extracted from *T. lucida*, *T. coronopifolia* and *T. terniflora* exhibited higher repellency (>92 %) at 40 mg mL<sup>-1</sup>; this was correlated with concentration and decreased over time.

In the third phase, the compatibility of the parasitoid *T. radiata* with the use of essential oils of *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* and *T. terniflora* for the management of *D. citri* was explored. Three Lethal Concentrations (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> and CL<sub>80</sub>) of oils for *D. citri* were evaluated on parasitoid adults. A first compatibility test was performed with the direct application of the concentration oils on *D. citri* nymphs and subsequent exposure to *T. radiata*. In a second test, nymphs were exposed to parasitoids and posteriorly the oils were applied. *F. vulgare*, *T. coronopifolia* and *T. lemmonii* oils produced no significant mortality in *T. radiata* adults; however, *T. terniflora* oil was harmful (IOBC) for this parasitoid. In the untreated control, there was recorded an increase in parasitism and predation by *T. radiata*. *D. citri* management is viable allowing the action of the parasitoid and afterwards applying CL<sub>30</sub> oil of *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* and *F. vulgare* because high parasitism and predation were found when such combination was used. The selectivity of *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* and *F. vulgare* on *T. radiata* suggest to consider their use in integrated pest management programs of *D. citri*.

**KEYWORDS:** Biological control, citrus, IPM, aromatic plants, selectivity.

## DEDICATORIA

A mis padres: **Juan Mendoza y Cresencia García**

Padres, dedico este triunfo a ustedes, es fruto de la semilla que sembraron. **Papá**, agradezco por enseñarnos la responsabilidad de un trabajo, de luchar por nuestro sueño, por tus consejos valiosos que me has dado, por ser un ejemplo para mí y mis hermanos. **Mamá**, recuerdo los momentos difíciles que pasamos juntos, cuántos obstáculos vencimos, recuerdo los momentos en que llorábamos juntos, pero también las que reímos de felicidad al ver culminar otra meta más. Gracias mami por ser mi pilar en las buenas y en las malas, por tus consejos y tus motivaciones en tiempo de desesperación y tristeza. Hoy te puedo decir LO LOGRAMOS MAMI.

**A M. Pineda Rojas**

Por todo tu amor, apoyo y paciencia que me has brindado. Por soportarme y entenderme en mis ratos de frustración; por ser mi pilar en momentos de soledad; por estar en las buenas y en las malas a mi lado. Te amo, nunca lo olvides.

A mis hermanos: **Soledad, Antonio, Juan, Adrián, Arturo, Yesenia y Eneida**

Hermanos, gracias por su apoyo, comprensión y cariño. Por estar ahí conmigo sencillamente... siempre. Gracias por sus consejos y por sus palabras de motivación para hacerme seguir adelante. Los quiero mucho, nunca lo olviden.

A mis **18 sobrinos e hijos (Mónica, Karla, Ángel, Sabina, Betsabé y Elvis)**

Por todo el amor, cariño y alegría que me han brindado. Gracias por regalarme ratos de diversión haciéndome sentir niño de nuevo. Mis niños, luchen por sus sueños y vean el estudio no como una obligación sino como superación personal en todos los sentidos. Los amo y siempre están presentes en mi corazón.

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por permitir llegar a buen término mis estudios. Por ser el cimiento de mi fe y refugio de mis ratos de soledad. Por atender a mis suplicas cuando más te necesitaba. Por tu infinita bondad y misericordia con esta oveja tuya.

Al pueblo de México, que mediante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), hizo posible mis estudios doctorales.

Al **Colegio de Postgraduados** Campus Montecillo y al Programa de **Fitosanidad-Entomología y Acarología**, por brindarme la oportunidad de formar parte de su alumnado en su posgrado de calidad.

A la **Dra. Laura D. Ortega Arenas** por su valiosa dirección durante estos cuatro años, su motivación, enseñanza, sobre todo por sus consejos y regaños, los cuales me motivaron a seguir adelante, adquiriendo pasión por la ciencia e investigación. Gracias por su apoyo y por creer en mí.

Al **Dr. Miguel A. Serrato Cruz** por su apoyo en la realización de este trabajo, confianza y consejos, por sembrarme la semilla del cuestionamiento de las cosas mediante sus grandes y amenas charlas. Pero sobre todo por sus valiosas contribuciones, asesorías y enseñanzas que contribuyeron a la culminación de este trabajo.

Al **Dr. Rafael Pérez Pacheco** por su asesoramiento, contribuciones y aportaciones para la culminación de este trabajo. Asimismo, por su valiosa amistad y sus atinados consejos en momentos de desesperación. Gracias por motivarme a seguir preparándome en este campo del saber.

Al **Dr. Juan A. Villanueva Jiménez** por su confianza, asesorías y aportaciones para mejorar este trabajo. Gracias por su tiempo en la revisión de mis escritos, pero sobre todo por su valiosa amistad.

Al **Dr. J. Isabel López Arroyo** por su asesoramiento, contribución y revisión de este trabajo, ayudando así al enriquecimiento del mismo.

Al **Dr. Héctor González Hernández** por sus consejos y su participación como sinodal.

Al **Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) de Tecomán, Colima** por la donación de adultos del parasitoide para este estudio.

Al **Dr. Ariel W. Guzmán Franco** y al **Dr. Humberto Vaquera Huerta** por su apoyo y asesoría en los análisis estadísticos de este trabajo.

A **M. C. Jorge Valdez Carrasco** por su apoyo en la toma de imágenes de los especímenes en el presente trabajo. De igual manera al **M. C. Emmanuel Ibarra Estrada** y al Laboratorio de Fisiología de Frutales de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) por su apoyo en los estudios fitoquímicos de los aceites esenciales evaluados.

A mi amiga y confidente **Karla Flores Maldonado**, por estar en las buenas y en las malas a mi lado. Por tus atinados consejos en los momentos de soledad y desesperación, por hacer amena mi estancia en Texcoco, por tus regaños y consejos que me levantaban mi estado de ánimo. Gracias por ser más que una amiga.

A la familia **Hernández Correa (Miguel Ángel, Lourdes, Miguel jr. y Diego Adair)** por todo su apoyo en mi estancia en Texcoco, Edo. de México. Pero sobre todo por hacerme sentir parte de su familia.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Insectos Vectores, en especial a **Flor y Karen** por su valiosa amistad y confianza.

Al **Sr. Magdaleno Caballero Espinoza** por su apoyo en el mantenimiento de la cría de insectos.

A mis amigos **Guadalupe Velazco, Beatriz Pinacho, Alejandra Buenrostro, Guadalupe Carrillo, Mariana Espinoza, Iliana Pacheco, Karla Ibarra, Naitzy Serrato, Nadia Gómez, Sarah Patiño, Edith Blanco, Silvia Colín y Salvador Moreno** que con su apoyo y amistad me impulsaron a seguir adelante.

A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron en la culminación de esta investigación. *¡Mil gracias!*

Hay hombres que luchan un día y son buenos.  
Hay otros que luchan un año y son mejores.  
Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos.  
Pero hay los que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles.

***Bertolt Brecht***

Mi abuelo solía decir que una vez en la vida necesitas a un médico,  
un abogado, un policía y un predicador, pero todos los días,  
tres veces al día necesitas a un campesino.

***B. Schoepp***

## CONTENIDO

	Pág.
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	xiv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xv
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
1.1 Importancia de la citricultura en México.....	4
1.2 Importancia y distribución de <i>Diaphorina citri</i> .....	5
1.3 Hospederos de <i>Diaphorina citri</i> .....	6
1.4 Métodos de control de <i>Diaphorina citri</i> .....	7
1.4.1 Control legal.....	7
1.4.2 Control químico.....	7
1.4.3 Control biológico.....	8
1.4.4 Control con extractos vegetales.....	10
1.4.4.1 <i>Foeniculum vulgare</i> .....	12
1.4.4.2 <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	15
1.4.4.3 <i>Schinus molle</i> .....	18
1.4.4.4 Género <i>Tagetes</i> .....	20
1.5 Compatibilidad extractos vegetales-enemigos naturales.....	29
<b>CAPÍTULO II. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE SIETE PLANTAS AROMÁTICAS CON POTENCIAL INSECTICIDA</b> .....	33
2.1 RESUMEN.....	33
2.2 ABSTRACT.....	34
2.3 INTRODUCCIÓN.....	35
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.4.1 Material vegetal y obtención de aceites.....	38
2.4.2 Identificación de compuestos.....	39
2.5 RESULTADOS.....	40
2.6 DISCUSIÓN.....	48
2.7 CONCLUSIONES.....	52
<b>CAPÍTULO III. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES EN <i>Diaphorina citri</i> (HEMIPTERA: LIVIIDAE)</b> .....	53
3.1 RESUMEN.....	53
3.2 ABSTRACT.....	54
3.3 INTRODUCCIÓN.....	55
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
3.4.1 Cría de insectos.....	56
3.4.2 Material vegetal y extracción de aceites.....	57
3.4.3 Preparación de extractos.....	57

3.4.4 Mortalidad de ninfas.....	58
3.4.5 Mortalidad de adultos.....	59
3.4.6 Repelencia de adultos del psílido.....	59
3.4.7 Análisis estadístico.....	60
3.5 RESULTADOS.....	61
3.5.1 Mortalidad de ninfas.....	61
3.5.2 Mortalidad de adultos.....	61
3.5.3 Repelencia de adultos del psílido.....	64
3.6 DISCUSIÓN.....	66
3.7 CONCLUSIONES.....	69
3.8 ANEXOS.....	70
<b>CAPÍTULO IV. COMPATIBILIDAD DE ACEITES ESENCIALES DE CUATRO PLANTAS AROMÁTICAS CON <i>Tamarixia radiata</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL MANEJO DE <i>Diaphorina citri</i> (HEMIPTERA: LIVIIDAE).....</b>	<b>74</b>
4.1 RESUMEN.....	74
4.2 ABSTRACT.....	75
4.3 INTRODUCCIÓN.....	76
4.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	77
4.4.1 Cría de insectos.....	77
4.4.2 Material vegetal y extracción de aceites.....	78
4.4.3 Tratamiento evaluados.....	79
4.4.4 Parasitismo de <i>T. radiata</i> .....	79
4.4.5 Toxicidad de aceites en adultos de <i>T. radiata</i> .....	80
4.4.6 Pruebas de compatibilidad.....	81
4.4.7 Análisis estadístico.....	81
4.5 RESULTADOS.....	82
4.5.1 Parasitismo de <i>T. radiata</i> .....	82
4.5.2 Toxicidad de aceites en adultos de <i>T. radiata</i> .....	83
4.5.3 Pruebas de compatibilidad.....	85
4.5.3.1 Parasitismo.....	85
4.5.3.2 Depredación.....	86
4.5.3.3 Mortalidad por aceites esenciales.....	89
4.6 DISCUSIÓN.....	92
4.6.1 Toxicidad de aceites en adultos de <i>T. radiata</i> .....	92
4.6.2 Pruebas de compatibilidad.....	93
4.7 CONCLUSIONES.....	94
<b>CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>96</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>98</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1.1	Composición química (%) del aceite esencial de <i>Foeniculum vulgare</i> .	14
1.2	Composición química (%) del aceite de la parte aérea de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	17
1.3	Composición química (%) de aceites esenciales de la parte aérea de cuatro especies de <i>Tagetes</i> .	28
2.1	Composición química (%) del aceite esencial de la parte aérea de <i>F. vulgare</i> , <i>R. officinalis</i> y <i>S. molle</i> .	42
2.2	Composición química (%) del aceite esencial de la parte aérea de <i>T. coronopifolia</i> , <i>T. lemmonii</i> , <i>T. lucida</i> y <i>T. terniflora</i> (Asteraceae).	46
3.1	Mortalidad promedio (% $\pm$ SD) de ninfas de tercer instar de <i>Diaphorina citri</i> a 24 h posteriores a la aplicación de cuatro aceites esenciales.	62
3.2	Mortalidad promedio (% $\pm$ SD) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> por la aplicación de tres aceites esenciales a las 24 y 48 h después de la aplicación.	63
3.3	Porcentaje (%) de repelencia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> expuestos al aceite esencial de <i>Tagetes coronopifolia</i> .	64
3.4	Porcentaje (%) de repelencia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> expuestos al aceite esencial de <i>Tagetes lucida</i> .	65
3.5	Porcentaje (% $\pm$ SE) de repelencia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> expuestos al aceite esencial de <i>Tagetes terniflora</i> .	66
3.6	Mortalidad preliminar (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> después de la aplicación de cuatro aceites esenciales.	70
3.7	Mortalidad preliminar (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> tratados con extractos acuosos y etanólicos de tres especies de <i>Tagetes</i> .	70
3.8	Mortalidad preliminar (%) de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> después de 24 h de la aplicación de tres aceites esenciales.	71
3.9	Mortalidad preliminar (%) de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> tratadas con extractos acuosos y etanólicos de tres especies de <i>Tagetes</i> .	71
3.10	Repelencia preliminar (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> a la 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de aceites esenciales.	72
3.11	Repelencia preliminar (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> a 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de extractos acuosos y etanólicos de tres especies de <i>Tagetes</i> .	73
4.1	Aceites esenciales y concentraciones evaluadas en pruebas de compatibilidad.	79
4.2	Toxicidad de cuatro aceites esenciales (% mortalidad $\pm$ SD) en adultos del parasitoide <i>Tamarixia radiata</i> .	83

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1.1	Dispersión de <i>Diaphorina citri</i> en el territorio Mexicano.	6
1.2	Planta de hinojo <i>Foeniculum vulgare</i> Apiaceae.	13
1.3	Planta de romero <i>Rosmarinus officinalis</i> (Labiatae).	16
1.4	Árbol de Pirú <i>Schunus molle</i> (Anacardiaceae).	19
1.5	Planta de sonajilla <i>Tagetes coronopifolia</i> Asteraceae.	22
1.6	Planta de rudilla <i>Tagetes lemmonii</i> (Asteraceae).	23
1.7	Planta de pericón <i>Tagetes lucida</i> Asteraceae.	24
1.8	Planta de <i>Tagetes terniflora</i> (Asteraceae).	26
2.1	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>F. vulgare</i> .	40
2.2	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>R. officinalis</i> .	41
2.3	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>S. molle</i> .	42
2.4	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>T. coronopifolia</i> .	44
2.5	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>T. lemmonii</i> .	45
2.6	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>T. lucida</i> .	45
2.7	Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de <i>T. terniflora</i> .	46
3.1	Arena experimental usada en pruebas de repelencia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> .	60
4.1	Dispositivo usado en los bioensayos con el parasitoide <i>Tamarixia radiata</i> .	80
4.2	Estados de desarrollo de <i>Tamarixia radiata</i> . A = larva; B = prepupa; C y D = pupa.	82
4.3	Parasitismo (%) de <i>Tamarixia radiata</i> (a) a las 24 y (b) 48 h de exposición a ninfas de <i>Diaphorina citri</i> .	84
4.4	Parasitismo y depredación de <i>Tamarixia radiata</i> en ninfas de <i>Diaphorina citri</i> tratada con los cuatro aceites esenciales (dato promedio), en comparación con un testigo al que sólo se expuso a tres parejas del parasitoide.	85
4.5	Efecto de (a) las concentraciones letales de los aceites esenciales y (b) orden de aplicación (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite) en el parasitismo de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> . (c) Componentes de la	

	mortalidad total (parasitismo, depredación y mortalidad por aceite) por la interacción del tipo de aceite y las concentraciones evaluadas.	87
4.6	Efecto de (a) las concentraciones letales y (b) el orden de aplicación de los aceites esenciales sobre ninfas depredadas.	88
4.7	Proporción de mortalidad de ninfas de <i>D. citri</i> por efecto de (a) la concentración letal y (b) el orden de aplicación (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite esencial) de los aceites esenciales.	90
4.8	Efectos de los aceites esenciales sobre ninfas de <i>Diaphorina citri</i> . (a, b) Inhibición de la muda, (c) remoción de grasa corporal, (d) primordios alares retraídos hacia la parte ventral, (e) deshidratación y coloración brillante del cuerpo, y (e, f) derrame del pigmento ocular.	91

---

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Las generaciones presentes tienen en sus manos la oportunidad de descubrir métodos alternos para el manejo de plagas que sean compatibles con la naturaleza y otros métodos de control, con el propósito de conservar los ecosistemas y realizar una producción racional (Isman, 2000; Celis *et al.*, 2009). Una de las principales vías a seguir es la integración de diversas herramientas de manejo, es decir, considerar el sistema productivo en conjunto para alcanzar una producción sostenida, en forma económica aceptable y asegurar el bienestar de los productores (Evrong, 2003). La investigación de recursos bióticos para desarrollar tecnologías que favorezca el manejo de plagas es una de las vías que se puede seguir para contribuir al enfoque holístico para la solución de problemas. En particular, los estudios sobre sustancias vegetales para el biocontrol de insectos plaga son prometedores para países como México, con una enorme biodiversidad y con problemas importantes de plagas en la agricultura, como el reciente caso de la enfermedad Huanglongbing o enverdecimiento de los cítricos (Serrato *et al.*, 2007).

La producción de todas las regiones citrícolas de México se encuentra amenazada por la presencia del psílido asiático de los cítricos (PAC) *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Trujillo *et al.*, 2008), insecto vector de las bacterias *Candidatus Liberibacter* spp., agentes causales del Huanglongbing (Bassanezi *et al.*, 2011; Bové, 2012). Hasta ahora, el control químico es el método más empleado contra *D. citri* (Cortez *et al.*, 2010; 2012; Villanueva-Jiménez *et al.*, 2011); sin embargo, ha ocasionado el desarrollo de resistencia del psílido y la eliminación de enemigos naturales (Hall y Nguyen, 2010; Tiwari *et al.*, 2011, 2012; García, 2013). Cocco y Hoy (2008) indican que la tasa de sobrevivencia de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) se reduce por los efectos residuales del imidacloprid (mortalidad >95 %) y por la toxicidad aguda de abamectina (mortalidad >91 %). Esta situación ha motivado que en los últimos años haya crecido el interés en el uso de extractos vegetales o bioplaguicidas para el manejo del psílido (Fontes-Puebla *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012).

El empleo de extractos vegetales como herramientas de manejo de plagas y enfermedades constituye una alternativa prominente. Los extractos poseen moléculas

activas de amplio espectro, con modos de acción diferentes (tóxico, repelente, inhibitorios de la oviposición, crecimiento y alimentación), son biodegradables y presentan reducida toxicidad para el hombre y otros mamíferos (Isman, 2000; Celis *et al.*, 2009). Actualmente, los extractos vegetales y aceites esenciales de ajo *Allium sativum* L., lavanda *Lavandula* sp., cilantro *Coriandrum sativum* L., tomillo *Thymus vulgaris* L., orégano *Lippia graveolens* Kunth, nim *Azadirachta indica* Juss., guayaba *Psidium guajava* L., paraíso *Melia azedarach* L. y toloache *Datura stramonium* L., se reportan con actividad tóxica o repelente contra *D. citri* (Díaz, 2009; Khan *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012; Cázares *et al.*, 2014).

Existe poca evidencia de productos químicos, aceites esenciales o extractos de plantas que no afecten de manera negativa al parasitoide *T. radiata* u otros agentes de control biológico. Al respecto, Lira *et al.* (2014) reportan que los insecticidas azadirachtina, etofenproxi, gamma-cyhalotrina, piriproxifen, tebufenozide y diflubenzuron; los acaricidas piridaben y fenpiroximato y los fungicidas azoxistrobin, folpet, hidróxido de cobre, oxiclورو de cobre, mancozeb + oxiclورو de cobre, pyraclostrobin, metil-tiofenato y trifloxistrobin resultaron inocuos para *T. radiata*. Del mismo modo, el aceite de petróleo y el hidróxido de cobre solo o en combinación con los coadyuvantes Silwet L-77 y Kinetic provocaron baja toxicidad ( $\leq 15$  % mortalidad) al parasitoide, por lo que fueron incluidos en el manejo integrado de *D. citri* mediante la compatibilidad con *T. radiata* (Cocco y Hoy, 2008). Desde el punto de vista de manejo integrado de plagas es importante investigar la interacción de productos botánicos, entre ellos aceites esenciales o extractos de plantas, con enemigos naturales con el fin de obtener resultados prometedores en el manejo de plagas (Isman, 2000); sin embargo, son escasos los estudios en ese enfoque. Asimismo, hace falta evaluar taxa vegetales disponibles en México como recursos naturales a partir de los cuales se desarrollen bioplaguicidas (Serrato *et al.*, 2007). Con base en lo anterior se planteó como objetivo general evaluar la compatibilidad de aplicaciones combinadas del parasitoide *T. radiata* y extractos vegetales para el manejo de *D. citri*.

Con el fin de alcanzar el objetivo propuesto, el presente trabajo se organizó en cuatro capítulos. En el primero se proporciona información relevante del PAC, donde se hace hincapié en el uso de plantas aromáticas en el manejo de plagas. En el capítulo dos, se aborda la composición química de aceites de siete plantas aromáticas con potencial contra

*D. citri*. En el tercer capítulo se presentan los resultados de la actividad biológica de los extractos vegetales sobre el PAC. Mientras que último se muestra la actividad tóxica de cuatro aceites esenciales sobre el parasitoide *T. radiata* y su compatibilidad al aplicar primero el aceite esencial y posteriormente la exposición al parasitoide, y la exposición directa de ninfas al parasitoide con la posterior aplicación del aceite esencial.

# CAPÍTULO I

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1 Importancia de la citricultura en México

La citricultura a nivel mundial es una actividad agrícola altamente rentable, esto se debe principalmente a la producción de frutos dulces y agrios que representan alrededor del 22 % de la producción total de frutas (Salcedo *et al.*, 2010). Los principales países productores de cítricos son China, Brasil, EUA, India y México, con una superficie total cosechada de 7.46 millones de hectáreas (FAO, 2012; Robles-González *et al.*, 2014). Las especies de cítricos (Rutaceae) más cultivadas son la cidra (*Citrus medica* L.), lima dulce (*C. limetta* Risso), limones (*C. limon* L. Burm.), limón mexicano (*C. aurantifolia* Swingle), mandarina (*C. reticulata* Blanco), naranja agria (*C. aurantium* L.), naranja dulce (*C. sinensis* (L.) Osbeck), pomelo (*C. grandis* L. Osbeck) y toronja (*C. paradisi* Macf.) (Ramírez *et al.*, 2000; Espinal, 2005; Robles-González *et al.*, 2014). La producción mundial de naranja contribuyó con 57 % del total de cítricos (118 millones de toneladas) en 2012, seguido de las mandarinas con 23 %, limas y limones con 13 %, y toronjas y pomelos 7 % (Robles-González *et al.*, 2014).

La citricultura mexicana es una de las actividades agrícolas más importantes, ya que cuenta con una superficie aproximada de 555,833 hectáreas, y una producción de 6.69 millones de t de cítricos, durante el periodo de 2010-2013 (Robles-González *et al.*, 2014; SIAP, 2013). Los cítricos se cultivan en 23 estados de la República, aunque en 15 se concentra 95 % de la superficie cultivada. Veracruz, San Luis Potosí y Michoacán, suman más de 79 % de la superficie cítrica del país (Fig. 1.1). De la superficie establecida, el 53.9 % corresponde a naranja, 15 % a limón mexicano, 15 % a lima Persa y el resto a toronjas, mandarinas y tangerinas (Salcedo *et al.*, 2010; SIAP, 2013; Robles-González *et al.*, 2014). En el estado de Veracruz destacan como principales productores de cítricos los municipios de Álamo, Tuxpan, Tihuatlán, Castillo de Teayo y Papantla (SENASICA, 2012; SIAP, 2013).

La mayor proporción de la producción de cítricos se consume en los mercados domésticos como fruta fresca (cerca de 50 % de limón, naranjas y toronjas) y el resto se

destina a la exportación de frutos, así como a la elaboración de productos procesados (Salcedo *et al.*, 2010).

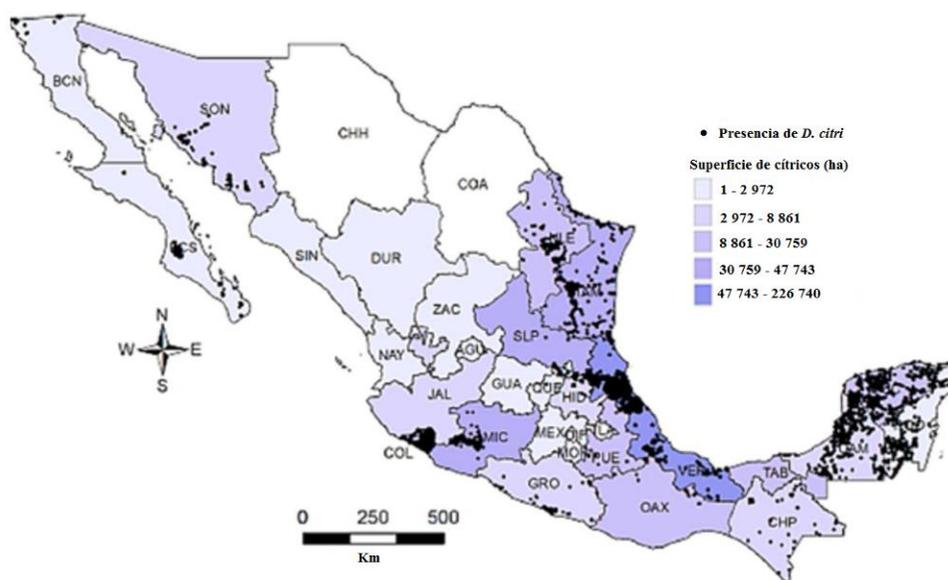
La citricultura representa una actividad de gran importancia para la economía del país y para las miles de familias, ya que genera ~70 mil empleos directos y 250 mil indirectos (Trujillo *et al.*, 2008). Sin embargo, esta actividad se encuentra amenazada por diversas enfermedades y plagas que atacan a los huertos afectando tanto la producción como la calidad del fruto. Dentro de las enfermedades de mayor importancia se encuentran: la mancha grasienta (*Mycosphaerella citri* Whiteside), fumagina (*Capnodium citri* Mont.), roña (*Elsinoe fawcettii* Bitancourt y Jenkins), manchado sectorial del fruto o Wood pocket, virus tristeza de los cítricos (VTC), antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), canchrosis o chancro (*Xanthomonas axonopodis* Xac) y Huanglongbing (HLB). Asimismo, algunos de los insectos vectores presentes son el pulgón café de los cítricos (*Toxoptera citricida* Kirkaldy), pulgón negro (*T. aurantii* Boyer), pulgón del algodónero (*Aphis gossypii* Glover), escama de nieve (*Unaspis citri* Comstock), minador de las hojas (*Phyllocnistis citrella* Stainton), ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus* Banks), ácaros del género *Brevipalpus*, y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) (Curti-Díaz *et al.*, 2000; Agustí, 2003).

## **1.2 Importancia y distribución de *Diaphorina citri***

El psílido asiático de los cítricos (PAC) o *Diaphorina citri*, es el vector más relevante del HLB en México; actualmente está establecido en todas las entidades productoras de cítricos en Centroamérica, Sudamérica (Cermeli *et al.*, 2000; Halbert y Núñez, 2004, Villalobos *et al.*, 2004), Florida (EUA) (Halbert y Manjunath, 2004; Halbert y Núñez, 2004) y México (Thomas, 2002; López-Arroyo *et al.*, 2005). En nuestro país fue reportado en el año de 2002 en los estados de Campeche y Quintana Roo. Actualmente se encuentra en todos los estados citrícolas (Fig. 1.1) (López-Arroyo *et al.*, 2008; Trujillo *et al.*, 2008; López-Collado *et al.*, 2013).

Los daños causados por los adultos y las ninfas del PAC, son de tipo directo e indirecto. El directo sucede durante su alimentación al inyectar toxinas a la planta que detienen el crecimiento de los brotes y deforman las hojas (Michaud, 2004). Al respecto,

Alemán *et al.* (2007) mencionan que una ninfa es capaz de provocar malformación de hojas jóvenes y maduras al alimentarse por 24 h sobre ellas. El daño indirecto de *D. citri* se debe al establecimiento de hongos productores de fumagina, debido a las abundantes secreciones de miel de rocío derivados de desechos de la alimentación, lo que impide el proceso de la fotosíntesis; además, de su habilidad de transmitir el agente causal del HLB, la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.* (Gottwald, 2010; Bassanezi *et al.*, 2011; Bové, 2012). El PAC adquiere la bacteria después 15 a 30 min de alimentación, y permanece infectivo durante toda su vida, aunque no existe evidencia de transmisión transovárica (Xu *et al.*, 1990). El HLB representa una amenaza para la citricultura a nivel mundial, ya que a la fecha se carece de métodos directos para el control de este patógeno de importancia cuarentenaria (Bassanezi *et al.*, 2011). Las estrategias de manejo de la enfermedad en México incluyen el control del vector y el manejo del HLB, con la finalidad de minimizar el riesgo de diseminación de la enfermedad (SENASICA, 2012).



**Figura 1.1** Dispersión de *Diaphorina citri* en el territorio Mexicano (López-Collado *et al.*, 2013).

### 1.3 Hospederos de *Diaphorina citri*

En la actualidad existen 54 especies de plantas hospederas de *D. citri*. El PAC prefiere de manera exclusiva a especies de la familia Rutaceae, donde destacan los géneros

*Aegle*, *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Atalantia*, *Balsamocitrus*, *Citropsis*, *Citrus*, *Fortunella*, *Linonia*, *Merrillia*, *Microscitrus*, *Murraya*, *Pamburus*, *Poncirus*, *Severinia* y *Swinglea* (Viraktamath y Bhumannavar, 2002; Halbert y Manjunath, 2004). Los géneros *Citrus* y *Murraya* son idóneos para su desarrollo durante todo el año y su ciclo de vida (Bigornia y Obana, 1974).

#### **1.4 Métodos de control de *Diaphorina citri***

En el mundo se han empleado diversos métodos y estrategias de control para enfrentar tanto al vector como a la enfermedad. Algunas de las acciones realizadas son la detección y eliminación oportuna de los árboles enfermos, el control de la población del insecto vector, y el uso de plantas producidas en viveros certificados (SENASICA, 2012).

##### **1.4.1 Control legal**

En México, el control legal del HLB y de *D. citri* están regulados por el Protocolo de actuación para la detección del HLB, el Protocolo de actuación ante la emergencia por la detección del HLB; y el Protocolo para establecer Áreas Regionales de Control (ARCOs) del HLB y *D. citri* (Robles, 2010; 2012; Robles y Delgadillo, 2010). Estos protocolos tienen como objetivo que el personal técnico oficial, productores, viveristas y técnicos privados conozcan los antecedentes, importancia, síntomas y demás información descriptiva del HLB y sus vectores, que puedan aplicar la metodología para la detección sintomática y asintomática del HLB; que establezcan herramientas para accionar una respuesta inmediata a nivel de autoridades, personal técnico y operativo, para la delimitación y control de un foco de infección de HLB (Robles, 2010; Robles y Delgadillo, 2010); y finalmente, que logren establecer los criterios generales para la implementación de las ARCOs en las diferentes regiones citrícolas de México (Robles, 2012), mediante la participación de los Comités Estatales de Sanidad Vegetal de cada estado productor de cítricos.

##### **1.4.2 Control químico**

La forma más común para manejar las poblaciones de *D. citri* es mediante el uso de insecticidas químicos con acción de contacto y sistémica; para ello se toma en cuenta su eficiencia, período residual y su inclusión en los programas de rotación de los grupos

químicos (Sandoval-Rincón *et al.*, 2010). Al respecto, Cortez *et al.* (2010) sugieren que las aplicaciones de productos químicos se realicen previo a los picos máximos poblacionales de la plaga durante el año, con el fin de mantener bajas las poblaciones y evitar daños directos a los huertos.

En Brasil, los insecticidas más usados son: el temik y otros carbamatos, el imidacloprid, organofosforados como el dimetoato, etión, y malatión, la abamectina, así como varios piretroides, los cuales han ejercido un buen control del vector (Cobelo, 2005). Asimismo, Yamamoto y Miranda (2009) reportan el 90 % de mortalidad en adultos y ninfas al aplicar tiamethoxam, imidacloprid, lambda-cialotrina, deltametrina, fempropatrina, metidation, dimetoato, etión, abamectina, tiamet y etofenproxi en huertos de naranja.

En México, el control de *D. citri* se lleva a cabo mediante la aplicación de productos como abamectina, acefate, aceite mineral, bifentrina, clorpirifos, dimetoato, dinotefurán, endosulfán, fenpropatrín, fosmet, imidacloprid, imidacloprid + betaciflutrina, imidacloprid + ciflutrina, malatión, metamidafos, monocrotofós, ometoato, oxamil, spinetoram, spinotetramat, sulfoxaflor, thiacloprid, thiametoxam, thiametoxam + lambda cihalotrina, y ácidos tricarbóxicos, entre otros (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2011; Cortez *et al.*, 2012; Quiñones, 2012; Ruíz-Galván *et al.*, 2015).

Los aceites derivados de petróleo han resultado efectivos en el control de estados inmaduros del vector en condiciones de campo. Los huevos y ninfas del PAC confinados en los brotes presentan mortalidad superior a 70 % cuando se exponen a la aplicación de aceites; no obstante que los tres primeros instares son más susceptibles, mientras que los huevos son más tolerantes (Rae *et al.*, 1997). Del mismo modo, los aceites minerales comerciales Rocío Spray y Sigatoka, tienen efecto tóxico contra adultos huevos y ninfas de *D. citri* a 0.5 %, a las 24 y 48 h después de la aplicación de los productos (Cabrera-Cabrera *et al.*, 2010).

### **1.4.3 Control biológico**

El control biológico es una opción bio-racional para regular las poblaciones de insectos plaga; sin embargo, aun cuando se tienen resultados alentadores con el uso de

enemigos naturales en algunas zonas, su efectividad es limitada debido a que la aplicación de insecticidas químicos ha eliminado también a la fauna benéfica (Rae *et al.*, 1997). Se han descrito varias especies de hongos entomopatógenos que infectan a *D. citri* en todo el mundo, de los que destacan *Isaria fumosorosea* Wize (Subandiyah *et al.*, 2000), *Hirsutella citriformis* Speare (Rivero-Aragon y Grillo-Ravelo, 2000), *Lecanicillium lecanii* Zimm., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Rivero-Aragon y Grillo-Ravelo, 2000; Yang *et al.*, 2006), *Acrostalagmus aphidum* Oudem, *Paecilomyces javanicus* (Friederichs y Bally) Brown y Smith (Yang *et al.*, 2006), y *Capnodium citri* Berk. y Desm. (Aubert, 1987). Entre los enemigos naturales sobresalen los arácnidos (Araneae), crisópidos (Neuroptera: Chrysopidae, Hemerobiidae), sírfidos (Diptera: Syrphidae) y coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae). En este último grupo destaca *Harmonia axyridis* Pallas, *Olla v-nigrum* Mulsant, *Exochomus children* Mulsant, *Cycloneda sanguinea* L., y *Curinus coeruleus* Mulsant, como los depredadores más eficaces (Michaud, 2002; Hall *et al.*, 2012). Por otra parte, los parasitoides también ejercen una función primordial en la regulación de las poblaciones del PAC, entre las especies más efectivas esta *Tamarixia radiata* Waterson (Hymenoptera: Eulophidae) y *Diaphorencyrtus aligarhensis* Shafee Alam y Agarwal (Hymenoptera: Encyrtidae) (Vaccaro y Bouvet, 2006).

*Tamarixia radiata* es uno de los enemigos naturales más estudiados desde el punto de vista del control biológico clásico de *D. citri*. Se caracteriza por desarrollarse como un ectoparasitoide idiobionte de ninfas del PAC (Chen y Stansly, 2014). El parasitoide presenta ventajas importantes como el elevado nivel de parasitismo, la alta capacidad de búsqueda y la capacidad para alimentarse de los primeros instares ninfales (Skelley y Hoy, 2004). Las hembras parasitan del tercer al quinto instar, aunque muestran preferencia por las ninfas de último instar. El tiempo de desarrollo varía desde 17 d a una temperatura de 20 °C, hasta solamente 8 d a 30 °C, por lo que la longevidad del adulto se ve afectada con el incremento de la temperatura, es decir, de 37 d a 20 °C y de 8 d a 35 °C. La alimentación con miel de abeja mejora la fecundidad e incrementa la longevidad, en comparación con los individuos alimentados sólo con agua (Fauvergue y Quilici, 1991; Alemán *et al.*, 2007). Existen estudios que indican que un adulto de *T. radiata* llega a matar hasta 500 ninfas a

través de la alimentación y el parasitismo; sin embargo, la mayoría de éstas son por la alimentación (Chien *et al.*, 1991; Hall *et al.*, 2012).

El control del *D. citri* en condiciones de campo ha demostrado la efectividad de *T. radiata*. En Malasia, se reporta una tasa de parasitismo de 28 - 36 % en ninfas de 4 y 5 instar (Lim *et al.*, 1990; Osman y Quilici, 1991); mientras que en Florida y regiones colindantes llega a ser de 20 a 56 %; estas tasas de parasitismo son bajas en comparación con las reportadas en los programas de control biológico en Isla de la Reunión, Guadalupe y Puerto Rico, donde se obtuvo un parasitismo superior a 70 % (Hall *et al.*, 2008b; Qureshi *et al.*, 2009). Después de tres años de evaluación, González *et al.* (2002) presentan una efectividad de *T. radiata* de 30.7 a 97.3 % en ninfas de segundo al cuarto instar de *D. citri*. Por su parte, Cáceres y Aguirre (2005) obtuvieron 90.9 a 100 % de parasitismo sobre ninfas de tercer, cuarto y quinto instar, durante los meses de enero y mayo, con respecto al 20 % alcanzado en febrero y abril.

La presencia de *T. radiata*, en México, se reportó en agosto de 2003 en el estado de Tamaulipas, en huertos de lima mexicana (Coronado *et al.*, 2003; Ruíz *et al.*, 2004). Posteriormente, en el año 2009, se registró su presencia en Colima, Michoacán, Nuevo León, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas (González-Hernández *et al.*, 2009). La habilidad de *T. radiata* para adaptarse a diferentes condiciones ambientales ha sido un factor fundamental para su dispersión por todas las regiones citrícolas del país (Peña-Carrillo *et al.*, 2014; Yefremova *et al.*, 2014). En Colima, se registró 76 % de parasitismo en todas las áreas donde se realizaron liberaciones, en comparación con las zonas donde se omitió esta práctica (Sánchez-González *et al.*, 2012).

#### **1.4.4 Control con extractos vegetales**

Debido al surgimiento de la resistencia de *D. citri* a diferentes insecticidas (Tiwari *et al.*, 2011; 2012; García, 2013), se planteó el desarrollo de esquemas de manejo integrado. El enfoque se dio a tratar de evitar que el PAC adquiriera la bacteria o que una vez adquirida, lo inocule a plantas sanas (Bloch y Wool, 1994). En este contexto, las estrategias deben basarse en acciones de interferencia, distracción, repelencia y supresión, como en otras especies vectoras (Ortega, 2008).

Las sustancias vegetales y sus derivados se han utilizado desde épocas antiguas como método de control alternativo y empírico para el manejo de insectos plaga. Una de estas alternativas es el empleo de aceites esenciales. Los aceites esenciales de plantas se definen como cualquier aceite volátil de una planta que tiene componentes aromáticos fuertes, desprendiendo distintos sabores y aromas. Los aceites se encuentran en pelos glandulares o en cavidades secretoras de la pared celular vegetal y están presentes en forma líquida en las hojas, tallos, corteza, flores, raíces y frutos de diferentes plantas (Koul *et al.*, 2008).

Dentro de las plantas con propiedades repelentes contra *D. citri* se encuentra la guayaba *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). En Vietnam se descubrió que intercalar plantaciones de guayaba en huertos de cítricos reduce la población del PAC (Hall *et al.*, 2008a; Zaka *et al.*, 2010). Al respecto, Zaka y Zeng (2008) encontraron repelencia del 67 % en adultos del PAC, al aplicar 5 g del extracto acuoso de brotes de hoja; efecto que se incrementa a 87.7 % al aumentar la dosis a 15 g (Rouseff *et al.*, 2008). Asimismo, *Allium* (Liliaceae) es otro género reportado con actividad repelente y tóxica contra el PAC, que inhibe la respuesta de atracción hacia las plantas hospederas, principalmente con *Allium tuberosum* Rottl. y *A. canadense* L (Mann *et al.*, 2011). Orozco *et al.* (2013) encontraron que los aceites de piñón tropical (*Jatropha curcas*, L.), ajo (*Allium sativum* L.), cebolla (*Allium cepa* L.) y guanábana (*Annona muricata* L.) redujeron la población de ninfas de *D. citri* 2 d después de la aplicación en 76, 66, 57 y 29 %, respectivamente. En otro estudio, en el que se evaluaron aplicaciones de varios aceites como el de ajo, cilantro, lavanda, rosa y tomillo contra adultos del psílido, se reportan valores de CL<sub>50</sub> de 0.17, 0.25, 0.16, 2.45 y 17.26 µg/insecto, respectivamente (Mann *et al.*, 2012).

Cázares *et al.* (2014), al evaluar extractos crudos etanólicos de nim *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae), orégano *Lippia graveolens* Kunth (Verbenaceae), guayaba (*P. guajava*), mandarina cleopatra (*Citrus Reshni* Hort. Ex Tanaka) y ajo (*A. sativum*), y aceite de orégano contra adultos de *D. citri*, encontraron 84.37 y 87.50 % de repelencia con el extracto de ajo a 50 ppm a las 24 y 48 h después de la aplicación, y 70.31 % de mortalidad con el aceite de orégano al 4 %.

Los extractos y aceites solos o en combinación de *A. indica*, *Pongamia pinnata* (L.) Pierre (Fabaceae), *Madhuca longifolia* (Koenig) J. F. Macb (Sapotaceae), *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Poaceae) y *Alpinia galanga* (L.) Willd (Zingiberaceae), tienen un efecto positivo para el control de insectos plaga de cítricos (Katole *et al.*, 1993). Sin embargo, existe evidencia que los extractos de semilla o productos botánicos a base de *A. indica* son los más usados para reducir la población de *D. citri* (Khan *et al.*, 2012). Al respecto, Khan *et al.* (2012) reportan mortalidad de 80 % en adultos de *D. citri* al aplicar aceites de semillas de nim a 10 mg mL<sup>-1</sup>, y de 68 % con extractos de semilla al 3 %; no obstante, la mortalidad disminuyó a los 5 d después de la aplicación tanto en aceites como en extractos. Asimismo, encontraron 100 y 80 % de mortalidad en larvas de segundo instar de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) en las dosis evaluadas, respectivamente.

El macerado de guayaba (*P. guajava*), toloache *Datura stramonium* L. (Solanaceae) y aceite de paraíso *Melia azedarach* L. (Meliaceae), en proporción de 60:30:10, ocasiona mortalidad de 82.7 a 95 % en ninfas, mientras que en adultos produce 98 % (Díaz, 2009). El efecto de los extractos de guayaba y toloache sobre *D. citri* fue confirmado por Sandoval-Reyes *et al.* (2013) al aplicar extractos etanólicos foliares de dichas plantas. Ellos reportan 87 y 86 % de mortalidad en adulto, y 72 % en ninfas en condiciones de campo. En tanto con la aplicación de una mezcla de extractos etanólicos foliares de guayaba-toloache-aceite de paraíso en dilución 60:25:15, respectivamente, esos autores indujeron una mortalidad de 100 y 98 % sobre ninfas y adultos, respectivamente.

#### **1.4.4.1 *Foeniculum vulgare***

El hinojo *Foeniculum vulgare* Mill., es una planta anual, bianual o perenne dependiendo de la variedad, pertenece a la familia Apiaceae; es nativa del sureste de Europa y de la región del Mediterráneo (Fig. 1.2). Hoy en día es una planta ampliamente cultivada en regiones templadas y tropicales del mundo (Barros *et al.*, 2010). El hinojo como otras plantas medicinales se introdujo a México como cultivo en huertos familiares o a menudo en forma libre a lo largo de los caminos y arroyos de la Sierra Madre. La infusión se utiliza para dolores estomacales por sus efectos antiespasmódicos y carminativos. Además,

promueve la peristalsis intestinal, es un expectorante y de acción diurética (González-Ferrara, 1998). También se recomienda para curar diversas enfermedades respiratorias (Andrade-Cetto, 2009), o como agente aromatizante en productos como licores, pan, pastas y quesos, o como componente en productos cosméticos o farmacéuticos (Telci *et al.*, 2009).



**Figura 1.2** Planta de hinojo *Foeniculum vulgare* Apiaceae (Foto: Ortega Arenas L.)

Existen diversos estudios sobre la composición química del aceite esencial del hinojo de diferentes lugares del mundo (Napoli *et al.*, 2010). En todos ellos se ha encontrado que los principales constituyentes son el *trans*-anetol y la fenchona (Akgül y Bayrak, 1988; Zoubiri *et al.*, 2014) (Cuadro 1.1). Al respecto, Mimica-Dukić *et al.* (2003) y Díaz-Maroto *et al.* (2005) encontraron que el *trans*-anetol fue el componente predominante (70.1 %) en el aceite esencial. Sin embargo, el *trans*-anisol, estragol, fenchona y 1-octen-3-ol, fueron los compuestos de olor más intenso presentes en el fruto de la planta. Asimismo, Moghtader (2013) encontró que los compuestos mayoritarios en el aceite de semillas fueron el *trans*-anetol (49.6 %), acetato de fenchilo (14.2 %), estragol (8.6 %), fenchona (6.3 %) y el limoneno (4.2 %); mientras que en aceite de flores los componentes mayoritarios fueron *trans*-anetol (55.6 %), fenchil acetato (11.5 %), estragol (6.8 %), fenchona (4.4 %) y limoneno (3.1 %).

Se conoce el efecto biológico del hinojo sobre bacterias (Kwon *et al.*, 2002; Araque *et al.*, 2007), hongos (Kwon *et al.* 2002, Singh *et al.*, 2006), ácaros (Lee, 2004) e insectos

(Mimica-Dukić *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2004; Zoubiri *et al.*, 2014). Con respecto a su actividad insecticida, Kim y Ahn (2001) encontraron una mortalidad mayor a 90 % en *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) a una dosis de 0.168 mg cm<sup>-2</sup>, *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) a 0.021 mg cm<sup>-2</sup> y *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae) a 0.105 mg cm<sup>-2</sup>, después de 2 d de aplicar diferentes concentraciones del aceite de hinojo. También, existe evidencia de los extractos y aceites de esta planta con propiedades larvicidas; al respecto, Sedaghat *et al.* (2011) descubrieron que el aceite de *F. vulgare* tiene un efecto positivo en la mortalidad de *Anopheles stephensi* Liston. (Diptera: Culicidae), vector de la malaria, con valores de CL<sub>50</sub> de 20.10 y CL<sub>90</sub> de 44.51 ppm. Los extractos de hoja, flores y raíces son tóxicos a larvas de cuarto instar del mosquito *Culex pipiens molestus* Forskal (Diptera: Culicidae) (Traboulsi *et al.*, 2005). Recientemente, Zoubiri *et al.* (2014) encontraron mortalidad de 50 % en larvas de segundo instar de *C. pipiens* L. al aplicar una concentración de 40 mg/L, y de 90 % en larvas de cuarto instar con 60 mg/L y finalmente, mortalidad total de pupas al aplicar una concentración de 250 mg/L.

**Cuadro 1.1** Composición química (%) del aceite esencial de *Foeniculum vulgare*.

Compuesto (%)	Zoubiri <i>et al.</i> (2014)	Akgül y Bayrak (1988)	Telci <i>et al.</i> (2009)	Damjanovic <i>et al.</i> (2005)	Singh <i>et al.</i> (2006)	Fang <i>et al.</i> (2006)
α-thujene	-	-	-	0.05	-	-
α-pineno	1.22	3.18	0.12	2.81	0.20	0.42
canfeno	0.19	0.93	-	0.34	-	-
sabinena	-	-	-	0.56	-	-
β-pineno	-	1.17	0.05	-	0.20	0.08
β-felandreno	0.28	-	0.01	-	-	0.26
β-mirceno	0.69	1.32	0.18	1.68	0.10	0.01
α-felandreno	0.13	1.15	-	0.73	-	0.33
ρ-cimeno	-	1.78	-	0.28	3.10	-
limoneno	6.37	2.87	2.96	3.15	3.10	6.29
1,8-cineol	-	-	-	1.20	0.10	0.53
γ-terpineno	-	0.89	-	1.05	2.10	2.35
fenchona	12.93	13.85	1.19	20.30	8.60	3.28
linalool	-	-	-	-	1.20	-
camphor	0.21	-	-	-	0.30	0.09
estragol	3.41	4.96	5.16	4.90	4.70	5.95
fenquilo	0.14	-	0.13	-	0.20	0.11

acetato						
<i>trans</i> -anetol	72.86	64.71	87.85	62.00	70.10	73.20
germacreno D	-	-	-	0.18	-	-
anisketona	-	1.12	-	-	-	-
apiol	0.05	-	-	-	-	-

**Fuente:** Zoubiri *et al.* (2014).

#### 1.4.4.2 *Rosmarinus officinalis*

El romero o *Rosmarinus officinalis* L., es una planta herbácea, anual o perenne, arbustiva, aromática, perteneciente a la familia de las labiadas (Labiatae), de 20 cm a 1 m de alto; ramas ascendentes o divergentes; su tallo generalmente es cuadrangular; las hojas son lineares, cilíndricas, de 0.7 a 2.5 cm de largo y sin estípulas; las flores se presentan de 1 a 4 en cada axila, agrupadas en espicastos, pseudo racimos o cabezuelas panículadas, con el perianto hendido hasta la mitad, y los lóbulos obtusos o agudos; las flores son hermafroditas, zigomorfas y sésiles; el cáliz está persistente, 5-dentado; la corola es simpétala, tubular con 4 o 5 lóbulos, el limbo bilabiado; cuenta con cuatro estambres, didínamos, con o sin estaminodios; el disco nectarífero está presente, con ovario súpero, bicarpelar, tetralocular, y óvulos anátropos; el fruto está formado por cuatro mericarpios lisos o reticulados, persistentes dentro del cáliz; y la semilla es de 1 mm de diámetro y de color negro (Fig. 1.3). El origen de esta planta es mediterránea y fue introducida por los españoles en México, actualmente se encuentra distribuida al norte y centro de México, a 2250 m de altitud; se localiza principalmente en terrenos salobres, a veces como arvense o incluso puede ser cultivada por ser comestible (Calderón y Rzendowski, 2001). El romero se conoce y ha sido utilizada desde la época antigua como condimento y con fines medicinales, donde destaca su uso como diurético, antiinflamatorio, antiulcerogénico, digestivo, antiespasmódico, antioxidante, entre otras. Se asegura que los árabes lo creían capaz de repeler las plagas, formando parte de sus jardines. El arbusto puede llegar a medir de 50 a 150 cm de altura; es perenne, frondoso y muy ramificado (López, 2008). Los principios activos se encuentran en las hojas y, ocasionalmente, en la flor. La composición química del aceite esencial de esta planta está constituida por monoterpenos como 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno, alcanfor,  $\alpha$ -terpineol, canfeno, borneol, acetato de bornilo, limoneno, linalol, mirceno y verbenona. También contiene sesquiterpenos como el  $\beta$ -cariofileno

(Cuadro 1.2). Sin embargo, la composición del aceite esencial de romero puede variar en función de la parte de la planta recolectada, el grado de desarrollo o la procedencia, entre otros (López, 2008; Zoubiri y Baaliouamer, 2011).



**Figura 1.3** Planta de romero *Rosmarinus officinalis* (Labiatae).

Las hojas también contienen compuestos amargos, como diterpenos (picrosalvina, carnosol, isorosmanol, rosmadial, rosmaridifenol, rosmariquinona) y triterpenos (ácidos oleanólico y ursólico, y 3-acetil-ésteres), incluso flavonoides (cirsimarina, diosmina, hesperidina, homoplantiginina, fegopolina, nepetina y nepitrina) y polifenoles como el ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico (Zoubiri y Baaliouamer, 2011).

Actualmente, existe evidencia del efecto del romero contra bacterias (Oluwatuyi *et al.*, 1994; Rozman y Jersek, 2009), hongos (Genena *et al.*, 2008; Ozcan y Chalchat, 2008; Pozzatti *et al.*, 2008), nematodos (Oka *et al.*, 2000), ácaros (Romeu *et al.*, 2007) e insectos (Papachristos y Stampoulos, 2002; Zoubiri y Baaliouamer, 2011). En años recientes este aceite se comercializa como un producto para el manejo de plagas (Isman, 2006; 2008). El aceite esencial de romero actúa como un repelente de insectos (Hori, 1998; Amer *et al.*, 2001; JiSen y ErrLieh, 2005), tóxico (Padin *et al.*, 2000; Amer *et al.*, 2001; Papachristos y Stamopoulos, 2002; Isman *et al.*, 2008) y como inhibidor de la oviposición y alimentación de insectos (Dover, 1985).

**Cuadro 1.2** Composición química (%) del aceite de la parte aérea de *Rosmarinus officinalis*

Componente (%)	Zoubiri y Baaliouamer (2011)	Okoh <i>et al.</i> (2010)	Napoli <i>et al.</i> (2010)	Gachkar <i>et al.</i> (2007)
$\alpha$ -pineno	12.59	11.47	14.50	14.90
canfeno	4.30	5.70	3.80	3.33
$\beta$ -pineno	2.16	1.12	2.50	-
mirceno	1.18	1.25	1.60	2.07
eucalipto	13.46	11.91	50.90	7.43
linalool	3.10	2.02	0.60	14.90
alcanfor	11.75	16.57	12.10	4.97
borneol	9.41	5.74	3.60	3.68
terpinen-4-ol	0.99	1.42	1.00	1.70
$\alpha$ -terpineol	1.32	-	4.10	0.83
verbenona	8.29	17.43	-	1.94
bornyl acetato	4.24	9.19	0.40	3.08
$\beta$ -cariofileno	2.83	-	0.90	2.68
monoterpenos	23.42	19.54	22.40	20.30
hidrogenados				
sesquiterpenos	2.83	-	0.90	3.94
hidrogrnados				
monoterpenos	56.40	64.28	72.70	38.53
oxigenados				

Fuente: Zoubiri y Baaliouamer (2011)

La actividad insecticida del aceite esencial de romero fue reportada por Shaaya *et al.* (1997) y Lee *et al.* (2002) contra plagas de granos almacenados como *S. oryzae* y *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Asimismo, Saeidi y Moharramipour (2013) reportan una  $CL_{50}$  de 22.14  $\mu\text{l L}^{-1}$  contra *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) a 24 h de exposición; no obstante, el aceite carece de actividad repelente en este insecto. También, se ha encontrado efecto positivo en la mortalidad del gorgojo del trigo *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) a 24 h de exposición a una dosis de 500  $\mu\text{l L}^{-1}$ ; sin embargo, se logra mortalidad total a las 120 h en dosis de 50 y 500  $\mu\text{l L}^{-1}$  para este insecto (Zoubiri y Baaliouamer, 2011).

En otro estudio realizado con la chinche de encaje, *Corythucha ciliata* Say (Hemiptera: Tingidae) la mortalidad fue de 83.6 % en ninfas y 81.7 % en adultos a una

concentración de 1 % (Rojht *et al.*, 2009). Moawad y Ebadah (2007) al aplicar aceite de romero en concentraciones de 0.02, 0.03 y 0.05 % en forma directa contra huevos del minador grande de la hoja de tomate *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) encontraron un efecto ovicida de 58, 36 y 31 %, respectivamente. De igual manera, Ramírez *et al.* (2010) obtuvieron una tasa de eclosión de 42 % de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae), al aplicar el aceite de esta planta en una solución del 0.5 % sobre la superficie del suelo en condiciones de humedad. En un estudio realizado con *Callosobruhhus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), se encontró que el aceite de *R. officinalis* tiene un efecto significativo en los parámetros biológicos de este insecto, tales como la longevidad (1 a 7 d), fecundidad (10 a 48 huevos) y la fertilidad (66 a 85 %); la CL<sub>50</sub> y CL<sub>99</sub> fueron 6.33 y 11.24 µl L<sup>-1</sup> para machos y 6.80 y 15.74 µl L<sup>-1</sup> para hembras (Douiri *et al.*, 2014).

#### **1.4.4.3 *Schinus molle***

*Schinus molle* L., también conocido como árbol del Pirú o pirul, pertenece a la familia Anacardiaceae; es una especie Americana nativa de la zona andina en Sudamérica y del Perú (Heywood, 1993). Es un árbol ampliamente distribuido en el Valle de México en altitudes de 2,250 a 2,800 m, asociado a matorrales xerófilos, pastizales, vegetación secundaria y cultivado en jardines, a orillas de calles, carreteras e introducido en varias partes del mundo (Calderón y Rzedowski, 2001). De acuerdo con la descripción de Calderón y Rzedowski (2001) es un árbol perenne, llega a medir hasta 15 m de altura, muy ramificado, con ramillas y brotes glabrescentes, hojas imparipinnadas de 15 a 41 foliolos lanceolados, brácteas deltoideas, con los pelos caducos, y pedicelos de 2 mm de largo; sus flores son unisexuales; los pétalos glabros son de color verde-amarillento en las flores masculinas y verde-blancos en las femeninas, truncados, de 2 mm de largo; los 10 estambres están dispuestos en dos verticilos; el fruto es en forma de drupa, de tamaño pequeño de 5 mm de diámetro, carnoso durante su desarrollo, seco en la madurez y de color rojo, que contiene una semilla (Fig. 1.4).

Las propiedades aromatizantes del pirú son comúnmente usadas en la industria de los colorantes, combustibles, condimentos, cosméticos, curtiente, en material forrajero,

melífero, medicinal e insecticida (Vibrans, 2009a). En los últimos años, se han realizado diversos estudios de las propiedades medicinales de esta planta, se ha revisado su efectividad como agente antibacterial, antiviral, antiséptico, diurético, antitumoral, analgésico, anti-inflamatorio y antidepresivo, entre otros (Yueqin *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2007). Las hojas de *S. molle* contienen taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas esferoidales, esteroides, terpenos, gomas, resinas y aceites esenciales, estos últimos incluyen 20 o más compuestos (Wimalaratne *et al.*, 1996). Estos ingredientes activos tienen efecto contra bacterias (Martins *et al.*, 2014), hongos (Badawy y Abdelgaleil, 2014; Martins *et al.*, 2014), protozoarios (Molina-Garza *et al.*, 2014), ácaros (Ruffinengo *et al.*, 2005) e insectos (Wimalaratne *et al.*, 1996; Chirino *et al.*, 2001; Ferrero *et al.*, 2006; 2007; Descamps *et al.*, 2008). El efecto repelente e insecticida del aceite de hojas y frutos de *S. molle* se asocia principalmente a los compuestos *cis*-menth-2-en-1-ol y *trans*-piperitol (Wimalaratne *et al.*, 1996).



**Figura 1.4** Árbol de Pirú *Schinus molle* (Anacardiaceae)

El pirúl tiene propiedades insecticidas; diferentes extractos y aceites de hojas y frutos tienen efecto repelente en larvas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) (Chirino *et al.*, 2001), ovicida y repelente en ninfas de *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera: Reduviidae) (Ferrero *et al.*, 2006), y provocan mortalidad y repelencia de adultos de *Blattella germanica* L. (Orthoptera: Blattidae) (Ferrero *et al.*, 2007), *T. castaneum*

(Descamps *et al.*, 2008; Abdel-Sattar *et al.*, 2010) y *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) (Abdel-Sattar *et al.*, 2010). Asimismo, Wimalaratne *et al.* (1996) reportan actividad repelente del aceite de hojas de esta planta en adultos de mosca común, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), y López *et al.* (2014) encontraron 96 % de mortalidad de adultos de la mosca del cuerno, *Haemotobia irritans* L. (Diptera: Muscidae) 48 h después de aplicar aceite esencial a 30 mg mL<sup>-1</sup>.

Huerta *et al.* (2010) reportan que el extracto etanólico de hoja madura del pirúl a concentraciones de 4.3 y 4.7 %, causó mortalidad superior a 97 % en adultos del escarabajo de la hoja del olmo, *Xanthogaleruca luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae) a 48 h post-aplicación, obteniendo una CL<sub>50</sub> de 1.88 %; asimismo, los autores reportan una inhibición de la alimentación de 100 % con extractos acuosos. En otro de sus experimentos, esta vez con extractos etanólicos y acuosos de hojas jóvenes y maduras de *S. molle* aplicados contra larvas de tercer instar de *X. luteola*, reportan una mortalidad de 92 y 72 %, respectivamente, con hojas jóvenes, así como de 84 y 68 % con extractos de hojas maduras, a una concentración de 4.3 %.

#### **1.4.4.4 Género *Tagetes***

El género *Tagetes* pertenece a la familia Asteraceae, cuenta con 56 especies a las que se les conoce como “marigolds” (Neher, 1968; Soule, 1996), distribuidas desde el suroeste de EUA hasta Argentina (Soule, 1996; Calderón y Rzedowski, 2001). Son plantas herbáceas anuales o perennes, que al estrujarse sueltan sus aromas; las hojas son compuestas, pinnatipartidas o pinnadas, algunas veces simples; las cabezuelas son solitarias o cimoso-corimbosas, con involucro cilíndrico, fusiforme, sus brácteas son de tamaño subigual, unidas entre sí hasta cerca del ápice y provistas de dos hileras de glándulas oleíferas traslúcidas; las flores son liguladas, fértiles, sus corolas son amarillas, anaranjadas, rojizas o blancas; las flores del disco son hermafroditas, sus corolas son amarillas o naranjadas, las anteras con las bases obtusas, las ramas del estilo de las flores hermafroditas son truncadas y peniciladas en el ápice, o con ápices cónicos cortos; los aquenios lineares o claviformes, cuentan con vilano de 3 a 10 escamas desiguales, a veces unidas entre sí (Calderón y Rzedowski, 2001). México se considera un importante centro de diversidad de

este género, ya que está representado por 32 especies, de las cuales destacan *Tagetes arenicola*, *T. coronopifolia*, *T. elongata*, *T. epapposa*, *T. erecta*, *T. filifolia*, *T. foetidissima*, *T. hartwegii*, *T. jaliscensis*, *T. lacera*, *T. lemmonii*, *T. linifolia*, *T. lucida*, *T. lunulata*, *T. micrantha*, *T. minuta*, *T. moorei*, *T. mulleri*, *T. nelsonii*, *T. oaxacana*, *T. palmeri*, *T. parryi*, *T. patula*, *T. persicaefolius*, *T. pringlei*, *T. remotiflora*, *T. subulata*, *T. stenophylla*, *T. subvillosa*, *T. tenuifolia*, *T. terniflora*, y *T. triradiata* (Turner, 1996; Villarreal, 2003; Serrato, 2010).

*Tagetes coronopifolia* Willd., es conocida también como sonajilla, se distribuye principalmente en áreas montañosas del Eje Neovolcánico Transversal de la República Mexicana y el Estado de Coahuila (Turner, 1996), en zonas de clima templado-frío y en altitudes de 2,300 a 2,600 m (Turner, 1996; Villarreal, 2003). Es una planta herbácea anual, erecta, de hasta 50 cm de alto, muy aromática al estrujarse (Villarreal, 2003); los tallos son ramificados y estriados; sus hojas llegan a medir hasta 4 cm de largo, pinnadamente divididas en segmentos filiformes a lineares, con foliolos muy delgados; los capítulos florales o cabezuelas están sobre pedúnculos de 1 a 3 cm de largo; el disco floral es de 6-12, las corolas son amarillas, anaranjadas o verdosas, de 3-4 mm, agudas; su fruto es un aquenio (Fig. 1.5) (Calderón y Rzedowski, 2001). En medicina tradicional se usa en casos de tos y dolor de pecho (Vibrans, 2009b), pero carece prácticamente de información etnobotánica.

La composición química del género *Tagetes* es diversa entre las especies; su variabilidad y complejidad química están genéticamente determinadas y estrechamente relacionadas entre las especies del grupo (Marotti *et al.*, 2004). En las cabezuelas florales de *T. coronopifolia* se han identificado seis flavonoides (Abdala *et al.*, 1999), y su aceite esencial principalmente contiene 11 % de citral (3,7-dimethyl-2, 6-octadienal) (Pérez-Amador *et al.*, 1994). Díaz-Cedillo *et al.* (2013) encontraron diversos compuestos químicos en el aceite de esta planta, los cuales destacaron por su abundancia relativa (con más del 25 %) en raíz, 2, 7, 7-trimetilbicyclo[3.1.1] heptan-2-ol (100 %) y (1S, 2R, 5S) -4, 6,6-trimetilbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-ol (verbenol) (38 %); en tallo-hoja, (1S) -6,6-dimetil-2-metilen-bicyclo[3.1.1] heptan-3-ona (100 %), (1R)-cis-4,6,6-trimetilbicyclo-[3.1.1] hept-3-en-2-ona (verbenona) (71 %), 2-oxo-decanoato de metilo (54 %) y 2,7,7-

trimetilbicyclo[3.1.1] hept-2-en-6-ona (crisantenona) (41 %); en cabezuela, (1S)-6,6-dimetil-2-metilen-bicyclo[3.1.1] heptan-3-ona (100 %) y verbenona (73 %) (Cuadro 1.3). Con respecto a su actividad biológica, existen reportes del efecto del aceite de esta planta sobre la inhibición de crecimiento del hongo *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Barajas *et al.*, 2011). Asimismo, Barajas (2009) reporta el 38 y 34 % de mortalidad de larvas de *Capitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) al aplicar aceite esencial de *T. coronopifolia* a 0.01 y 0.1 %, respectivamente, incorporados en la dieta. De igual manera encontró disminución en el peso de larvas, y duración de la etapa larval, la fecundidad y fertilidad de adultos de *C. decolora*.



**Figura 1.5** Planta de sonajilla *Tagetes coronopifolia* Asteraceae (Foto: Serrato Cruz M.).

*Tagetes lemmonii* Gray, comúnmente conocida como rudilla, es nativa de Centroamérica (México, Honduras y Guatemala) y Sudamérica. Es una planta aromática distribuida de manera natural desde el norte de México hasta el Salvador y Honduras; crece sobre suelos rocosos, por lo común en los lados sombreados de las colinas asociado con bosques de encino, a una altitud de 1,250 a 2,500 m. Se distribuye principalmente en Sonora, el oeste de Durango y Chihuahua, y norte de Sinaloa; también se le encuentra en la parte sur de California y Nuevo México en EUA. Es una planta perenne, herbácea erecta pulverulenta o glabra, perenne, de 1 a 1.5 m de altura; las hojas son opuestas, pinnadas con 3 a 7 (5) divisiones, linear-lanceoladas a elípticas, los márgenes son serrulados y

glandulosos debajo de cada serración; la cabezuela radiada está conformada de 3 a 50 cimas terminales con hojas pequeñas, la mayoría de los pedúnculos son de 2 a 4 cm de largo; los involucros están turbinado-elípticos, de 8 a 11 mm de alto, de 4 a 8 mm de grueso; las glándulas se presentan en líneas, con flores radiales 5 a 8, amarillas, y las lígulas de 10 a 15 mm de largo; las flores del disco son 30 a 60, de color amarillo; los aquenios tienen 4.5 a 6.0 mm de largo, el vilano es de 3 a 7 cortos, a menudo púrpura, con escamas, de 1 a 5 mm de largo, con las más corta obtusas y las más largas subuladas (Fig. 1.6) (Turner, 1996).



**Figura 1.6** Planta de rudilla *Tagetes lemmonii* (Asteraceae).

Dentro la composición química del aceite de *T. lemmonii* está presente la dihidrotagetona ( $42.5 \pm 11.2$  %), (E) tagetona ( $16.1 \pm 18.2$  %) y (E) ocimenona ( $14 \pm 3.3$  %), como compuestos mayoritarios en una población de Delaware, EUA (Tucker y Marciarello, 1996). Asimismo, Verdeguer (2011) encontró la presencia de *cis*- mirceno (0.35 %),  $\alpha$ -felandreno (0.35 %), ocimeno (3.54 %), *cis*-tagetona (14.38 %), *trans*-ocimenona (15 %) y dihidro-tagetona (61 %); los tres primeros son monoterpenos hidrocarbonados (4.24 % de la muestra analizada), y el resto, junto con otros compuestos menores son monoterpenos oxigenados que representan 92.75 % del aceite de una población de plantas cultivadas en España (Cuadro 1.3). Aunque la composición del aceite de esta planta ya se conoce, no existe evidencia científica sobre la actividad biológica del aceite esencial en microorganismos, ácaros e insectos (Serrato *et al.*, 2007). Sin embargo,

Verdeguer (2011) determinó la actividad herbicida del aceite en cultivos *in vitro* sobre las arvenses *Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae) y *Conyza canadensis* (L.) Cronq. (Asteraceae), controlando tanto su germinación como su crecimiento.

*Tagetes lucida* Cav., también conocida como pericón, anisillo o flor de Santa María (Villarreal, 2003), es una planta ruderal presente en áreas de montaña y terrenos agrícolas, crece como vegetación secundaria en bosques de pino, pino-encino y tropicales caducifolios. Es una planta erecta, herbácea perenne, con altura de 30 cm hasta 1 m; sus hojas son compuestas, simples, sésiles, elípticas a lanceoladas de 4 a 10 cm de largo y 0.5 a 2 cm de ancho, con la base atenuada, el margen serrulado y con abundantes glándulas diminutas; las cabezuelas están en corimbos, con un par de brácteas en la base; las flores son liguladas usualmente 3, con limbo orbicular de 3 a 5 mm de largo y 4 a 8 mm de ancho, con corolas de amarillo claro a amarillo-anaranjado; presenta un olor dulce de aroma anisado al estrujarse; las anteras verdosas son aquenios lineares a estrechamente obpiramidales, de 5 a 6 mm de largo, estriados y estrigosos (Fig. 1.7) (Neher, 1968; Turner, 1996; Villarreal, 2003). Prospera en altitudes de 800 a 2,700 m (Turner, 1996; Villarreal, 2003), aunque se ha encontrado en un rango de 1,500 hasta 4,100 m, desde México hasta Centro América (Neher, 1968).



**Figura 1.7** Planta de pericón *T. lucida* Asteraceae (Foto: Serrato Cruz M.).

En cuanto a la composición química del aceite esencial se ha registrado la presencia del estragol como principal componente y otros como el *trans*-anetol y el metil eugenol (Ciccío, 2004; Marotti *et al.*, 2004). En Guatemala se reportó la presencia de estragol (33.9 %), anetol (23.4 %) (Bicchi *et al.*, 1997); en Italia el estragol (93.8 %) y el *trans*- $\beta$ -cariofileno (2.1 %) en flores, y estragol (78.2 %) y metil eugenol (3.6 %) en hojas (Marotti *et al.*, 2004); mientras que en Costa Rica se reporta la presencia de estragol o metil clavicol (97.1 %), mirceno (1.8 %), (E)- $\beta$ -ocimeno (0.2 %), linalol (0.2 %), germacreno D (0.2 %) en aceite esencial de hojas y tallos, estragol (95.4 %), mirceno (1.2 %), (E)- $\beta$ -ocimeno (0.2 %), linalool (0.2 %) y germacreno D (0.5 %) en aceite de flores (Ciccío, 2004); finalmente, en Cuba se ha identificado el estragol (96.8 %), mirceno (2.3 %), germacreno D (0.3 %), (E)- $\beta$ -ocimeno (0.2 %), linalool (0.1 %) y  $\beta$ - carofileno (0.1 %), (Cuadro 1.3) (Regalado *et al.*, 2011). Se ha documentado la actividad biológica de esta especie para bacterias (Céspedes *et al.*, 2006; Regalado *et al.*, 2011), hongos (Céspedes *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2006; Barajas *et al.*, 2011), nematodos (Siddiqui y Mashkoo, 1988) e insectos (Nerio *et al.*, 2009; Villavicencio-Nieto *et al.*, 2010; Olivero-Verbel *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2014).

Nerio *et al.* (2009) reportan actividad repelente del aceite de *T. lucida* contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) a dosis de 0.063 ( $48 \pm 10$  %), 0.126 ( $62 \pm 9$  %), 0.252 ( $69 \pm 6$  %) y 0.503  $\mu\text{L cm}^{-2}$  ( $79 \pm 6$  %), con una dosis de repelencia media de 0.065  $\mu\text{L cm}^{-2}$ . Olivero-Verbel *et al.* (2013) encontraron efecto repelente contra adultos de *T. castaneum* a una concentración de 5  $\mu\text{L g}^{-1}$  después de 12 h de exposición al aceite de *T. lucida*. Finalmente, la actividad insecticida del aceite de esta planta la reportan Smith *et al.* (2014), quienes consignan mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) de 41, 80 y 100 % a las 24 h, así como 50, 80 y 100 % a 48 h de exposición a concentraciones de 65, 82 y 95 ppm, respectivamente. Asimismo, ellos reportan una  $\text{CL}_{50}$  de 66.27 y 64.86 ppm y una  $\text{CL}_{95}$  de 95.13 y 93.92 ppm, a 24 y 48 h de exposición al aceite, respectivamente.

***Tagetes terniflora*** Kunth, es un arbusto glabro y erecto de hasta 1.5 m de altura, anual, fácilmente reconocible por su hábito robusto, contiene racimos de pequeñas cabezuelas turbinadas y pequeñas flores radiales. Parecida en el hábito a *T. minuta*

cultivada, pero con cabezuela fusiforme, y sobre todo en pedúnculos de 3 - 10 mm de largo, su tallo es angular y frecuentemente muy leñoso; las hojas son opuestas, de 6-18 cm de largo, impares y pinnadas; las medidas de las hojas maduras van de 9 - 19 cm, son ovalo-lanceoladas, de 2 - 4 cm de largo, y de 0.5 - 1.0 cm de ancho, las hojas superiores frecuentemente son confluentes; el margen está fuertemente cerrado, presenta dientes de 0.5 - 2.0 mm de largo; con glándulas ovaladas, pequeñas y dispersas; la cabeza con corimbos abiertos; la longitud del pedúnculo es de 0.2 a 2.5 cm de largo, no alargados hacia adelante; presenta cinco branquias, dos o tres involucradas en conjunto, frecuentemente tienen dos, cada branquea con dos hileras de glándulas lineares y una en cada punta del toide; las flores femeninas son liguladas de 0 a 5, las lígulas son de color crema, orbiculares o truncadas; el disco floral tiene de 6 a 12 corolas de 3 mm de largo, hispidas, tubo y garganta de igual longitud, los arquetos son clavados, densamente hirsutos de 6 a 7 mm de longitud (Fig. 1.8) (Neher, 1968). *T. terniflora* se distribuye en Perú y Argentina; sin embargo, se encontró en Chiapas, México, quizás como una especie introducida (Turner, 1996).



**Figura 1.8** Planta de *Tagetes terniflora* (Asteraceae).

El aceite esencial de esta planta contiene compuestos químicos mayores, como monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides (Saavedra *et al.*, 2002; De Feo *et al.*, 2005; López *et al.*, 2011). En el aceite esencial de *T. terniflora* de una población de Perú De Feo *et al.* (2005) reconocen 65 compuestos, de los cuales tagetona (22.4 %), ocimeno (20.6

%), ocimenones (15.9 %), (*E*)- $\beta$ -ocimeno (12.8 %) y *trans*-tagetona (10.7 %) se determinaron como los componentes mayoritarios, seguidos por limoneno (3.9 %), isomentona (3.1 %), *cis*-anetol (4.1 %) y *trans*-anetol (2.1 %). Asimismo, de una población colectada de San Cristóbal Chiapas, México, Serrato *et al.* (2014) señalan como compuestos mayoritarios a *E*-tagetona (22 %), *cis*-tagetenona (20.4 %), *trans*-tagetona (20.4 %), dihidrotagetona (13.4 %), *cis*- $\beta$ -ocimeno (10.3 %), *trans*- $\beta$ -ocimeno (5 %), propenil anisol (4.3 %), alil anisol (0.7 %), *Z*-tagetona (0.5 %) y limoneno (0.5 %) (Cuadro 1.3). No obstante, la composición relativa depende principalmente de la estado fenológico de la plantas, así como de la característica del hábitat (Saavedra *et al.*, 2002).

El aceite de *T. terniflora* tiene amplio espectro contra bacterias (Tereschuk *et al.*, 2003) e insectos (Stefanazzi *et al.*, 2006; 2011; Gutiérrez *et al.*, 2009; Sánchez y Descamps, 2012). En insectos, Stefanazzi *et al.* (2006) encontraron actividad repelente del aceite de 60, 93 y 93.3 % a 2 h y 73.3, 86.7 y 93.3 % a 24 h después de la aplicación a concentraciones de 10, 20 y 40 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, en larvas de *T. castaneum* de 25 d; mientras que la repelencia contra adultos a las 24 h fue de 58.2, 90.9, 92.3, 91.9 % a una concentración de 0.4, 1, 2, y 4 %, respectivamente. Sin embargo, el aceite no produjo toxicidad en larvas y adultos de *T. castaneum*. Asimismo, Stefanazzi *et al.* (2011) al evaluar la toxicidad del aceite de *T. terniflora* en adultos de *T. castaneum* y *S. oryzae* mediante dos métodos de aplicación (fumigante y contacto) estiman una CL<sub>50</sub> de 362.8  $\mu$ g cm<sup>-2</sup> para *T. castaneum* y de 322.6  $\mu$ g cm<sup>-2</sup> para *S. oryzae* por el método de fumigación; sin embargo, los valores de CL<sub>50</sub> disminuyeron (217.2 y 146.5  $\mu$ g cm<sup>-2</sup>) para ambas especies mediante el método de contacto. La actividad repelente se presentó en los dos adultos (*T. castaneum* = 80.1 y 90.9 %,.) y (*S. oryzae* = 80.7 y 73.2 %) a 0.4 y 20 mg L<sup>-1</sup>. Los autores reportan actividad anti alimentaria (disuasión de la alimentación) del aceite en adultos de *S. oryzae* y un incremento en la tasa relativa de crecimiento en ambos insectos.

**Cuadro 1.3** Composición química (%) de aceites esenciales de la parte aérea de cuatro especies de *Tagetes*

Compuesto/ planta	<i>T. coronopifolia</i>		<i>T. lemmonii</i>	<i>T. lucida</i>		<i>T. terniflora</i>	
	Hoja	Flor	Parte aérea	Hoja	Flor	Parte aérea	
β-cariofileno			0.39 ± 10.08	9.4	2.1	0.3	
crisantenona	41						
linalool				0.3	0.1		
2-oxo-decanoato de metilo	54						
(1S)-6,6-dimetil-2-metilen-biciclo [3. 1. 1] heptan-3-ona	100	100					
α-felandreno			0.16 ± 0.16				
(E)-β-ocimeno			2.14 ± 0.77	0.9	0.2	5.0	15.4
dihidrotagetona			42.52 ± 11.27	0.1		13.4	6.5
alo-ocimeno			2.78 ± 0.72				
(E)-tagetona			16.10 ± 18.21		0.1	22	31.0
(Z)-tagetona			0.04 ± 0.07			0.5	10.3
(E)-ocimenona			14.18 ± 3.37				14.5
(Z)-ocimenona			3.89 ± 1.39			20.4	15.4
(E)-tagetonona						20.4	
metil chavicol				78.2	93.8		
metil eugenol				3.6			
germacreno B					0.1		
germacreno D			0.46 ± 0.08				0.1
(Z)-nerolidol					0.6		
(Z)-β-ocimeno				0.1	0.1	10.3	0.1
etil 2-metil butirato			0.33 ± 0.17				
limoneno				0.1		0.5	
mirceno				0.9			
verbenona	71	73					
<b>Referencia</b>	Díaz-Cedillo <i>et al.</i> , 2013		Tucker y Maciarello, 1996	Marotti <i>et al.</i> , 2004		López <i>et al.</i> , 2011; Serrato <i>et al.</i> , 2014	

Gutiérrez *et al.* (2009) refieren un efecto tóxico del aceite esencial de hojas de *T. terniflora* sobre adultos de *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) con relación a tiempo. Ellos obtuvieron 6 % de mortalidad a los 5 min de exposición al aceite y 80 % a los 60 min, con un Tiempo de derrive medio (TV<sub>50</sub>) de 23.4 min. Por otro lado, existe evidencia científica del efecto tóxico de este aceite sobre adultos machos (DL<sub>50</sub> = 19.97 µg/insecto) y hembras (16.17 µg/insecto) de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) 72 h después de la aplicación tópica del aceite. Sin embargo, no existe repelencia en adultos de *C. capitata* y ninfas de *T. infestans* en comparación con *T. minuta*, *T. rupestris* y *T. filifolia* (López *et al.*, 2011). Asimismo, Almiron *et al.* (2013) reportan actividad toxica del aceite de *T. terniflora* en adultos de *B. germanica*, con un valor de CL<sub>50</sub> de 0.50 y 0.40 mg cm<sup>-2</sup> por los métodos de contacto y fumigación, respectivamente.

Sánchez y Descamps (2012) confirmaron la actividad biológica del aceite esencial de *T. terniflora*, mediante dos métodos de aplicación (inmersión y tópica), sobre áfidos ápteros y alados *Metopolophium dirhodum* Walker (Hemiptera: Aphididae). Estos autores indican valores de CL<sub>50</sub> de 0.46 mg mL<sup>-1</sup> para ápteros y 0.2 mg mL<sup>-1</sup> para alados tratados por inmersión, así como 76.2 mg mL<sup>-1</sup> en ápteros y 20.2 mg mL<sup>-1</sup> en alados por contacto, a las 24 h postratamiento. La actividad repelente del aceite se confirmó en ápteros (80 y 66.6 %) y alados (40 y 46.6 %) a una y 24 h después del tratamiento. Asimismo, afectó de manera positiva la tasa reproductiva (87 % en ápteros y 77 % en alados), longevidad (13.3 d comparada con el testigo de 20.7 d), tasa de reproducción (R<sub>0</sub> = 6.33; R<sub>0</sub> = 24.47 testigo), tasa infinita de crecimiento ( $\lambda = 1.1$ ;  $\lambda = 1.21$  testigo) y tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m = 0.09$ ;  $r_m = 0.19$  testigo) de *M. dirhodum*.

### **1.5 Compatibilidad extractos vegetales-enemigos naturales**

Actualmente se sabe que la mayoría de los insecticidas químicos tienen un efecto negativo sobre los enemigos naturales de diversos insectos plaga (Villanueva-Jiménez y Hoy, 1998; Cloyd y Bethke, 2011). Los insecticidas vegetales se han empleado como una alternativa viable en el manejo de plagas, debido a su compatibilidad con otras opciones de bajo riesgo, como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, por lo que se pueden incorporar a un programa de manejo integrado de plagas

(Schmutterer, 1997; Molina, 2001). Esta compatibilidad se debe principalmente a la descomposición rápida de metabolitos secundarios por acción de la luz y la temperatura, haciendo que actúen sobre los insectos a controlar, evitando la contaminación del ambiente y el impacto sobre organismos benéficos (Da Ponte, 1992).

Existen diversos estudios donde se muestra que los insecticidas botánicos son compatibles con enemigos naturales y patógenos de insectos (Simmonds *et al.*, 1992; Schmutterer, 1997; Sahayaraj *et al.*, 2011). Klemm y Schmutterer (1993) al aplicar extractos de semilla de nim (0.2 %) sobre huevos parasitados de la palomilla dorso del diamante *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), encontraron que no reduce el número de huevos parasitados por hembra en *Trichogramma principium* Sugonjaev y Sorokina y *T. pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae); asimismo, no reduce la emergencia de *T. pretiosum* en huevos tratados. Medina *et al.* (2004) reportan un nulo efecto de azadiractina sobre la mortalidad y fertilidad de adultos de *Ch. carnea*. De igual manera, los extracto acuosos de hojas de *M. azedarach* y el producto Neemix 4.5 no tuvieron un efecto adverso contra *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Hymenoptera: Braconidae) y *Diadromus collaris* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitoides de *P. xylostella*. Además, se presentó preferencia de parasitación por *C. plutellae* sobre plantas de col tratadas con *M. azedarach*. Estos productos están integrados en programas de control biológico contra la palomilla (Charleston *et al.*, 2005; 2006).

Khan *et al.* (2012) reportan compatibilidad de aceites de nim, en concentraciones de 1 y 2 %, con *Ch. carnea* para el control de áfidos en cultivo de canola *Brassica napus* (Brassicaceae), potenciando su efecto en la reducción de la población a diferencia de la aplicación de los tratamientos en forma separada. Cabe resaltar que el aceite de nim no afectó la sobrevivencia en huevo, larva y adultos de *Ch. carnea*.

Se ha reportado la actividad biológica de extractos botánicos tanto en depredadores como en parasitoides. Swaminathan *et al.* (2010) evaluaron los efectos colaterales del extracto de hoja y semilla de nim (*A. indica*), aceite de nim y eucalipto sobre el coccinélido *Adonia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae). Se encontró 73.33 % de mortalidad del coccinélido al aplicar el extracto de semilla de nim 10 % y 65 % de mortalidad en aceite

de nim 5 %; además se presentó una reducción máxima de alimentación de 72 y 68 % con el extracto y el aceite de nim, respectivamente. En otro estudio realizado con los aceites esenciales de *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, *C. schoenanthus* (L.) Spreng (Gramineae) y *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) sobre *Dinarmus basalis* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitoide de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), se reporta un valor de la CL<sub>50</sub> de 1.71, 0.44 y 0.69  $\mu\text{L L}^{-1}$  en ausencia de semillas, e incrementado su valor en presencia de semillas (2.66, 0.92 y 1.20  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), respectivamente. Los tres aceites evaluados afectaron de manera negativa algunos parámetros biológicos del parasitoide como la fecundidad, duración del ciclo biológico de los adultos del parasitoide (al aplicar una dosis de 0.5  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), y mortalidad de larvas y pupas al contaminar las semillas con dosis de 5, 10 y 15  $\mu\text{L L}^{-1}$  (Ketoh *et al.*, 2002).

Iannacone y Alvariño (2010) evaluaron el extracto acuoso de *S. molle* sobre depredadores y parasitoides, y reportaron una CL<sub>50</sub> de 3.7 % al aplicar el extracto sobre *Ceraeochrysa cincta* Schneider (Neuroptera: Chrysopidae), seguida por *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae) con 14.2 %, *Chrysoperla asoralis* Banks (Neuroptera: Chrysopidae) con 32.2 % y *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) con 40.9 %, a las 48 h después de la aplicación del extracto. Además, los huevos de *C. cincta* y *Ch. asoralis* no eclosionaron.

Actualmente existen pocos trabajos sobre compatibilidad de productos botánicos con enemigos naturales. Cano y Glandstone (1994) reportaron que el producto a base de extractos de semillas de nim NIM-20 no tiene efecto sobre la tasa de parasitismo (84 %) de *T. pretiosum* a dosis de 2.5 g L<sup>-1</sup> sobre huevos de *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae). Tang *et al.* (2002) encontraron que al aplicar el producto comercial de semilla de nim (Neemix 4.5, 4.5 % Azadirachtina) este no afectó el desarrollo y emergencia de adultos de *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Aphidiidae), parasitoide de *T. citricida*. De igual manera, existe evidencia de la compatibilidad del insecticida/acaricida botánico de epazote UDA-245 con *O. insidiosus* y *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), en el control de trips, araña roja, áfidos y pequeñas orugas (Bostanian *et al.*, 2005). Cocco y Hoy (2008) encontraron que el aceite de petróleo al 2 %

combinado con el coadyuvante Silwet L-77 fue más tóxico en huevo, ninfas y adultos de *D. citri* (81, 83 y 55 % de mortalidad, respectivamente). Sin embargo, los coadyuvantes Silwet L-77 y Kinetic, el aceite de petróleo y el hidróxido de cobre (solo o en combinación con algún coadyuvante), tuvieron poca toxicidad residual sobre su parasitoide *T. radiata*, en comparación con el imidacloprid y la abamectina (>95 y >91 %, respectivamente) (Cocco y Hoy 2008).

## CAPÍTULO II

### COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE SIETE PLANTAS AROMÁTICAS CON POTENCIAL INSECTICIDA

#### 2.1 RESUMEN

La mayoría de los aceites esenciales de plantas aromáticas presentan propiedades insecticidas e insectistáticas. No obstante, el conocimiento de los metabolitos secundarios en el aceite es una referencia fundamental para la reproducibilidad de resultados, sobre todo si se trata de plantas poco exploradas experimentalmente, desarrolladas en condiciones ambientales específicas o de un genotipo particular. En este estudio se determinó la composición química del aceite de la parte aérea de siete plantas aromáticas de México, las cuales se han utilizado en bioensayos de toxicidad y repelencia contra *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Muestras combinadas de tallo, hoja y cabezuelas, de cada una de las especies, se trituraron con una ensiladora antes de la extracción de los aceites. Los aceites (200 a 400 mL) fueron obtenidos por hidrodestilación en un destilador de acero inoxidable, y analizados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para identificar los compuestos activos y su concentración. En total se identificaron de 18 a 31 compuestos presentes en las siete especies de plantas aromáticas. Se encontraron tres compuestos mayoritarios (5 - 47.7 %) en el aceite de *Foeniculum vulgare* (Apiaceae); cuatro en *Tagetes lemmonii*, *T. lucida* y *T. terniflora* (Asteraceae); cinco en *T. coronopifolia*; y finalmente, seis en *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) y *Schinus molle* (Anacardiaceae). Dentro de los más importantes sobresalen *trans*-anetol y  $\alpha$ -pineno para *F. vulgare*; alcanfor, eucaliptol y  $\alpha$ -pineno para *R. officinalis*; D-limoneno,  $\beta$ -mirceno, canfeno y germacreno D para *S. molle*; mientras que  $\beta$ -ocimeno y *trans*-tagetona fueron comunes para las cuatro especies de *Tagetes*. Verbenona fue un compuesto presente exclusivamente en *T. coronopifolia* y *T. terniflora*; mientras que el *trans*-anetol en *T. lucida* y *F. vulgare*.

**PALABRAS CLAVES:** Hinojo, metabolitos secundarios, monoterpenos, pirú, romero, *Tagetes*.

## CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF SEVEN AROMATIC PLANTS WITH INSECTICIDAL POTENTIAL

### 2.2 ABSTRACT

Most essential oils of aromatic plants have insecticide and insectistatic properties; however, knowledge of secondary metabolites in the essential oil is a reference for the results reproducibility, especially when it comes to plants unexplored experimentally developed in specific environmental conditions or a particular genotype. In this study the oil chemical composition of the aerial part of seven aromatic plants of Mexico, used in toxicity and repellency bioassays by *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) was determined. Samples of the aboveground parts of flowering plants were macerated with a silage chopper before oil extraction. Oils (200 to 400 mL) were extracted by hydrodistillation in a stainless steel distiller and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry, the active compounds and their concentration was identified. A total of 18 to 31 compounds were identified in the seven aromatic plants. Three major components (5 - 47.7 %) in the *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) was detected, four by *Tagetes lemmonii*, *T. lucida* and *T. terniflora* (Asteraceae); five by *T. coronopifolia*; and finally, six by *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) y *Schinus molle* (Anacardiaceae). The most important were: *trans*-anethole and  $\alpha$ -pinene in *F. vulgare*; camphor, eucalyptol and  $\alpha$ -pinene by *R. officinalis*; D-limonene,  $\beta$ -myrcene, canfene and germacrene by *S. molle*; while  $\beta$ -ocimene y *trans*-tagetone were common by four *Tagetes* species. Verbenone only in *T. coronopifolia* and *T. terniflora*; and *trans*-anethole by *T. lucida* and *F. vulgare* were found.

**KEY WORDS:** Fennel, monoterpenes, pirus, rosemary, secondary metabolites, *Tagetes*.

## 2.3 INTRODUCCIÓN

Las plantas aromáticas se cultivan desde tiempos inmemoriales con fines farmacéuticos y culinarios. En los últimos años han sido objeto de renovado interés mundial como fuente de metabolitos secundarios multifuncionales que poseen aplicación como plaguicidas (Mansaray, 2000; Dixon, 2001; Ottaway, 2001). Estas plantas contienen compuestos olorosos, volátiles, hidrófobos y aceites esenciales, obtenidos de diversas partes de la planta: flores, hojas, tallos, semillas, raíces y frutos (Negi, 2012). Los aceites esenciales son mezclas complejas de metabolitos secundarios conformadas mayoritariamente de componentes alifáticos de bajo peso molecular, como ácidos, alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres; así como fenilpropanos, terpenos y terpenoides (Greathead, 2003; González *et al.*, 2011). Estos compuestos químicos tienen efecto biológico contra bacterias, hongos, ácaros, nematodos, e insectos de importancia económica y urbana (Koul *et al.*, 2008).

La actividad biológica de las plantas se debe a la presencia de compuestos activos característicos como las acetogininas en la familia Annonaceae; alcaloides, monoterpenos, sesquiterpenos lactonas, triterpenos, limonoides en Asteraceae, Meliaceae, Rutaceae y Cneoraceae; alcaloides en Solanaceae, Flacourtiaceae y Stemonaceae; aminas insaturadas en Rutaceae, Asteraceae y Piperaceae; Benzopiranos en Asteraceae; y terpenoides en las especies de la familia Asteraceae, Meliaceae, Euphorbiaceae y Rutaceae, entre otras (Simmonds *et al.*, 1992; Viera *et al.*, 2001). Las familias Asteraceae, Apiaceae y Lamiaceae son las más importantes desde el punto de vista de la producción de aceites esenciales y su actividad biológica (Bernath, 2009). Existen diversos factores que afectan el rendimiento y composición química de los aceites esenciales extraídos de una planta, entre los que sobresalen el origen del material vegetal, los quimiotipos y la variabilidad genética de los individuos, la fecha de cosecha, la estructura y edad de la planta, el estado de desarrollo de la planta, las condiciones ambientales, el procedimiento de deshidratación, el método de extracción, la proporción de las partes destiladas y las condiciones de almacenamiento de la planta hasta que se extrae el aceite (Perry *et al.*, 1999; Marotti *et al.*, 2004; González *et al.*, 2011). Al respecto, Saavedra *et al.* (2002) afirman que la composición relativa depende

principalmente de la estado fenológico de la planta, así como de las características del hábitat donde se desarrolla.

Dentro de la familia Asteraceae, el género *Tagetes* está representado en México por más de la mitad de las especies que existen en América (Turner, 1996); la mayoría son aromáticas debido a la presencia de aceites esenciales en toda la planta (Poli *et al.*, 1995). La composición de los aceites puede variar con base en la constitución genética de la especie y las condiciones agronómicas en que se desarrollan las plantas (Krishna *et al.*, 2002; Sefidkon *et al.*, 2004). Los primeros estudios fitoquímicos de plantas de *Tagetes* se remontan a la década de 1920; aunque actualmente se conocen 126 metabolitos secundarios en los aceites esenciales como grupos de hidrocarburos, alcoholes, éteres, aldehídos, cetonas, ésteres, derivados fenólicos, feniltropanoides, tiofenos, triterpenoides, alcaloides, flavonoides y carotenoides (Zygadlo *et al.*, 1993; Marotti *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2012). Díaz-Cedillo *et al.* (2013) reportan cuatro compuestos mayoritarios en el aceite de *Tagetes coronopifolia* (Wild.); en tallo y hoja encontraron verbenona, crisantenona, 2-oxo-decanoato de metilo y 6,6-dimetil-2-metil-biciclo [3.1.1] heptan-3ona, dos de ellos también estuvieron presentes en la cabezuela. Con respecto a *T. lemmonii* (Gray.) se encontró dihidrotagetona, (E) tagetona y (E) ocimenona como compuestos mayoritarios en una población de Delaware, USA (Tucker y Marciarello, 1996); aunque en plantas cultivadas en España, los compuestos en el aceite esencial fueron *cis*-mirceno,  $\alpha$ -felandreno, ocimeno, *cis*-tagetona, *trans*-ocimenona y dihidro-tagetona (Verdeguer, 2011). En *T. lucida* (Cav.) se reportan cumarinas, flavonoides y aceites esenciales (Serrato *et al.*, 2007).

El contenido del aceite esencial de *T. lucida* suele contener metil cavicol, metil eugenol y anetol (Bicchi *et al.*, 1997; Marotti *et al.*, 2004), pero su origen geográfico parece relacionarse con la variabilidad del contenido del aceite esencial. En una población de plantas de Costa Rica se reporta la presencia de 30 compuestos químicos con alto porcentaje de metil cavicol (95 - 97 %) (Ciccio, 2004); 53 compuestos en un material de Guatemala presentaron abundancia de metil cavicol (38.9 %), metil eugenol (24.3 %) y anetol (23.8 %) (Bicchi *et al.*, 1997); mientras que una población de México contó con metil eugenol (80 %) y metil cavicol (12 %) como compuestos mayoritarios en el aceite esencial. Según Serrato *et al.* (2007) la variabilidad del contenido del aceite esencial de

poblaciones mexicanas de *T. lucida* no se ha estudiado por completo. En cuanto a *T. terniflora* (Kunth), en una población de Perú se reportan 65 compuestos, con tagetona, ocimeno, ocimenones, (*E*)- $\beta$ -ocimeno y *trans*-tagetona como compuestos mayoritarios (De Feo *et al.*, 2005); sin embargo, en poblaciones de México los compuestos mayoritarios son tagetona, *cis*-tagetona, *trans*-tagetona, dihidrotagetona, *cis*- $\beta$ -ocimeno, *trans*- $\beta$ -ocimeno (Serrato *et al.*, 2014). Las cuatro especies de *Tagetes* referidas cuentan con poblaciones distribuidas en México, pero poco exploradas en sus efectos biológicos.

La familia Apiaceae se conoce como una fuente de aceites esenciales con propiedades insecticidas. Esta familia comprende de 300 a 450 géneros y 3,700 especies; son plantas aromáticas con diversos compuestos volátiles en los frutos, hojas y flores (Ebadollahi, 2013). *Foeniculum vulgare* (Mill.) es su especie más estudiada por su amplio uso en las industrias farmacéutica, perfumería, cosmética, higiénica y alimenticia (Zargari, 1995; Telci *et al.*, 2009). Se dispone de diversos estudios sobre la composición química del aceite esencial (Napoli *et al.*, 2010). Sin embargo, existen diferencias entre los compuestos mayoritarios encontrados en el aceite esencial en flores y hojas. Conti *et al.* (2010) reportan como compuestos mayoritarios al metil cavicol,  $\alpha$ -felandreno y la fenchona; mientras que en otros estudios se reporta al *trans*-anetol, fenil acetato, metil cavicol, fenchona y limoneno (Mimica-Dukić *et al.*, 2003; Díaz-Maroto *et al.*, 2005; Moghtader, 2013; Zoubiri *et al.*, 2014).

La familia Lamiaceae ha recibido considerable atención en la búsqueda de alternativas naturales biológicamente activas en el manejo de insectos en la agricultura y granos almacenados (Shaaya *et al.*, 1991; Isman., 2000; Lee *et al.*, 2001). Esta familia incluye aproximadamente 220 géneros y de 3,500 a 4,000 especies (Almeida y Albuquerque, 2002). Muchas de estas especies tienen uso medicinal o como plantas aromáticas en la industria de cosméticos, alimentos, productos de higiene y perfumes (Lawrence, 1992). Los metabolitos secundarios encontrados en la familia son los terpenoides, flavonoides, alcaloides, iridoides y el ácido ursólico (Watson y Dallwitz, 1991). Una de las especies de esta familia es el romero (*Rosmarinus officinale* L.), en la cual se ha identificado la presencia de  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, ésteres terpénicos (1,8-

cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y  $\beta$ -cariofileno), los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, borneol y acetato de bornilo (Montes de Oca, 2010). Hinojo, pirú (*Schinus molle* L.) y romero son plantas que se cultivan o se desarrollan espontáneamente en México. En atención a los resultados presentados en el primer Capítulo sobre el efecto biológico en insectos del aceite esencial de algunas de las especies de las familias botánicas referidas contra *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), en el presente capítulo se planteó el objetivo de identificar la composición química y abundancia del aceite esencial de siete plantas aromáticas de México con potencial insecticida, con la finalidad de contribuir al conocimiento de la fitoquímica de estos recursos naturales.

## 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Campo Experimental de Fitotecnia (CAEF) (19° 29.547' N, 52.470' O; 2267 msnm) y el Laboratorio de Fisiología de Frutales del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), en Chapingo, Texcoco, Edo. de México.

**2.4.1 Material vegetal y obtención de aceites.** Para la identificación de las especies de plantas se consultó el Herbario-Hortorio “Jorge Espinosa Salas” del Departamento de Preparatoria Agrícola de la UACH. Las plantas se establecieron en un invernadero a partir de semillas de *T. coronopifolia* (conocida como sonajilla, proveniente de una población de Santa María Tecuanulco, Municipio de Texcoco, Estado de México), *T. lemmonii* (conocida como rudilla, procedente de la Sierra de Mazatán, Sonora, México), *T. lucida* (o pericón, procedente de San Pablo Ixayoc, Texcoco, México) y *T. terniflora* (procedente de Los Altos de Chiapas, México). En las primeras semanas de mayo 2012 a junio de 2013, las plantas se trasplantaron en surcos de 75 cm de separación, y 15 cm de separación entre plantas (8.8 plantas m<sup>-2</sup>). Se aplicó un riego al momento del trasplante, y posteriormente el suministro de humedad se cubrió con la lluvia estacional. No se aplicó fertilizante y se deshirió manualmente. La cosecha del material vegetal para la extracción de aceite se realizó en el estado de floración completa. Las plantas de *F. vulgare* se tomaron de una plantación

establecida en el CAEF desde el año 2010. El material de *S. molle* se obtuvo de los árboles localizados en el CAEF y el material vegetal de *R. officinalis* se adquirió en Ecatzingo, México. La cosecha de la parte aérea de las plantas en floración, se realizó por medio de una ensiladora de maíz. Para la extracción de aceites se utilizaron de 150 a 200 kg de tejido fresco de cada especie (hoja, tallo y flor), biomasa que se llevó a un destilador de acero inoxidable con capacidad de 250 kg. El proceso de destilación fue mediante arrastre de vapor. El tiempo de destilación fue de aproximadamente 3 h a partir de la condensación, con lo que se obtuvieron de 200 a 400 mL de aceite esencial puro. Los aceites se almacenaron en frascos ámbar con tapa y se refrigeraron a 4°C para su posterior análisis fitoquímico.

**2.4.2 Identificación de compuestos.** Los componentes de los siete aceites esenciales se identificaron mediante cromatografía de gases con detector de masas (Adams, 2001). El cromatógrafo de gases CG 7890A (Agilent Technologies, USA) se acopló a un detector selectivo de masas 5975C Inert MSD con un detector triple eje (Agilent Technologies, USA), con ionización por impacto eléctrico (IE) de 70 eV. Se utilizó una columna HP-5ms® (California, USA), empacada con 5 % difenil-95 % dimetilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm Ø x 0.25 µm). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250 °C y 280 °C, respectivamente, las cuales se alcanzaron a una velocidad de 10 °C min<sup>-1</sup>. La temperatura inicial del horno (70 °C) se mantuvo por 1 min y se programó para alcanzar las temperaturas y la velocidad antes señaladas. La velocidad de flujo del gas acarreador (helio) se mantuvo a 1 mL min<sup>-1</sup>. Se inyectaron manualmente muestras diluidas (1/100) en acetona (v/v) de 1 µL, en modo “Split” automático (para diluir) mediante un inyector 7683D (Agilent Technologies, USA).

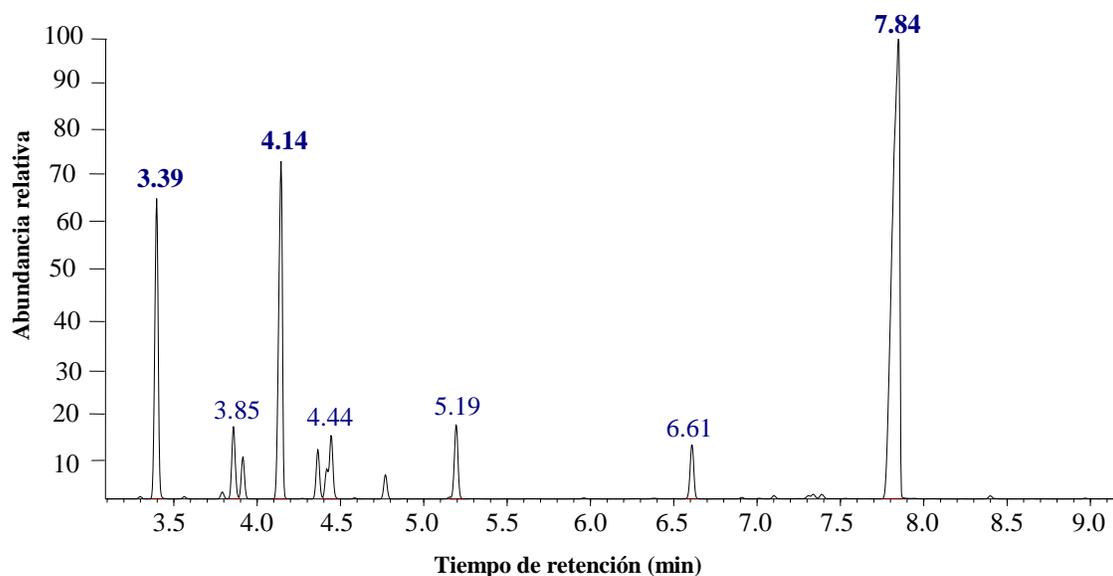
La abundancia relativa de compuestos se obtuvo a partir del porcentaje de área de los picos cromatográficos. Se consideraron compuestos mayoritarios aquellos con más de 5 % de abundancia relativa (Mora *et al.*, 2009). El intervalo de masas detectado fue de 35 a 500 m/z. Para calcular los índices de Kovats se usaron como referencias los compuestos *n*-Alcanos, *n*-octano (C<sub>8</sub> H<sub>18</sub>) y *n*-octadecano (C<sub>18</sub> H<sub>38</sub>). Se procesaron tres muestras iniciales, posteriormente la identificación de los componentes se realizó por comparación de los

índices de retención relativa, más la comparación de los espectros de masas con la base de datos NIST 05 del sistema CG-EM (National Institute of Standard and Technology) y con los datos espectrales publicados por la Carol Stream Corp., USA (Adams, 2001).

## 2.5 RESULTADOS

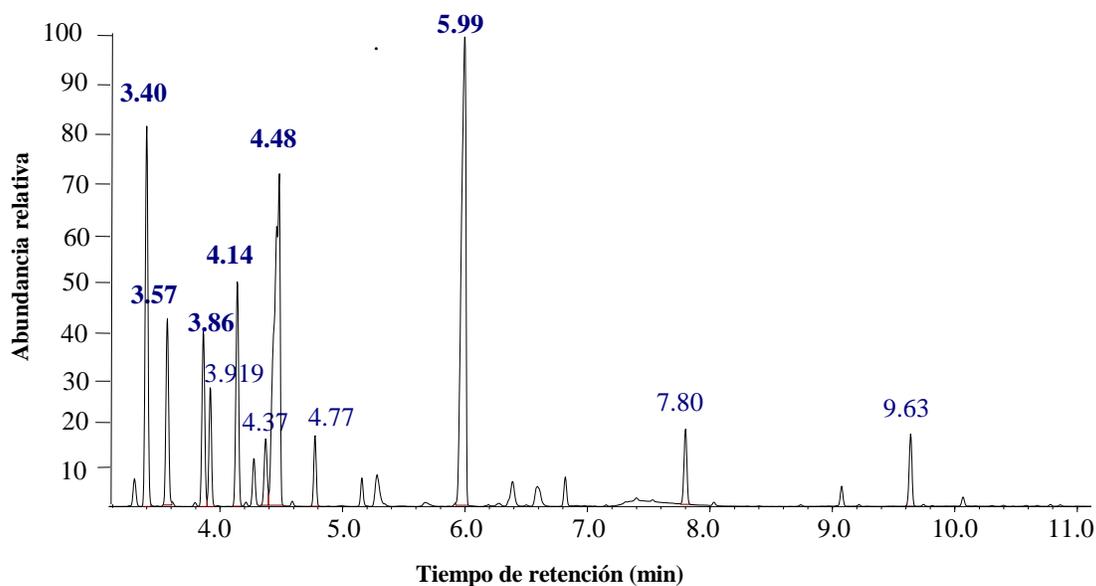
En total se identificaron de 18 a 31 compuestos presentes en cada uno de los aceites esenciales de las siete plantas evaluadas, separados (eluidos) en tiempos de retención (Tr) de 3 hasta 13 min. En *F. vulgare* (Tr: 3.3 a 7.8 min) se identificaron 18 compuestos, seguido por *S. molle* (Tr: 3.2 a 12.5 min) y *T. coronopifolia*, (Tr: 3.2 a 9.6 min) con 21, *R. officinalis* (Tr: 3.3 a 11.6 min) y *T. lucida* (Tr: 3.9 a 13.2 min) con 22, *T. terniflora* (Tr: 3.2 a 11.6 min) con 24 y *T. lemmonii* (Tr: 3.3 a 12.5 min) con 31 compuestos presentes (Cuadro 4, 5). Los compuestos mayoritarios en el aceite esencial oscilaron de tres hasta siete según la especie.

Los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *F. vulgare* fueron tres: *trans*-anetol (47.67 %) en un tiempo de retención de 7.84 min, biciclo[3.1.0]hexano, 4-metil-1-(1-metiletil)-, didehidro deriv. (17.14 %; Tr: 4.14 min) y  $\alpha$ -pineno (14.21 %; Tr: 3.39 min) (Fig. 2.1, Cuadro 2.1).



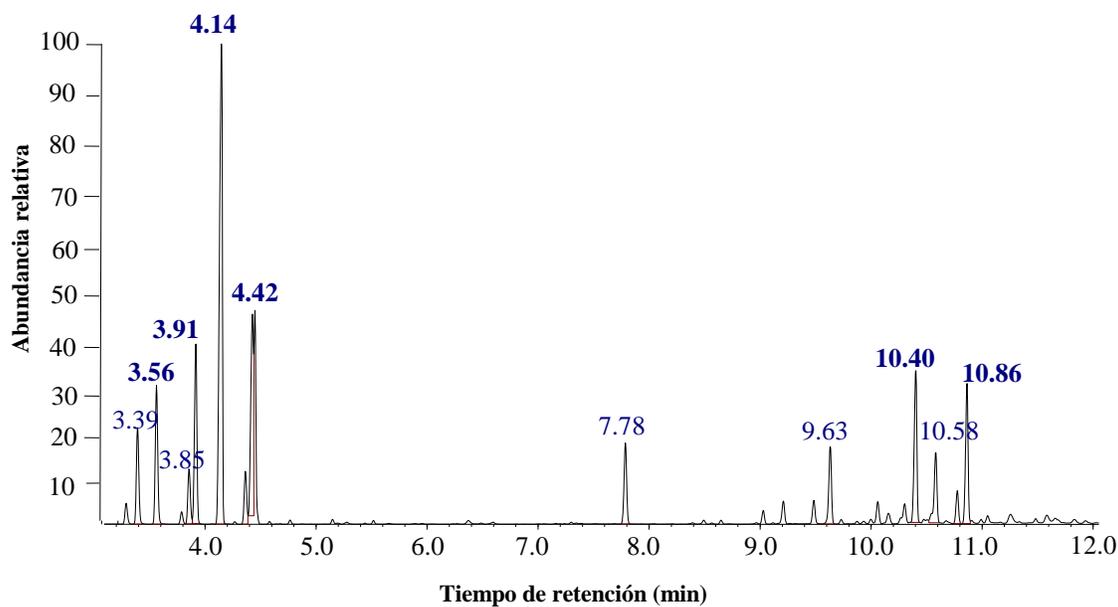
**Figura 2.1** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *F. vulgare*.

Los compuestos mayoritarios encontrados en el aceite esencial de *R. officinalis* fueron siete: (-)-alcanfor (24.05 %; Tr: 5.99 min), eucaliptol (22.29 %; Tr: 4.48 min),  $\alpha$ -pineno (12.13 %; Tr: 3.40 min), biciclo[3,1,0]hexano, 4-metil-1-(1-metil etil)-,dihidro deriv. (7.11 %; Tr: 4.14 min), canfeno (5.90 %; Tr: 3.57 min) y  $\beta$ -pineno (5.64 %; Tr: 3.86 min) (Fig. 2.2; Cuadro 2.1).



**Figura 2.2** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *R. officinalis*.

Para *S. molle* se identificaron seis compuestos mayoritarios: biciclo[3.1.0]hexano, 4-metil-1-(1-metiletil)-, dihidro deriv. (27.74 %; Tr: 4.14 min), D-limoneno (11.06 %; Tr: 4.42 min),  $\beta$ -miraceno (8.44 %; Tr: 3.91 min), germacreno D (7.69 %; Tr: 10.40 min), 1,2,3,5,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)- Neftaleno (6.87 %; Tr: 10.86 min) y canfeno (6.63 %; Tr: 3.56 min) (Fig. 2.3; Cuadro 2.1).



**Figura 2.3** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *S. molle*.

**Cuadro 2.1** Composición química (%) del aceite esencial de la parte aérea de *F. vulgare*, *R. officinalis* y *S. molle*

N°	Compuesto	Tr	<i>F. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	<i>S. molle</i>
1	Triciclo[2,2,1,0(2,6)heptano, 1,7,7-trimetil-	3.28	–	–	1.01
2	$\alpha$ -pineno	3.39	<b>14.21</b>	<b>12.13</b>	4.63
3	Canfeno	3.56	0.12	<b>5.90</b>	<b>6.63</b>
4	$\beta$ -Felandreno	3.78	0.33	–	0.59
5	$\beta$ -pineno	3.85	3.46	<b>5.64</b>	2.70
6	$\beta$ -mirceno	3.91	1.88	3.50	<b>8.44</b>
7	Biciclo[3,1,0]hexano, 4-metil-1-(1-methylethyl)-, didehidro deriv.	4.14	<b>17.14</b>	<b>7.11</b>	<b>27.74</b>
8	$\alpha$ -terpineno	4.27	–	1.47	–
9	o-Cimeno	4.36	2.33	2.29	2.58
10	D-Limoneno	4.42	–	–	<b>11.06</b>
11	$\beta$ -Ocimeno	4.44	4.36	–	–
12	Eucaliptol	4.48	–	<b>22.29</b>	–
13	Ocimeno	4.58	0.05	–	–
14	$\gamma$ -Terpineno	4.77	1.14	2.04	–
15	Carvenona	5.16	–	0.84	–
16	Fenchona	5.19	3.74	–	–
17	Linalool	5.26	–	1.74	–
18	(-)-Alcanfor	5.99	0.06	<b>24.05</b>	–
19	Terpene-4-ol	6.37	0.08	1.32	–
20	Terpenol	6.59	–	1.32	–

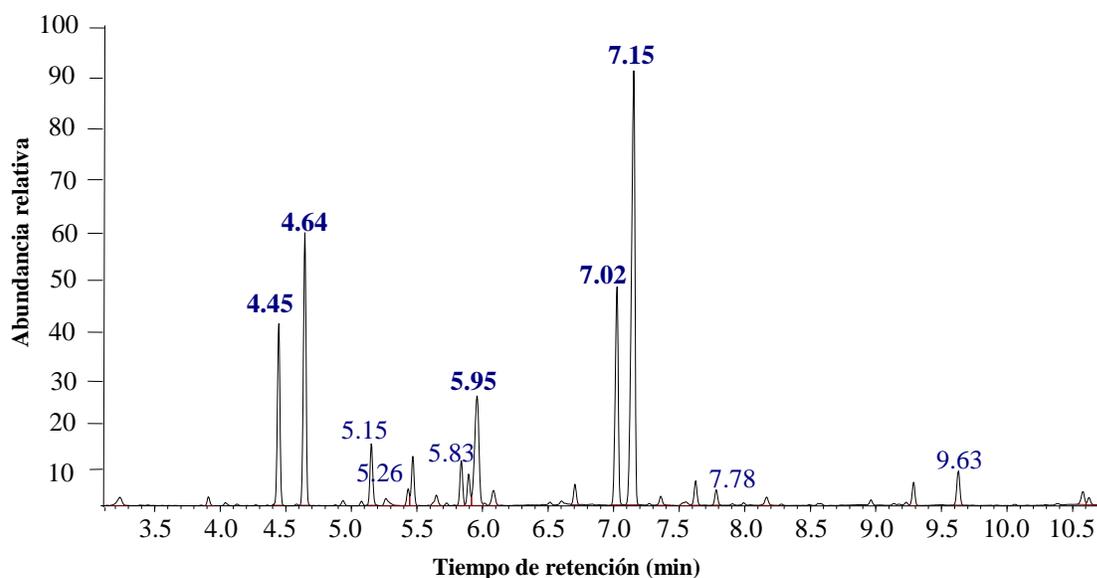
21	Isoanetol	6.61	2.72	–	–
22	4,4 dimetil-ciclohexano-2-en-1-ol	7.01	0.04	–	–
23	Verbenona	7.02	–	0.95	–
24	p-Anisaldehido	7.33	0.25	–	–
25	Anetol	7.78	<b>47.67</b>	–	3.94
26	Bornil acetato	7.80	–	2.55	–
27	(6-Hidroximetil-2,3-dimetilfenil)metanol	7.94	0.04	–	–
28	Copaeno	9.02	–	–	0.65
29	(E)-Metil cinnamato	9.07	–	0.63	–
30	$\alpha$ -Gurjuneno	9.48	–	–	1.16
31	$\beta$ -Cariofileno	9.63	–	2.36	4.01
32	$\alpha$ -Bergamoteno	9.74	–	0.06	–
33	$\alpha$ -Cariofileno	10.05	–	0.30	1.11
34	(+)-Aromadendreno	10.15	–	–	0.66
35	$\gamma$ -Muuroleno	10.30	–	–	1.34
36	Germacreno D	10.39	–	–	<b>7.69</b>
37	$\alpha$ -Amorfeno	10.58	–	–	4.03
38	$\delta$ -Cadineno	10.78	–	0.06	–
39	Neftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-methyl-4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1a,4aa,8aa)-	10.77	–	–	1.62
40	Neftaleno, 1,2,3,5,8a-hexahidro-4,7-dimethyl-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	10.86	–	–	<b>6.87</b>
41	$\beta$ -Cariofileno oxido	11.66	–	0.46	–
42	$\alpha$ -Cadinol	12.52	–	–	1.54
Numero de compuestos total			18	22	21
Abundancia total de compuestos			99.62	99.01	100.0

\* La identificación se realizó comparando los tiempos de retención de los aceites con el estándar y los datos espectrales de la librería Nist05. Tr: Tiempo de retención fuera de serie homóloga de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub> (Identificado por EM). – No identificado.

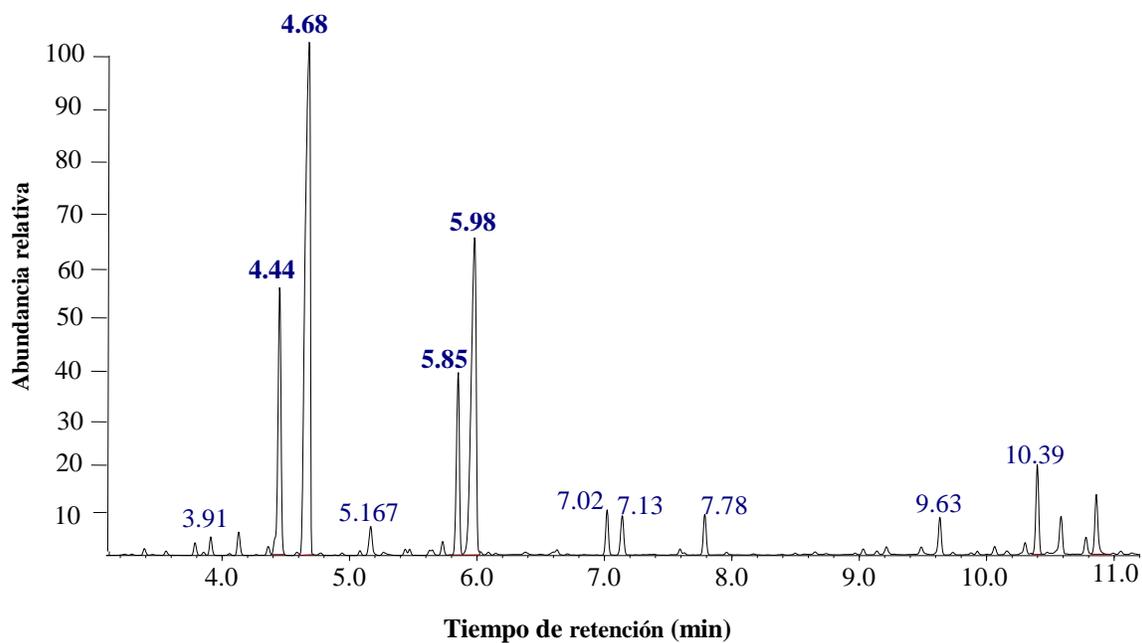
Por otro lado, los compuestos que se identificaron en los aceites esenciales de las cuatro especies de *Tagetes* variaron considerablemente en el número de compuestos y abundancia o concentración (Cuadro 2.2). Las cuatro especies *Tagetes* evaluadas comparten compuestos menores como el anetol, *trans*-tagetona,  $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -cariofileno y 4-etil-4-metil-1-hexano. Los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* poseen en común la *cis*-tagetona, verbenona y *cis*-verbenona; mientras que en *T. coronopifolia* y *T. lucida* fue el linalool.

Los cinco compuestos mayoritarios en *T. coronopifolia*, en orden decreciente, fueron la verbenona (30.74 %; Tr: 7.15 min), 4-etil-4-metil-1-hexano (14.49 %; Tr: 4.64 min), la

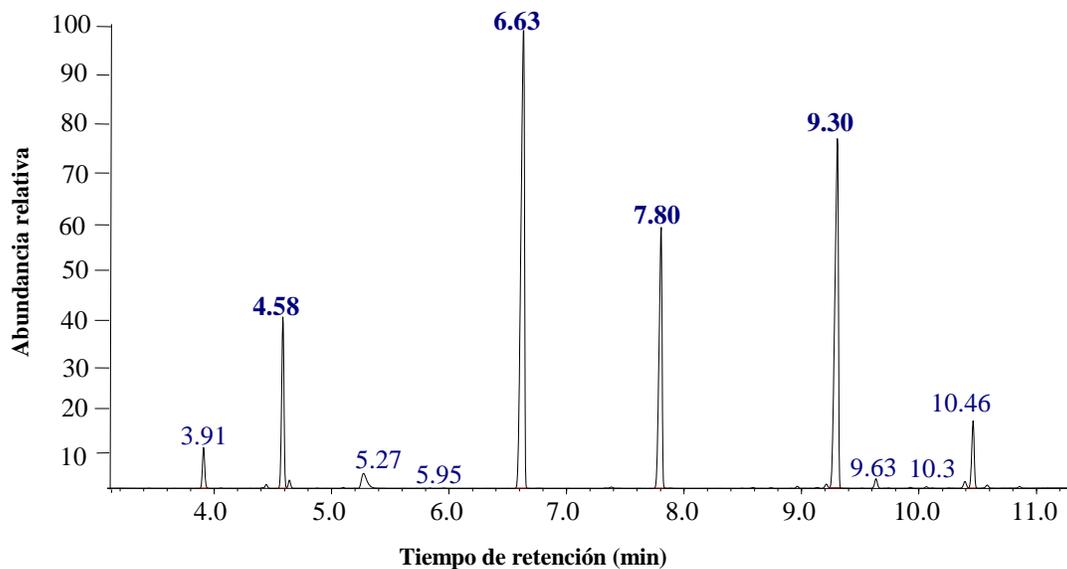
*cis*-verbenona (13.26 %; Tr: 7.02 min),  $\beta$ -ocimeno (9.51 %; Tr: 4.45 min) y *trans*-tagetona (9.37 %; Tr: 5.95 min) (Fig. 2.4; Cuadro 2.2). Para *T. lemmonii* se encontraron cuatro compuestos mayoritarios: 4-etil-4-metil-1-hexano (35.21 %; Tr: 4.68 min), *trans*-tagetona (21.79 %; Tr: 5.98 min),  $\beta$ -ocimeno (11.51 %; Tr: 4.45 min) y *cis*-tagetona (7.53 %; Tr de 5.85 min) (Fig. 2.5; Cuadro 2.2). En *T. lucida* se presentaron cuatro: metil cavicol (36.01 %; Tr: 6.63 min), metil eugenol (27.25 %; Tr: 9.30 min), anetol (17.20 %; Tr: 7.80 min) y  $\beta$ -ocimeno (8.98 %; Tr: 4.58 min) (Fig. 2.6; Cuadro 2.2). En cuanto a *T. terniflora* se identificaron cuatro compuestos mayoritarios: *trans*-tagetona (28.65 %; Tr: 5.98 min), 4-etil-4-metil-1-hexano (20.48 %; Tr: 4.66 min),  $\beta$ -ocimeno (19.26 %; Tr: 4.45 min) y *cis*-verbenona (13.83 %; Tr: 7.16 min) (Fig. 2.7; Cuadro 2.2).



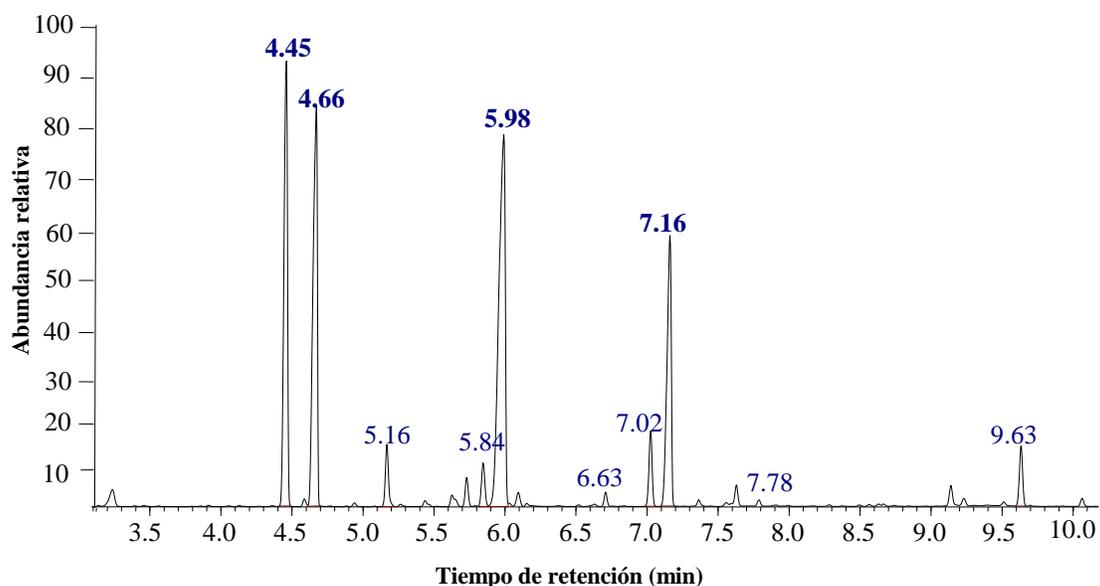
**Figura 2.4** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *T. coronopifolia*. Verbenona (Tr= 7.15 min), 4-etil-4-metil-1-hexano (Tr= 4.64 min), *cis*-verbenona (Tr= 7.02 min),  $\beta$ -ocimeno (Tr= 4.45 min) y *trans*-tagetona (Tr= 5.95 min).



**Figura 2.5** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *T. lemmonii*. 4-etil-4-metil-1-hexano (Tr= 4.68 min), *trans*-tagetona (Tr= 5.98 min),  $\beta$ -ocimeno (Tr= 4.45 min) y *cis*-tagetona (Tr= 5.85 min).



**Figura 2.6** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *T. lucida*. Metil cavicol (Tr= 6.63 min), metil eugenol (Tr= 9.30 min), anetol (Tr= 7.80 min) y  $\beta$ -ocimeno (Tr= 4.58 min).



**Figura 2.7** Cromatograma de los compuestos presentes en el aceite esencial de la parte área de *T. terniflora*. *trans*-tagetona (Tr= 5.98 min), 4-etil-4-metil-1-hexano (Tr= 4.66 min),  $\beta$ -ocimeno (Tr= 4.45 min) y *cis*-verbenona (Tr= 7.16 min).

**Cuadro 2.2.** Composición química (%) del aceite esencial de la parte aérea de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii*, *T. lucida* y *T. terniflora* (Asteraceae)

N°	Compuesto	Tr	<i>T. cor</i>	<i>T. lem</i>	<i>T. luc</i>	<i>T. ter</i>
1	Furan, 2,3,5-trimetil	3.23	0.83	–	–	1.10
2	$\alpha$ -pineno	3.39	–	0.26	–	–
3	$\beta$ -felandreno	3.78	–	0.47	–	–
4	$\beta$ -pineno	3.85	–	–	2.09	–
5	$\beta$ -mirceno	3.91	–	0.66	–	–
6	Biciclo[3,1,0]hexano, 4-metil-1-(1-metiletil)-, didehidro deriv.	4.14	–	0.91	–	–
7	<i>o</i> -Cimeno	4.36	–	0.35	–	–
8	$\beta$ -Ocimene	4.44	<b>9.51</b>	<b>11.51</b>	0.24	<b>19.26</b>
9	Ocimeno	4.58	–	–	<b>8.98</b>	–
10	4-etil-4-metil-1-hexano	4.64	<b>14.49</b>	<b>35.21</b>	0.42	<b>20.48</b>
11	Ciclopropano, octil-	5.15	3.40	–	0.05	–
12	Carvenona	5.16	–	1.33	–	2.29
13	Linalool	5.26	0.72	–	1.87	–
14	3-metilbut-2-enoic acid, 4-nitrofenil ester	5.43	0.85	0.23	–	–
15	4- <i>t</i> -Pentilciclohexano	5.46	2.70	–	–	–
16	2-Octen-4-ol, (E)-	5.47	–	0.22	–	–
17	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimetil-, (E,Z)-	5.62	–	–	–	0.69
18	2-Dodecen-4-yne, (E)-	5.64	0.80	–	–	–
19	2-Dodecen-4-yne, (Z)-	5.65	–	0.38	–	–
20	5-Isopropil-3,3-dimetileno-2,3-metileno-2,3-					

	dihidrofuran	5.73	–	0.53	–	1.06
21	<i>cis</i> -Tagetona	5.84	2.44	<b>7.53</b>	–	1.73
22	N,N'-Bis(2,6-dimetil-6-nitrosohept-2-en-4-ona	5.89	1.81	–	–	–
23	<i>Trans</i> -Tagetona	5.95	<b>9.37</b>	<b>21.79</b>	0.03	<b>28.65</b>
24	Sorbic acid vinil ester	6.09	1.06	–	–	0.56
25	n-Decanal	6.62	–	0.40	–	–
26	4-Alilanisol	6.63	–	–	<b>36.01</b>	–
27	3,5-Heptadienal, 2-etilideno-6-metil-	6.70	1.18	–	–	0.52
28	Verbenona	7.02	<b>30.74</b>	1.72	–	2.85
29	<i>cis</i> -Verbenona	7.10	<b>13.26</b>	1.70	–	<b>13.83</b>
30	Fenol, 2-etil-4,5-dimetil-	7.36	0.58	–	–	0.28
31	1,2- <i>cis</i> -1,5- <i>trans</i> -2,5-dihidroxi-4-metil-1-(1-hidroxi-1-isopropil)ciclohex-3-ano	7.55	–	–	–	0.19
32	2-Ciclohexen-1-ona, 3-metil-6-(1-metiletetil)-, (S)-	7.62	1.40	–	–	0.78
33	Anetol	7.78	0.87	1.61	<b>17.20</b>	0.23
34	2-methoxy-4-vinilfenoll	8.16	0.64	–	–	–
35	Eugenol	8.74	–	–	0.05	–
36	Copaeno	9.02	–	0.24	–	–
37	1H-Ciclopropa[a]naftaleno, 1a, 2,3,3a,4,5,6,7b-octahidro-1,1,3a,7-tetrametil-, [1aR-(1aa,3aa,7ba)]-	9.14	–	–	–	0.82
38	$\beta$ -Elemene	9.21	–	0.36	0.26	–
39	2-(3-Isopropil-4-metil-pent-3-en-1-ynil)-2-metil-ciclobutanona	9.23	–	–	–	0.33
40	Dodecan-1-il acetato	9.28	1.30	–	–	–
41	Metileugenol	9.30	–	–	<b>27.25</b>	–
42	$\alpha$ -Gurjunene	9.48	–	0.39	–	0.19
43	$\beta$ -Cariofileno	9.63	2.08	1.57	0.59	2.36
44	$\alpha$ -Cariofileno	10.05	–	0.36	0.10	0.32
45	$\gamma$ -Muurolene	10.30	–	0.59	–	–
46	Germacreno D	10.39	–	3.52	0.42	–
47	Isoeugenol metil eter	10.46	–	–	3.74	–
48	$\alpha$ -Amorfenol	10.58	–	1.79	0.20	0.93
49	$\beta$ -Bisaboleno	10.62	–	–	–	0.25
50	$\delta$ -Cadineno	10.78	–	2.69	0.10	–
51	Ciclohexanometanol, 4-etenil-a, a, 4-trimetil-3-(1-metiletetil)-, [1R-(1a, 3a, 4b)]-	11.28	–	0.23	–	–
52	<i>cis,trans</i> -Nerolidol	11.32	–	–	0.03	–
53	$\beta$ -Cariofileno oxido	11.66	–	0.27	0.12	0.17
54	tau-Muurolol	12.40	–	0.51	–	–
55	$\alpha$ -Cadinol	12.52	–	0.69	–	–
56	Valeranona, (+)-	12.70	–	–	0.03	–
57	2H-1-Benzopiran-2-ona, 7-metoxi-	13.23	–	–	0.12	–
Numero de compuestos total			21	31	22	24
Abundancia total de compuestos			100.0	100.0	99.9	99.87

\* La identificación se realizó comparando los tiempos de retención de los aceites con el estándar y los datos espectrales de la librería Nist05. Tr: Tiempo de retención fuera de serie homóloga de alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub> (Identificado por EM). – No identificado.

## 2.6 DISCUSIÓN

El número total de compuestos químicos identificados en el aceite esencial de *F. vulgare* coincide con lo reportado por García-Jiménez *et al.* (2000), Moghtader (2013) y Rahimmalek *et al.* (2014); pero difieren de otros estudios en los que se reportan de 9 a 14 moléculas en el aceite (Akgül y Bayrak, 1988; Damjanovic *et al.*, 2005; Telci *et al.*, 2009), esto tal vez se debe a la sensibilidad de la técnica usada. La presencia de *trans*-anetol (47.7 %) como compuesto mayoritario en el aceite esencial de *F. vulgare* (Damjanovic *et al.*, 2005; Fang *et al.*, 2006; Zoubiri *et al.*, 2014) se confirmó en este estudio (Cuadro 1). Al respecto, Rahimmalek *et al.* (2014) reportan una variación en la concentración de diferentes moléculas, principalmente en *trans*-anetol de 41.2 a 56.6 %, presentes en el aceite esencial de diversas regiones de Irán. Las moléculas encontradas por García-Jiménez *et al.* (2000) en su estudio no coinciden del todo con lo encontrado en el presente trabajo, ya que ellos reportan la presencia de fenchona (24.6 %), metil cavicol (54.9 %), limoneno (5.7 %),  $\alpha$ -felandreno (3.5 %) y mirceno (2.5 %) en aceite de una población de *F. vulgare* de España, en este estudio se encontró a *trans*-anetol (47.7 %), 4-metil-1-(1-metiletil)-biciclo[3.1.0]hexano, didehidro deriv. (17.1 %) y  $\alpha$ -pineno (14.2 %), difiriendo también de otros estudios (Fang *et al.*, 2006; Zoubiri *et al.*, 2014). Estas diferencias posiblemente se deban al origen geográfico de las plantas, la variabilidad genética de los individuos, la calidad del equipo para extracción utilizado (cristal *vs.* convencional de acero inoxidable), la parte de la planta utilizada y la temporada de colecta, entre otras (Perry *et al.*, 1999; Marotti *et al.*, 2004; González *et al.*, 2011).

En el aceite de *R. officinalis* se encontraron los 24 compuestos reportados ya en otros estudios (Genena *et al.*, 2008; Slimane *et al.*, 2015); sin embargo, existen trabajos que muestran en el aceite esencial de esta planta la presencia de 13 a 15 compuestos (Gachkar *et al.*, 2007; Napoli *et al.*, 2010; Okoh *et al.*, 2010) o de 31 a 47 compuestos (Derwich *et al.*, 2011; Verma *et al.*, 2011). En este estudio se confirmó la presencia de los compuestos mayoritarios alcanfor (24.05 %; Tr: 5.9 min), eucaliptol (22.29 %; Tr: 4.5 min),  $\alpha$ -pineno (12.13 %; Tr: 3.4 min), canfeno (5.90 %; Tr: 3.6 min) y  $\beta$ -pineno (5.64 %; Tr: 3.9 min) (Gachkar *et al.*, 2007; Napoli *et al.*, 2010). En España se reportan los siguientes compuestos

mayoritarios en el aceite esencial:  $\alpha$ -pineno, eucaliptol, alcanfor, verbenona y borneol (Santoyo *et al.*, 2005). Por otro lado, Slimane *et al.* (2015) obtuvieron los mismos compuestos mayoritarios pero con diferente abundancia y tiempo de retención; eucaliptol (34.81 %; Tr: 11.2 min), seguido por alcanfor (12.91 %; Tr: 15.5 min),  $\alpha$ -pineno (11.87 %; Tr: 7.4 min),  $\beta$ - pineno (7.98 %; Tr: 8.9 min) y canfeno (5.12 %; Tr: 7.9 min). La abundancia de los compuestos tal vez esté más relacionada a la temporada de cosecha del material vegetal, así como a las estructuras y solvente usado en la separación de moléculas; de igual manera, la temperatura del horno, gas acarreador y tipo de columna usado ya que estos pueden ocasionar diferencias en los Trs. Por otro lado, la actividad biológica de estos compuestos contra insectos está documentada; el eucaliptol tiene efecto sobre larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), huevos de *Pediculus humanus capitis* De Geer (Anoplura: Pediculidae) y ácaros *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (Cavalcanti *et al.*, 2004; Laborda *et al.*, 2013). Simas *et al.* (2004) mencionan que los monoterpenos  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno presenta actividad larvicida en *A. aegypti*. Además, el alcanfor y canfeno muestran actividad repelente contra moscas y palomillas (Mazyad y Soliman, 2001; Slimane *et al.*, 2014).

El total de compuestos identificados en el aceite esencial de *S. molle* concuerda con lo reportado por diversos autores (Deveci *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2014); no obstante, se ha reportado una cantidad más alta de moléculas identificadas tanto en frutos como en hojas (45 a 69 compuestos) en árboles de Turquía y Arabia Saudita (Baser *et al.*, 1997; Abdel-Sattar *et al.*, 2010). Los estudios fitoquímicos obtenidos de diversas poblaciones de *S. molle* del mundo no concuerdan plenamente con los compuestos mayoritarios encontrados en éste y otros estudios. Baser *et al.* (1997) reportan como compuestos mayoritarios al  $\alpha$ -felandreno (38.1 %),  $\beta$ -felandreno (11.8 %), limoneno (11.6 %) y  $\alpha$ -cadinol (7.2 %) de Turquía; mientras que en otra región de Turquía (Bornova), Deveci *et al.* (2010) identificaron a delta cadinene (11.28 %),  $\alpha$ -cadinol (10.77 %), germacreno D (6.54 %),  $\alpha$ -felandreno (6.94 %), ledeno (5.21 %) y elemol (5.11 %). Los resultados muestran una diferente composición de *S. molle*, la cual posiblemente se deba a diferencias propias de la población colectada, a la temporada de colecta y a la región donde se colectó el material biológico (Abdel-Sattar *et al.*, 2010).

Para el género *Tagetes*, actualmente se reporta la presencia de terpenos, tiofenos, sesquiterpenos, carfenoides, fenilpropanoides y flavonoides (Xu *et al.*, 2012). Algunos metabolitos secundarios que se encontraron en las cuatro especies de *Tagetes* (Cuadros 4, 5, 6 y 7) ya se habían identificado en trabajos previos (Tucker y Maciarello, 1996; Marotti *et al.*, 2004; López *et al.*, 2011; Díaz-Cedillo *et al.*, 2013; Serrato *et al.*, 2014). Sin embargo, se presentan variantes asociadas con la procedencia geográfica del material biológico o características genéticas; este fue el caso de los compuestos en el aceite esencial de *T. lemmonii* y *T. lucida* cultivadas en Chapingo, México cuyo porcentaje difirió de los registrados en materiales de esas especies de procedencia geográfica distinta (Tucker y Maciarello, 1996; Marotti *et al.*, 2004). En el caso de los compuestos mayoritarios encontrados en el aceite esencial de *T. coronopifolia* de la población de Santa María Tecuanulco, Municipio de Texcoco, Estado de México (Cuadro 4), éstos difieren de los reportados por Díaz-Cedillo *et al.* (2013) quienes también trabajaron con esa población; mientras que ellos reportan (1S)-6,6-dimetil-2-metilen-biciclo[3.1.1] heptan-3-ona, (1R)-cis-4,6,6-trimetilbiciclo-[3.1.1] hept-3-en-2-ona (verbenona), 2-oxo-decanoato de metilo y 2,7,7-trimetilbiciclo[3.1.1] hept-2-en-6-ona (crisantenona) en tallo-hoja; y (1S)-6,6-dimetil-2-metilen-biciclo[3.1.1] heptan-3-ona y verbenona en cabezuela, en el presente trabajo los compuestos mayoritarios fueron verbenona, 4-etil-4-metil-1-hexano, *cis*-verbenona,  $\beta$ -ocimeno y *trans*-tagetona. Estas diferencias probablemente se deben al solvente usado (cloruro de metileno *vs.* acetona) en la fragmentación de partículas para la exploración de los compuestos, a la calidad y presión de los equipos, la fecha de colecta, la parte y cantidad de material vegetal utilizado, así como al método de extracción (Perry *et al.*, 1999). Al respecto, Ohnmeiss y Baldwin (2000) señalan que las hojas jóvenes a menudo poseen mayor concentración de metabolitos secundarios con respecto a las hojas maduras.

La presencia de la verbenona como compuesto mayoritario en los órganos aéreos de *T. coronopifolia* y *T. terniflora*; tagetona en *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora*, y de  $\beta$ -ocimeno en las cuatro especies de *Tagetes* evaluadas, refiere que estos compuestos juegan un papel importante en la protección de plantas aromáticas contra insectos plaga (Koul *et al.*, 2008). La verbenona es señalada como repelente contra el coleóptero *Dendroctonus ponderosae* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae), que ataca a coníferas (Gillette

*et al.*, 2009), tóxica para adultos de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) y *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae), y ovicida para *M. domestica* (Rice y Coats, 1994). De los compuestos tagetona y ocimeno no hay antecedentes de su actividad biológica; sin embargo, algunos estudios demuestran que el ocimeno presente en el aceite esencial de flores de *T. erecta*, es efectivo como repelente de insectos (Ray *et al.*, 2000; Koul *et al.*, 2008), lo cual es necesario explorar a detalle.

El *trans*-anetol presente en el aceite esencial de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. filifolia* y *T. lucida*, se reporta con las siguientes propiedades: insecticidas, repelente e inhibitorio del crecimiento y oviposición (Koul *et al.*, 2008; Camarillo *et al.*, 2009). Este compuesto se encuentra en diversas especies aromáticas y su efecto biológico está ampliamente estudiado contra varias especies de insectos plaga (Lee *et al.*, 1997; Chang y Ahn, 2001; Koul *et al.*, 2007; Camarillo *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2012). El *trans*-anetol en combinación con el resto de las moléculas presentes en el aceite esencial de flores, tallo y hoja, potencia su actividad biológica sobre los insectos tratados, en comparación con los tratados por *trans*-anetol como producto puro (Camarillo *et al.*, 2009). Algunos autores consideran a este compuesto como sinergista del linalool (Koul *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2008). Al respecto, Feeny (1992) confirma la existencia de metabolitos secundarios presentes en cantidades variables en el tiempo en diversas estructuras vegetales, los cuales potencian la actividad biológica de otras moléculas, mismas que por sí solas tienen efecto en los insectos plaga. De lo anterior se infiere que la presencia del *trans*-anetol en *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lucida* podría influir de manera positiva en la acción tóxica y repelente de los extractos contra *D. citri*, como se reporta en el Capítulo III.

Dada la variabilidad de compuestos encontrados en el aceite esencial de las siete plantas aromáticas, resulta conveniente la cosecha de toda la planta para las especies herbáceas de *Tagetes* (*T. coronopifolia* y *T. terniflora*) o solamente la parte aérea en floración en especies perennes (*F. vulgare*, *R. officinalis*, *S. molle*, *T. lemmonii* y *T. lucida*) con el fin de obtener mayor rendimiento de aceite y por ende la mayor diversidad de metabolitos secundarios. Si se cosecha toda la planta, se sabe que algunos compuestos se sintetizan en las raíces de la planta; por ejemplo, los alcaloides originados en la raíz del tabaco pueden ampliar su efectividad contra insectos (Baldwin, 1991).

Los numerosos productos químicos utilizados actualmente contra insectos son monomoleculares, predisponiendo el desarrollo de resistencia genética a cada una de esas moléculas en organismos plaga. Esto puede ocasionar a su vez efectos adversos al ambiente y al humano, muchas veces costosos (Rodríguez *et al.*, 2003; Rodríguez, 2006). Los aceites esenciales, tales como los caracterizados en este estudio, contienen varias moléculas, algunas de ellas con efectos biológicos contra insectos, que podrían tener un menor impacto en su resistencia genética, son biodegradables y por tanto amigables con el ambiente y podrían ser de menor impacto en la salud humana (Isman, 2000); además, podrían resultar insumos de bajo costo.

Dentro de las estrategias de manejo integrado de plagas insectiles, es importante conformar una tecnología que posibilite la obtención de bioplaguicidas y biorepelentes, toda vez que en México existan abundantes recursos naturales. Al estudiar las plantas aromáticas, cultivadas o de distribución natural, debe considerarse su caracterización química y su evaluación toxica, repelente y de compatibilidad a insectos, tareas que en el presente Capítulo se han cubierto parcialmente pero que se amplían en los Capítulos III y IV, retomando como modelo biológico de estudio a *D. citri* y *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae).

## 2.7 Conclusiones

En total se identificaron de 18 a 31 compuestos presentes en las siete especies de plantas aromáticas, de los cuales se encontraron tres compuestos mayoritarios en el aceite esencial de la parte aérea de *F. vulgare*; cuatro en *T. lemmonii*, *T. lucida* y *T. terniflora*; cinco en *T. coronopifolia* y seis en *R. officinalis* y *S. molle*. Dentro de los compuestos más importantes sobresalen *trans*-anetol y  $\alpha$ -pineno para *F. vulgare*; alcanfor, eucaliptol y  $\alpha$ -pineno para *R. officinalis*; D-limoneno,  $\beta$ -mirceno, canfeno y germacreno D para *S. molle*; mientras que para las especies de *Tagetes*,  $\beta$ -ocimeno y *trans*-tagetona fueron comunes en los aceites de las cuatro especies evaluadas. La Verbenona fue un compuesto presente exclusivamente en *T. coronopifolia* y *T. terniflora*; mientras que el *trans*-anetol se encontró en *T. lucida* y *F. vulgare*.

## CAPÍTULO III

### ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES EN *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

#### 3.1 RESUMEN

Como una alternativa a los insecticidas sintéticos para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), vector del Huanglongbing, se evaluó la toxicidad y repelencia de extractos acuosos, etanólicos y aceites esenciales de diversas especies vegetales reconocidas por sus propiedades plaguicidas contra *D. citri*. Adultos y ninfas se expusieron a discos de hoja de *Citrus sinensis* cv Valencia tratados por aspersión e inmersión con diferentes concentraciones de extractos y aceites extraídos. La repelencia se evaluó al exponer adultos a hojas tratadas dentro de arenas experimentales y determinando el número de insectos mantenidos sobre las hojas después de las 4, 5, 6 y 24 h en comparación con las hojas testigo tratadas con Tween 20 al 0.1 %. Los extractos acuosos y etanólicos de *Tagetes coronopifolia* Willd., *T. erecta* L. y *T. lucida* Cav. (Asteraceae), y los aceites de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) y *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) no causaron ningún efecto repelente o insecticida sobre *D. citri*. En cambio, los aceites de *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* Gray, *T. lucida* y *T. terniflora* Kunth fueron tóxico y/o repelente tanto en adultos como en ninfas. Existiendo una relación positiva entre la toxicidad y la concentración. Adultos y ninfas mostraron efecto tóxico a una concentración de 10.0 mg mL<sup>-1</sup> y 0.1 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Los aceites de *T. lucida*, *T. coronopifolia* y *T. terniflora* mostraron acción repelente (>92 %) a 40 mg mL<sup>-1</sup>; este efecto estuvo asociado con la concentración y disminuyó a través del tiempo. Los resultados muestran que los aceites extraídos de *Tagetes* podrían representar una defensa potencial dentro del manejo integrado de *Diaphorina citri*.

**PALABRAS CLAVES:** Huanglongbing, manejo de plagas, repelencia, *Tagetes*, toxicidad, vectores.

**BIOLOGICAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AGAINST *Diaphorina citri***  
**(HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

**3.2 ABSTRACT.**

As an alternative to synthetic insecticides for the control of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), the vector of Huanglongbing, this study assessed the toxicity and repellency of water and ethanolic extracts and extracted oils from diverse plant species, previously recognized as promising sources of compounds with pesticide properties against *D. citri*. Adults and nymphs were exposed to leaf discs of *Citrus sinensis* cv. Valencia that had been treated by spraying or immersion with different concentrations of extracted oils. Repellency was assessed by exposing adults to treated leaves in experimental arenas and determining the number of insects that remained on the leaf after 4, 5, 6 and 24 h in comparison with the control leaves treated only with 0.1 % Tween 20. The water and ethanolic extracts of *Tagetes coronopifolia* Willd., *T. erecta* L. and *T. lucida* Cav. (Asteraceae), and *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) and *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) oils did not cause any repellent or insecticidal effects on *D. citri*. In contrast, oil extracts from *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* Gray, *T. lucida* and *T. terniflora* Kunth were toxic and/or repellent to both adults and nymphs. There was a positive relationship between toxicity and concentration. Adults and nymphs suffered toxic effects of a concentration of 10.0 mg mL<sup>-1</sup> and 0.1 mg mL<sup>-1</sup>. Oils extracted from *T. lucida*, *T. coronopifolia* and *T. terniflora* exhibited repellency (>92 %) at 40 mg mL<sup>-1</sup>; this was correlated with concentration and decreased over time. The results showed that oils extracted from *Tagetes* could represent a potential defense to integrate in the management of *Diaphorina citri*.

**KEY WORDS:** Huanglongbing, pest management, repellency, *Tagetes*, toxicity, vectors,

### 3.3 INTRODUCCIÓN

*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es considerado la plaga de mayor importancia para los cítricos debido a su capacidad para transmitir las bacterias *Candidatus Liberibacter* spp., asociadas a la enfermedad Huanglongbing (HLB) (Gottwald, 2010; Bassanezi *et al.*, 2011; Bové, 2012). Por esta razón, el control del insecto es vital para el manejo de la enfermedad (Halbert y Manjunath, 2004; Hall *et al.*, 2012). El control químico del vector es la principal táctica para reducir la dispersión del HLB en los huertos de cítricos (Childers *et al.*, 2002; Stansly y Qureshi, 2007). Sin embargo, el uso excesivo y dosis altas de productos químicos convencionales ha afectado negativamente a las poblaciones de enemigos naturales y propiciado el desarrollo de resistencia a los insecticidas (Mann *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2011; 2012). Por estas razones, en los últimos años, ha crecido el interés por el uso de extractos vegetales o bioplaguicidas alternativos para el manejo de *D. citri* (Fontes-Puebla *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012). Los extractos vegetales poseen la ventaja de ser de amplio espectro; debido a la presencia de varios principios activos lo que les permite ejercer su toxicidad a través de diferentes modos de acción. Además, de que son biodegradables y no tóxicos para el humano y otros mamíferos (Isman, 2000; Mann *et al.*, 2012).

Aunque en México existe una gran diversidad vegetal, se desconocen las propiedades biológicas de varias plantas y pudieran ser útiles en el control de *D. citri* (Silva *et al.*, 2005). En este contexto, algunas especies de las familias Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae y Piperaceae se han identificado como fuentes promisoras de compuestos con propiedades insecticida (Serrato y Quijano, 1993; Silva *et al.*, 2005). En la familia Asteraceae, por ejemplo, los extractos de varias especies del género *Tagetes* son efectivas contra bacterias, hongos, nematodos, ácaros e insectos (Nivsarkar *et al.*, 2001; Ball-Coelho *et al.*, 2003; Arena *et al.*, 2004; Eguaras *et al.*, 2005; Romagnoli *et al.*, 2005; Tomova *et al.*, 2005; Camarillo *et al.*, 2009), entre otras plagas. Los extractos de las especies de *Tagetes* contienen ingredientes activos como el *trans*-anetol, alilanisol,  $\beta$ -cariofileno y tagetona, que han demostrado ser tóxicos, repelentes e inhibidores de la reproducción y crecimiento (Tomova *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2012). Aproximadamente 32 especies de *Tagetes* son reportadas para México, lo que representa la mitad de las especies registradas en América,

continente donde el género se originó (Serrato, 2010). A pesar de esto, hay pocos estudios sobre la actividad biológica de las sustancias vegetales que poseen (Serrato *et al.*, 2007).

La familia Apiaceae también contiene especies que son empleadas para la obtención de aceites esenciales con propiedades plaguicidas (Ebadollahi, 2013). Por ejemplo, *Foeniculum vulgare* Mill. (Hinojo), una especie introducida en zonas templadas de México, es rico en compuestos como los fenilpropanoides, monoterpenos y sesquiterpenos (He y Huang, 2011), con *trans*-anetol como compuesto abundante (Mimica-Dukić *et al.*, 2003; Díaz-Maroto *et al.*, 2005). Los extractos de *F. vulgare* son efectivos contra escarabajos, coleópteros y mosquitos (Kim y Ahn, 2001; Traboulsi *et al.*, 2005; Sedaghat *et al.*, 2011; Zoubiri *et al.*, 2014).

Actualmente, la información sobre el uso de aceites esenciales o extractos de plantas, para el control de *D. citri* es escasa. Por lo tanto, en el presente capítulo tuvo como objetivo determinar el efecto tóxico y repelente de extractos acuosos y etanólicos de *Tagetes coronopifolia* Willd., *T. erecta* L. y *T. lucida* Cav. (Asteraceae), y aceites esenciales de *F. vulgare*, *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* Gray, *T. lucida* y *T. terniflora* Kunth sobre ninfas y adultos de *D. citri*.

### 3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los bioensayos para evaluar el efecto tóxico y/o repelente de los extractos y aceites esenciales de las plantas de la familia Apiaceae, Anacardiaceae, Asteraceae y Lamiaceae fueron realizados en el Laboratorio de Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Montecillo, en Texcoco, México, con insectos criados bajo condiciones controladas en invernadero.

**3.4.1 Cría de insectos.** La colonia de *D. citri* se estableció en el 2009, con aproximadamente 1000 adultos (Proporción sexual 1:1, macho: hembra) recolectados en huertos de naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck Rutaceae) cv. 'Valencia' y plantas de limonaria (*Murraya paniculata* (L.) Jack Rutaceae) de la comunidad de Cazonas de Herrera, Veracruz, y mantenidas bajo cultivos contius y aisladas en invernadero. Para los

experimentos, los adultos se introdujeron en jaulas entomológicas de madera (60 x 40 x 60 cm) cubiertas con tela de organza, donde se colocaron plántulas de *C. sinensis* cv. Valencia de 4 meses de edad, plantadas en bolsas de plástico (30 x 30 cm con una mezcla de vermicomposta, tierra de hoja, y agrolita en proporción de 3: 2: 1). Los adultos se mantuvieron sobre las plantas con brotes durante una semana. Una vez lograda la oviposición, fueron retirados mediante un aspirador bucal y las plantas infestadas se mantuvieron en las jaulas en condiciones de invernadero ( $25 \pm 5$  °C y 12:12 h de fotoperiodo) hasta alcanzar ninfas de tercer instar o la emergencia de adultos.

**3.4.2 Material vegetal y extracción de aceites.** En 2012, se establecieron parcelas de *T. coronopifolia* (conocida como sonajilla, proveniente de Santa María Tecuanulco, Texcoco, México), *T. lemmonii* (conocida como rudilla de la Sierra de Mazatán, Sonora, México), *T. lucida* (o pericón de San Pablo Ixayoc, Texcoco, México) y *T. terniflora* (de Los Altos de Chiapas, México) en el Campo Experimental de Fitotecnia (CAEF) de la Universidad Autónoma Chapingo, en el Edo. de México. Así mismo, las plantas de *F. vulgare* se tomaron de una plantación establecida en el CAEF desde el año 2010. El material de *S. molle* se obtuvo de los árboles localizados en el CAEF, y el *R. officinalis* se adquirió en Ecatzingo, México. Todas las partes aéreas de las plantas, en floración, se trituraron por medio de una ensiladora para la extracción de los aceites. Los aceites (alrededor de 200 a 400 mL) fueron extraídos por hidrodestilación con un destilador de acero inoxidable con capacidad para 250 kg de tejido fresco. El tiempo de destilación fue de alrededor de 3 h a partir de la condensación. Los aceites se almacenaron en frascos ámbar con tapa y se refrigeraron a 4 °C.

**3.4.3 Preparación de extractos.** Para los extractos acuosos, se colocaron 10 g del polvo en un frasco de polietileno con tapa de 250 mL de capacidad, donde se adicionaron 100 mL de agua destilada (relación peso/volumen) para cubrir completamente el polvo. Mientras que en los extractos etanólicos, se colocaron 10 g del polvo en 100 mL de alcohol al 20 %. El extracto acuoso y etanólicos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 24 y 72 h, respectivamente. Después de este tiempo, las soluciones se filtraron en una tela tricot fina con el fin de separar la parte líquida de la sólida.

Los aceites extraídos y extractos se diluyeron en agua destilada para preparar una solución al 10 % (peso/volumen). A partir de esta solución se elaboraron concentraciones de 10 a 0.0001 mg mL<sup>-1</sup> por medio de diluciones subsecuentes de cada aceite y extracto. Con estas diluciones se realizaron bioensayos preliminares con la finalidad de encontrar efecto máximo y mínimo de mortalidad o repelencia. Siempre se incluyó un testigo a base de agua destilada o agua destilada + etanol al 20 % (testigo extracto etanólico). Para facilitar la emulsión en todos los tratamientos, incluido el testigo, se añadió Tween 20 al 0.1 % antes de la aplicación.

Los extractos y aceites esenciales que mostraron actividad biológica ( $\geq 40$  %) en los experimentos preliminares (Silva *et al.*, 2005), se seleccionaron y se usaron en los bioensayos de toxicidad de ninfas y adultos, y repelencia de adultos para una evaluación detallada. Los restantes se excluyeron de la evaluación. Se intercarraron de siete a ocho concentraciones en cada bioensayo.

**3.4.4 Mortalidad de ninfas.** El efecto de los aceites o extractos en ninfas de *D. citri*, se evaluó con el método propuesto por Prabhaker *et al.* (2006) con ligeras modificaciones. Consistió en sumergir un disco de hoja de naranja cv. 'Valencia', 4.0 cm de diámetro, en la solución/ concentración de cada tratamiento por 5 seg y se dejó secar a temperatura ambiente con el envés expuesto. Los disco de hojas testigo se trataron de la misma manera solo con Tween 20 al 0.1 %. Cada disco tratado se colocó con el envés expuesto dentro de una caja Petri (Ø 4.0 cm) a la que previamente se le había dispuesto una base de agar-agar 1.5 % para evitar su deshidratación, y cubierta mediante una tapa con malla de organza para permitir ventilación. Cada caja Petri se consideró una unidad experimental. Enseguida, se introdujeron de 10 a 15 ninfas de tercer instar por disco. Las cajas se cerraron y mantuvieron sobre charolas color blanco y en condiciones controladas (25 ± 3 °C, 12:12 h fotoperiodo). La mortalidad se evaluó a las 24 h, con ayuda de un microscopio estereoscópico (16x). Un individuo se consideró muerto cuando presentaba síntomas de deshidratación o no reaccionaba al ser tocado en el abdomen con un pincel. De 10 a 15 ninfas de tercer instar fueron usadas para cada concentración y se realizaron cinco repeticiones.

**3.4.5 Mortalidad de adultos.** Para evaluar el efecto tóxico de los aceites y extractos en adultos de *D. citri*, se emplearon 20 adultos de 3 a 6 d de emergidos y 2 h en ayuno previo. Los insectos se anestesiaron con CO<sub>2</sub> por un periodo 2 min para facilitar la aplicación de los tratamientos (Mann *et al.*, 2012). Posteriormente y con ayuda de un pincel entomológico (000), los adultos se colocaron en el envés de un disco de hoja de naranja dentro de una caja Petri (Ø 4.0 cm) de la misma manera que el bioensayo anterior. Enseguida y con ayuda de un atomizador manual, de 5 mL de capacidad, se realizaron tres aspersiones de cada tratamiento, equivalente a 1.5 mL de solución final por unidad experimental (Cabrera-Cabrera *et al.*, 2010). Las cajas se cerraron y mantuvieron en condiciones controladas (25 ± 3 °C, 12:12 h fotoperiodo). Para cada combinación de extracto/concentración y testigo se realizaron cinco repeticiones. La mortalidad se registró después de las 24 y 48 h.

**3.4.6 Repelencia de adultos del psílido.** Para evaluar el efecto potencial repelente de los extractos y aceites extraídos en adultos de *D. citri*, se construyó una arena experimental (Fig. 3.1). Cada arena consistió en un vaso de polipropileno transparente (Cristal®) de 250 mL invertido con tapa, con cuatro orificios: un pequeño orificio lateral sellado con un tapón extraíble a través del cual los adulto *D. citri* podría introducirse; un orificio en la base y dos más (Ø 4.0 cm) en los lados cubiertos con malla fina para favorecer la ventilación. La tapa del vaso se perforó para acoplar un vial de cristal de 2 mL, con agua corriente, en el cual se sumergió y sujetó el peciolo de una hoja de naranja *C. sinensis* cv. Valencia' previamente inmersa por 5 seg. en la sustancia de prueba, y dejando secar a temperaturamente como se describió anteriormente. El vial y hoja se encerraron acoplando la tapa con el vaso en posición invertida. Por un orificio lateral (Ø 1.0 cm), tapado con un corcho, se introdujeron 20 adultos de 3 a 6 d de emergidos y 2 h en ayuno previo.

La repelencia se midió por la diferencia entre insectos posados y no posados en la hoja testigo comparada con las hojas tratadas a las 4, 5, 6 y 24 h después de la introducción de los insectos, y se expresó en porcentaje (20 = 100 % en cada repetición). Cada arena se consideró como unidad experimental. Para cada concentración se usaron 20 individuos adultos de ambos sexos de 3-6 días de emergidos y se realizaron cinco repeticiones.



**Figura 3.1.** Arena experimental usada en pruebas de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* (Imagen Valdez y Ortega, 2015).

**3.4.7 Análisis estadístico.** La mortalidad del testigo nunca excedió el 12 % en todos los experimentos, y tanto la mortalidad y repelencia observada en los tratamientos se corrigieron con la obtenida en el testigo usando la ecuación de Abbott (Abbott, 1925). Todos los análisis se realizaron mediante el paquete software SAS versión 9.0 (SAS Institute, 1999). Los efectos de los tratamientos en la mortalidad y repelencia de ninfas y adultos de *D. citri* se analizaron mediante las pruebas de Kruskal-Wallis y Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Asimismo, los datos obtenidos se usaron en el análisis Probit para determinar las líneas de respuesta log dosis-probit, y con ello los valores de la Concentración Letal Media ( $CL_{50}$ ) y Concentración de Repelencia Media ( $CR_{50}$ ), las cuales se expresaron en  $\text{mg mL}^{-1}$ . Para comparar el efecto de repelencia de cada concentración se calculó el Índice de Repelencia (IR) propuesto por Lin *et al.* (1990), con la fórmula  $IR = 2G / (G + P)$ , donde  $G$  = % de insectos posados en el tratamiento y  $P$  = % de insectos posados en el testigo. Los índices se clasificaron como  $IR = 1$  concentración neutra,  $IR < 1$  concentración repelente, e  $IR > 1$  concentración atrayente.

### 3.5 RESULTADOS

En bioensayos preliminares, los extractos acuosos y etanólicos de *T. coronopifolia*, *T. erecta* y *T. lucida* y los aceites de *S. molle* y *R. officinalis* carecieron de actividad biología sobre *D. citri* (Ver anexo). El aceite de *T. lucida* se encontró sin actividad tóxica sobre las ninfas y adultos, y *T. lemmonii* en adultos; finalmente en los aceites de *F. vulgare* y *T. lemmonii* el efecto repelente fue nulo (Ver anexo). Estas especies fueron excluidas de una evaluación detallada.

**3.5.1 Mortalidad de ninfas.** Los aceites esenciales de *T. coronopifolia* ( $X^2 = 37.19$ ;  $df = 7, 39$ ;  $P < 0.0001$ ) y *T. terniflora* ( $X^2 = 37.50$ ;  $df = 8, 44$ ;  $P < 0.0001$ ) en dosis de 10 mg/mL causaron mortalidad absoluta (100 %) en ninfas de *D. citri*; mientras que al aplicar *F. vulgare* ( $X^2 = 37.14$ ;  $df = 7, 39$ ;  $P < 0.0001$ ) y *T. lemmonii* ( $X^2 = 38.26$ ;  $df = 8, 44$ ;  $P < 0.0001$ ) la mortalidad de ninfas fue de 92 y 98 %, respectivamente. Los valores de  $CL_{50}$  para los diferentes aceites oscilaron desde 0.050 hasta 0.21 mg mL<sup>-1</sup>. *T. lemmonii* causó la mayor actividad tóxica a nivel  $CL_{50}$  (0.05 mg mL<sup>-1</sup>), continuando en orden decreciente por *T. coronopifolia* (0.11 mg mL<sup>-1</sup>), *F. vulgare* (0.19 mg mL<sup>-1</sup>), y *T. terniflora* (0.21 mg mL<sup>-1</sup>). Los límites de confianza correspondientes a las  $CL_{50}$ s de los cuatro aceites esenciales se traslapan entre sí lo cual indica un efecto similar; no obstante, la respuesta homogénea se obtuvo con los aceites de *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* ( $b = 0.8$ ,  $P < 0.0001$  y  $b = 0.7$ ,  $P < 0.0001$ , respectivamente), mientras que el valor más bajo ( $b = 0.4$ ,  $P = 0.0323$ ) se consiguió con *T. terniflora* (Cuadro 3.1).

**3.5.2 Mortalidad de adultos.** Los aceites de *F. vulgare* ( $X^2 = 36.51$ ;  $df = 7, 39$ ;  $P < 0.0001$ ), *T. coronopifolia* ( $X^2 = 31.63$ ;  $df = 6, 34$ ;  $P < 0.0001$ ), y *T. terniflora* ( $X^2 = 36.18$ ;  $df = 7, 39$ ;  $P < 0.0001$ ) causaron 100 % de mortalidad en adultos de *D. citri* a 100 mg mL<sup>-1</sup> a 24 h de exposición. No obstante, los tres aceites esenciales potenciaron su efecto toxico a partir de 20 mg mL<sup>-1</sup> a las 48 h después de la aplicación de los productos. El aceite de *T. terniflora* mostró mayor actividad tóxica a nivel de  $CL_{50}$  (14.15 mg mL<sup>-1</sup>), seguido por *F. vulgare* (14.93 mg mL<sup>-1</sup>), y *T. coronopifolia* (15.02 mg mL<sup>-1</sup>) a las 24 h de exposición; sin embargo, la concentración disminuyó de manera considerable con *F. vulgare* (8.31 mg mL<sup>-1</sup>), *T. coronopifolia* (9.74 mg mL<sup>-1</sup>), y *T. terniflora* (11.38 mg mL<sup>-1</sup>), a las 48 h

postratamiento. Los límites de confianza de los tres aceites se traslapan entre sí, lo cual muestra que no existe una acción diferencial entre los productos evaluados. Asimismo, las pendientes registradas son mayores a 1.0, lo cual indicó uniformidad de los individuos para responder a la selección de cualquiera de los aceites evaluados (Cuadro 3.2).

**Cuadro 3.1** Mortalidad promedio (%  $\pm$  SD) de ninfas de tercer instar de *Diaphorina citri* a 24 h posteriores a la aplicación de cuatro aceites esenciales

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	Mortalidad (% $\pm$ SD)			
	<i>F. vulgare</i>	<i>T. coronopifolia</i>	<i>T. lemmonii</i>	<i>T. terniflora</i>
10	92 $\pm$ 0.84 a	100 $\pm$ 0.00 a	98 $\pm$ 0.45 a	100 $\pm$ 0.00 a
3.5	80 $\pm$ 1.00 ab	96 $\pm$ 0.89 a	92 $\pm$ 0.84 ab	78 $\pm$ 0.84 b
1.0	68 $\pm$ 0.84 b	70 $\pm$ 0.71 b	72 $\pm$ 0.84 bc	62 $\pm$ 0.84 b
0.35	52 $\pm$ 0.84 c	64 $\pm$ 0.89 b	58 $\pm$ 1.64 cd	40 $\pm$ 0.71 c
0.1	44 $\pm$ 0.55 cd	48 $\pm$ 0.84 c	56 $\pm$ 1.14 cd	38 $\pm$ 0.84 c
0.035	32 $\pm$ 0.45 de	32 $\pm$ 0.84 d	46 $\pm$ 1.34 de	34 $\pm$ 1.14 c
0.01	28 $\pm$ 0.45 e	30 $\pm$ 0.71 d	36 $\pm$ 0.89 de	30 $\pm$ 0.71 c
0.001	---	---	32 $\pm$ 1.48 e	26 $\pm$ 1.67 cd
Testigo	4 $\pm$ 0.55 f	4 $\pm$ 0.55 e	6 $\pm$ 0.55 f	6 $\pm$ 0.55 d
X <sup>2</sup>	37.15	37.19	38.27	37.51
CL <sub>50</sub>	0.193 (0.13- 0.27) <sup>1</sup>	0.111 (0.04- 0.25)	0.050 (0.01- 0.15)	0.206 (0.04- 1.41)
b $\pm$ s	0.6 $\pm$ 0.05	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1

\*Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). <sup>1</sup>Límites fiduciales, b = Pendiente de la línea de regresión, s= Error estándar, SD = Desviación estándar.

**Cuadro 3.2** Mortalidad promedio (%  $\pm$  SD) de adultos de *Diaphorina citri* a la aplicación de tres aceites esenciales a las 24 y 48 h después de la aplicación.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<i>F. vulgare</i>		<i>T. coronopifolia</i>		<i>T. terniflora</i>	
	24	48	24	48	24	48
100	100 $\pm$ 0.00 a	---	100 $\pm$ 0.00 a	---	100 $\pm$ 0.00 a	---
60	96 $\pm$ 1.10 a	100 $\pm$ 0.00 a	95 $\pm$ 1.00 a	100 $\pm$ 0.00 a	87 $\pm$ 1.95 ab	90 $\pm$ 1.41 a
40	64 $\pm$ 4.32 b	80 $\pm$ 3.74 a	85 $\pm$ 3.00 ab	96 $\pm$ 0.84 ab	70 $\pm$ 1.00 bc	78 $\pm$ 2.70 ab
20	53 $\pm$ 2.70 b	72 $\pm$ 4.62 ab	66 $\pm$ 3.11 b	79 $\pm$ 1.92 b	51 $\pm$ 3.90 cd	57 $\pm$ 3.97 bc
10	26 $\pm$ 1.64 c	45 $\pm$ 3.81 bc	24 $\pm$ 1.30 c	45 $\pm$ 4.00 c	35 $\pm$ 2.35 de	45 $\pm$ 5.52 cd
3.5	13 $\pm$ 1.95 cd	22 $\pm$ 2.51 cd	8 $\pm$ 1.52 cd	20 $\pm$ 1.58 d	21 $\pm$ 2.28 ef	22 $\pm$ 1.95 de
1.0	9 $\pm$ 1.30 cd	14 $\pm$ 2.39 d	---	---	12 $\pm$ 0.55 f	12 $\pm$ 0.89 e
Testigo	0 $\pm$ 0.00 d	2 $\pm$ 0.89 d	2 $\pm$ 0.89 d	4 $\pm$ 1.10 d	3 $\pm$ 0.89 f	3 $\pm$ 0.89 e
X <sup>2</sup>	36.51	35.87	31.63	32.51	36.18	35.29
CL <sub>50</sub>	14.93	8.31	15.02	9.74	14.15	11.38
	(6.27- 31.53)	(4.21- 14.22)	(11.57- 18.89)	(7.30- 12.43)	(7.82- 24.09)	(7.20-16.97)
b $\pm$ s	1.7 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2

\*Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). <sup>1</sup>Limites fiduciales, b = Pendiente de la línea de regresión, s= Error estándar, SD = Desviación estándar.

**3.5.3 Repelencia de adultos del psílido.** Los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* mostraron efecto repelente positivo en todas las horas de evaluación; dicha actividad se relacionó positivamente con la concentración.

El aceite de *T. coronopifolia* presentó mayor repelencia a 40 mg/mL a las 4, 5, 6 y 24 h después del tratamiento (92, 81, 73 y 60%, respectivamente). Esta respuesta fue confirmada con los valores del IR a la 4 h ( $0.74 \pm 0.23$ ) a 3.5 mg/mL, seguido por la 5 h ( $0.90 \pm 0.09$ ) a 1.0 mg/mL, la 6 h ( $0.85 \pm 0.09$ ) a 3.5 mg/mL, y finalmente a las 24 h ( $0.57 \pm 0.41$ ) a 40 mg/mL. El aceite esencial de *T. coronopifolia* mostró un efecto mayor a nivel de CR<sub>50</sub> (4.31 mg/mL) a la 4 h postratamiento, misma que disminuyó a la 5 y 6 h (10.76 y 28.14 mg/mL, respectivamente). Los adultos tratados con el aceite mostraron una respuesta heterogénea ( $b=0.5$  y  $0.6$ ), lo cual implica incrementar la dosis notablemente respecto a las iniciales para alcanzar valores altos de repelencia (Cuadro 3.3).

**Cuadro 3.3** Porcentaje (%) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes coronopifolia*

Concentración n (mg mL <sup>-1</sup> )	Rep.	IR <sup>2</sup> ±	Cl. <sup>3</sup>	Rep.	IR±	Cl.	Rep.	IR±	Cl.	Rep.	IR±	Cl.
	(%)	SE		(%)	SE		(%)	SE		(%)	SE	
	4 h			5 h			6 h			24 h		
40	92 <sup>1</sup>	0.16± 0.05	<b>R</b>	81	0.33± 0.18	<b>R</b>	73	0.43± 0.15	<b>R</b>	60	0.57± 0.41	<b>R</b>
20	62	0.58± 0.23	<b>R</b>	46	0.72± 0.13	<b>R</b>	35	0.79± 0.16	<b>R</b>	19	0.89± 0.19	<b>A</b>
10	60	0.60± 0.28	<b>R</b>	53	0.66± 0.21	<b>R</b>	37	0.78± 0.11	<b>R</b>	18	0.90± 0.09	<b>R</b>
3.5	45	0.74± 0.23	<b>R</b>	36	0.80± 0.13	<b>R</b>	27	0.85± 0.09	<b>R</b>	17	0.90± 0.15	<b>A</b>
1.0	26	0.89± 0.26	<b>A</b>	22	0.90± 0.09	<b>R</b>	15	0.92± 0.14	<b>A</b>	12	0.93± 0.09	<b>A</b>
0.35	35	0.82± 0.31	<b>A</b>	27	0.86± 0.15	<b>A</b>	13	0.94± 0.05	<b>R</b>	15	0.91± 0.12	<b>A</b>
0.1	28	0.87± 0.19	<b>A</b>	21	0.90± 0.16	<b>A</b>	16	0.92± 0.08	<b>N</b>	10	0.94± 0.10	<b>A</b>
Testigo	8			5			2			0		
CR <sub>50</sub>	4.31 (1.06- 28.91) <sup>4</sup>			10.76 (3.14- 167.44)			28.14 (7.21- 4488)			---		
b±s <sup>5</sup>	0.65 ± 0.1			0.58 ± 0.1			0.59 ± 0.1					

<sup>1</sup>Porcentaje de repelencia tomado de los datos reales, <sup>2</sup>IR= Índice de Repelencia, <sup>3</sup>Clasificación: R= Repelente; N= Neutro; A= Atrayente, <sup>4</sup>Límites de confianza al 95 %, <sup>5</sup>b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

El aceite de *T. lucida* presentó actividad repelente superior al 95 % a 40 mg mL<sup>-1</sup> en todos los períodos evaluados. La repelencia se registró desde 3.5 mg mL<sup>-1</sup> para la 4 y 5 h (IR = 0.71 ± 0.25 y 0.75 ± 0.18, respectivamente) hasta 40 mg mL<sup>-1</sup> para la 6 y 24 h (0.06 ± 0.09 y 0.02 ± 0.04, respectivamente) (Cuadro 3.4).

**Cuadro 3.4** Porcentaje (%) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes lucida*

Concentración n (mg mL <sup>-1</sup> )	Rep.	IR <sup>2</sup> ±	Cl. <sup>3</sup>	Rep.	IR±	Cl.	Rep.	IR±	Cl.	Rep.	IR±	Cl.
	(%)	SE		(%)	SE		(%)	SE		(%)	SE	
	4 h			5 h			6 h			24 h		
40	99 <sup>1</sup>	0.02± 0.04	<b>R</b>	97	0.06± 0.09	<b>R</b>	97	0.06± 0.09	<b>R</b>	99	0.02± 0.04	<b>R</b>
20	85	0.28± 0.27	<b>R</b>	69	0.48± 0.37	<b>R</b>	63	0.55± 0.45	<b>N</b>	49	0.69± 0.33	<b>A</b>
10	57	0.64± 0.30	<b>R</b>	37	0.79± 0.15	<b>R</b>	30	0.83± 0.25	<b>A</b>	17	0.92± 0.17	<b>A</b>
3.5	49	0.71± 0.25	<b>R</b>	42	0.75± 0.18	<b>R</b>	29	0.84± 0.26	<b>A</b>	19	0.91± 0.15	<b>A</b>
1.0	34	0.84± 0.16	<b>N</b>	21	0.90± 0.15	<b>A</b>	21	0.89± 0.17	<b>A</b>	22	0.89± 0.25	<b>A</b>
0.35	25	0.90± 0.27	<b>A</b>	19	0.91± 0.19	<b>A</b>	12	0.95± 0.15	<b>A</b>	15	0.93± 0.07	<b>N</b>
0.1	23	0.91± 0.27	<b>A</b>	14	0.94± 0.16	<b>A</b>	9	0.96± 0.13	<b>A</b>	14	0.94± 0.23	<b>A</b>
Testigo	9			4			3			4		
CR <sub>50</sub>	3.05 (1.09- 9.16) <sup>4</sup>			6.12 (1.81- 37.34)			8.91 (2.76- 70.19)			---		
b±s <sup>5</sup>	0.9±0.1			0.9±0.2			1.0±0.2					

<sup>1</sup>Porcentaje de repelencia tomado de los datos reales, <sup>2</sup>IR= Índice de Repelencia, <sup>3</sup>Clasificación: R= Repelente; N= Neutro; A= Atrayente, <sup>4</sup>Límites de confianza al 95 %, <sup>5</sup>b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

Finalmente, con el aceite de *T. terniflora* se encontró el 74 % de repelencia a 40 mg mL<sup>-1</sup> en la 4 h de evaluación, con disminución a la 5, 6 y 24 h, con un IR de 0.62 ± 0.21 y 0.70 ± 0.11 (20 mg mL<sup>-1</sup>) a las 4 y 5 h, 0.89 ± 0.07 (10 mg mL<sup>-1</sup>) a la 6 h, y 0.86 ± 0.12 (40 mg mL<sup>-1</sup>) a la 24 h (Cuadro 3.5).

Los valores de CR<sub>50</sub> oscilaron desde 3.05 hasta 42.16 mg mL<sup>-1</sup>. Cuatro horas después de la aplicación de los tratamientos, los aceites de *T. lucida* y *T. coronopifolia* mostraron mayor actividad repelente a nivel de CR<sub>50</sub> (3.05 y 4.31 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente) con respecto al resto de las horas evaluadas y al aceite de *T. terniflora*. La

actividad de los aceites disminuyó notablemente a la quinta y sexta hora postaplicación (Cuadro 3.3 y 3.4).

**Cuadro 3.5** Porcentaje (%  $\pm$  SE) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes terniflora*.

Concentraci n (mg mL <sup>-1</sup> )	Rep.	IR <sup>2</sup> $\pm$ SE	Cl. <sup>3</sup>	Rep.	IR $\pm$ SE	Cl.	Rep.	IR $\pm$ SE	Cl.	Rep.	IR $\pm$ SE	Cl.
	(%)			(%)			(%)			(%)		
	4 h			5 h			6 h			24 h		
40	74 <sup>1</sup>	0.45 $\pm$ 0.18	<b>R</b>	63	0.56 $\pm$ 0.19	<b>R</b>	43	0.73 $\pm$ 0.23	<b>R</b>	25	0.86 $\pm$ 0.12	<b>R</b>
20	60	0.62 $\pm$ 0.21	<b>R</b>	49	0.70 $\pm$ 0.11	<b>R</b>	36	0.79 $\pm$ 0.13	<b>R</b>	24	0.86 $\pm$ 0.15	<b>A</b>
10	34	0.85 $\pm$ 0.22	<b>A</b>	30	0.85 $\pm$ 0.16	<b>A</b>	20	0.89 $\pm$ 0.07	<b>R</b>	11	0.94 $\pm$ 0.13	<b>A</b>
3.5	34	0.85 $\pm$ 0.16	<b>A</b>	27	0.87 $\pm$ 0.25	<b>A</b>	16	0.92 $\pm$ 0.15	<b>A</b>	11	0.94 $\pm$ 0.18	<b>A</b>
1.0	23	0.92 $\pm$ 0.23	<b>A</b>	22	0.90 $\pm$ 0.34	<b>A</b>	11	0.95 $\pm$ 0.27	<b>A</b>	8	0.96 $\pm$ 0.09	<b>A</b>
0.35	17	0.96 $\pm$ 0.11	<b>A</b>	14	0.95 $\pm$ 0.18	<b>A</b>	12	0.94 $\pm$ 0.09	<b>A</b>	9	0.95 $\pm$ 0.08	<b>A</b>
0.1	17	0.96 $\pm$ 0.05	<b>A</b>	20	0.91 $\pm$ 0.16	<b>A</b>	11	0.95 $\pm$ 0.08	<b>A</b>	8	0.96 $\pm$ 0.13	<b>A</b>
Testigo	11			6			2			1		
CR <sub>50</sub>		18.59			42.16							
		(8.32- 76.72) <sup>4</sup>			(11.14- 2779)			---			---	
b $\pm$ s <sup>5</sup>		0.8 $\pm$ 0.1			0.55 $\pm$ 0.1							

<sup>1</sup>Porcentaje de repelencia tomado de los datos reales, <sup>2</sup>IR= Índice de Repelencia, <sup>3</sup>Clasificación: R= Repelente; N= Neutro; A= Atrayente, <sup>4</sup>Límites de confianza al 95 %, <sup>5</sup>b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

### 3.6 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio revelan la acción tóxica y repelente de los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* en ninfas, y *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* en adultos de *D. citri*, lo cual coincide con lo reportado por diversos autores en otras plagas, quienes observaron que los extractos de *Tagetes* con disolventes no polares son más eficientes que los extractos solubles en agua (Roel *et al.*, 2000; Camarillo *et al.*, 2009). Este efecto se atribuye a que los aceites remueven las ceras de la cutícula, y como consecuencia los individuos sufren deshidratación de la célula de la membrana (Hodgson y Kuhr, 1990; Larew y Locke, 1990). Además, Sieburth *et al.* (1998) mencionan que los aceites son más efectivos en el control de la plaga cuando se aplican

sobre huevos o primeros estadios ninfales con respecto a los adultos, como se encontró en este estudio.

La respuesta diferencial de *D. citri* a los aceites, sin duda también se relacionó con la composición y estructura de compuestos activos, ya que como anotan Chiasson *et al.* (2004) los aceites esenciales son generalmente de amplio espectro, debido a la presencia de varias moléculas activas que operan a través de modos de acción diferentes. Asimismo, el efecto de los aceites se debe a su persistencia en el ambiente a través del tiempo, como señalan Gómez *et al.* (1997) y Cubillo *et al.* (1999), quienes mencionan que los extractos oleosos son más eficientes, no sólo por la presencia de compuestos insecticidas, sino por la persistencia en la planta y el efecto de contacto en el insecto. De las moléculas presentes en los aceites evaluados, el *trans*-anetol posee una función importante en el control de los insectos (Mimica-Dukić *et al.*, 2003; Cheng *et al.*, 2004). Este aspecto fue observado por Camarillo *et al.* (2009) en *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae), quienes encontraron que los aceites de *Tagetes filifolia* Lag. fueron más efectivos (repelente, tóxico e inhibitorio de la oviposición y el crecimiento) en relación a los extractos acuosos y turbios, efecto que se relacionó con diferencias en la composición y concentración de principios activos como el *trans*-anetol, alilanol,  $\beta$ -cariofileno y tagetona. Aunque se sabe que el aceite de poblaciones de *T. filifolia* nativas de México, contiene alta proporción de anetol, aún se carece de información sobre la relación de éste y otros compuestos en el aceite de diferentes especies de *Tagetes* (Serrato *et al.*, 2008).

En este estudio, el período de exposición de los adultos de *D. citri* influyó de forma importante en la mortalidad, lo cual concuerda con Kim *et al.* (2003), al evaluar la toxicidad del aceite de frutos de *F. vulgare* sobre adultos de *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae) y con Cázares *et al.* (2014) quienes encontraron alta mortalidad (70.3 %) de adultos de *D. citri* al ser expuestos por 48 h al aceite esencial de *Lippia graveolens* Kunth (Verbenaceae) a una concentración de 40 mg mL<sup>-1</sup>. Por otro lado, el estado de desarrollo del insecto y la forma de aplicación del producto son otros de los factores que se necesitan estudiar y precisar para obtener mejores resultados en el control de insectos plaga (Zoubiri *et al.*, 2014).

El efecto repelente de *T. coronopofolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* sobre *D. citri* hace suponer que esto se debió a las características propias de los aceites; por ejemplo, Davison *et al.* (1991) indican que 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 son liberadas gradualmente, lo que retrasa el arribo de los insectos a las plantas tratadas. Asimismo, la actividad presentada por los aceites evaluados depende de las múltiples sustancias activas presentes en las plantas y modos de acción que ejercen estos sobre los insectos (Chiasson *et al.*, 2004). El efecto de los compuestos químicos como alilanol, crisantenona, limoneno, tagetona y verbenona presentes en los aceites de *Tagetes* (Díaz-Cedillo *et al.*, 2013; Serrato *et al.*, 2014), ha sido documentado en diversas especies de insectos bajo diferentes sistemas de producción (Camarillo *et al.*, 2009; Fettig *et al.*, 2012; Sánchez y Descamps, 2012) o en productos almacenados (Nerio *et al.*, 2009; Stefanazzi *et al.*, 2011; Olivero-Verbel *et al.*, 2013). Wright (1975) menciona que la actividad repelente y persistencia de los aceites depende del tamaño y forma de las moléculas activas en cada producto, así como de su ensamble y persistencia en los receptores sensoriales de las antenas de los insectos, por interacción molecular. Esto sugiere que se requiere continuar con trabajos a nivel molecular para identificar los sitios de actividad de las moléculas presentes en las especies de *Tagetes* estudiadas.

La inestabilidad encontrada en los productos a través del tiempo, coincide con lo reportado por otros autores en *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (Cubillo *et al.*, 1999) y *T. vaporariorum* (Camarillo *et al.*, 2009). Esto se atribuye a la descomposición rápida de los compuestos por influencia de factores ambientales y biológicos, tales como rayos UV, temperatura, pH y actividad microbial (Mulla y Su, 1999); sin embargo, la actividad repelente puede recuperarse a través del tiempo, debido a los procesos temporales de saturación y desaturación, de manera inmediata o gradual, de los quimiorreceptores en el insecto (Van Lenteren y Noldus, 1990).

La aplicación de la concentración correcta para obtener un efecto positivo en la repelencia de *D. citri* es importante, ya que como se puede apreciar a través de los valores del IR, concentraciones por debajo de 3.5 mg mL<sup>-1</sup> muestran un efecto contrario a lo que se esperaría, aspecto que fue reportado por Camarillo *et al.* (2009) y Mendoza-García *et al.*

(2014) en *T. vaporariorum* quienes señalan que al aplicar dosis bajas de aceite esencial de *T. filifolia*, y de extracto acuoso de *Taraxacum officinale* (Asteraceae) Weber y etanólico de *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae) ocurre una estimulación de la oviposición del insecto.

### 3.7 CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio revelan que los aceites evaluados (excepto los de *R. officinalis*, *S. molle*, y *T. lucida*) a concentración de 10 mg mL<sup>-1</sup> resultaron prometedores para el manejo de ninfas de *D. citri*. En particular, los aceites de *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* mostraron valores bajo de CL<sub>50</sub>. La supervivencia de adultos fue afectada por los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* a partir de 20 mg mL<sup>-1</sup> después de 24 y 48 h de exposición al producto. Los aceites extraídos de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* mostraron actividad repelente contra *D. citri* en las concentraciones de 3.5, 3.5 y 20 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Por tanto, los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* podrían ser importantes alternativas a los insecticidas sintéticos para el manejo de *D. citri*.

### 3.8 ANEXOS

**Cuadro 3.6.** Mortalidad preliminar (%) de adultos de *Diaphorina citri* después de la aplicación de cuatro aceites esenciales.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<i>T. lemmonii</i>		<i>T. lucida</i>		<i>R. officinalis</i>		<i>S. molle</i>	
	24	48	24	48	24	48	24	48
100	16.2	23.7	22.0	26.0	10.0	22.5	21.2	25.0
10	1.2	7.5	6.0	6.0	15.0	10.0	7.5	11.2
1.0	1.2	11.2	2.0	4.0	5.0	7.5	5.0	7.5
0.1	2.5	8.7	4.0	5.0	1.2	5.0	3.7	7.5
0.01	3.7	10.0	1.0	3.0	0	2.5	0	5.0
0.001	1.2	5.0	1.0	4.0	1.2	3.7	3.7	6.2
0.0001	1.2	6.2	2.0	4.0	1.2	3.7	2.5	3.7
Testigo	0	3.7	1.0	2.0	1.2	3.7	0	3.7

**Cuadro 3.7** Mortalidad preliminar (%) de adultos de *Diaphorina citri* tratados con extractos acuosos y etanólicos de tres especies de *Tagetes*.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<u>Extractos acuosos</u>						<u>Extractos etanólicos</u>					
	<i>T. coronopifolia</i>		<i>T. erecta</i>		<i>T. lucida</i>		<i>T. coronopifolia</i>		<i>T. erecta</i>		<i>T. lucida</i>	
	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
100	5	6	15	15	2	4	26	34	28	37	15	21
10	3	3	8	8	3	5	16	17	17	18	10	15
1.0	3	10	9	10	3	3	8	10	18	18	3	6
0.1	2	4	8	10	2	4	14	15	4	5	4	7
0.01	3	4	6	6	3	1	11	14	7	8	0	1
0.001	1	1	0	4	0	0	5	7	5	5	1	5
0.0001	2	6	2	4	0	3	6	7	4	4	0	1
Testigo	1	2	1	1	1	3	1	1	4	4	2	2

**Cuadro 3.8** Mortalidad preliminar (%) de ninfas de *Diaphorina citri* después de 24 h de la aplicación de tres aceites esenciales.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<i>R. officinalis</i>	<i>S. molle</i>	<i>T. lucida</i>
10	36	34	33.3
1.0	30	28	28.3
0.1	22	16	20.0
0.01	18	18	6.6
0.001	18	8	8.3
0.0001	10	4	8.3
Testigo	4	6	5.0

**Cuadro 3.9** Mortalidad preliminar (%) de ninfas de *Diaphorina citri* tratadas con extractos acuosos y etanólicos de tres especies de *Tagetes*.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<u>Extractos acuosos</u>			<u>Extractos etanólicos</u>		
	<i>T.</i>	<i>T.</i>	<i>T.</i>	<i>T.</i>	<i>T.</i>	<i>T.</i>
	<i>coronopifolia</i>	<i>erecta</i>	<i>lucida</i>	<i>coronopifolia</i>	<i>erecta</i>	<i>lucida</i>
100	20.0	8.3	21.6	31.6	18.3	5.0
10	18.3	6.6	18.3	21.6	15.0	3.0
1.0	18.3	8.3	15.0	15.0	11.6	5.0
0.1	18.3	10.0	6.6	11.6	16.6	3.0
0.01	11.6	5.0	5.0	11.6	6.6	3.0
0.001	8.3	6.6	8.3	10.0	13.3	5.0
0.0001	10.0	6.6	8.3	13.3	15.0	10.0
Testigo	8.3	5.0	3.0	8.3	11.6	6.6

**Cuadro 3.10.** Repelencia preliminar (%) de adultos de *Diaphorina citri* a la 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de aceites esenciales.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<i>F. vulgare</i>				<i>S. molle</i>				<i>R. officinalis</i>				<i>T. lemmonii</i>			
	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h
100	28	28	23	*	36	32	32	32	19	30	34	34	28	28	12	28
10	13	7	5	10	18	12	6	6	25	19	13	17	31	23	9	12
1.0	14	12	6	7	15	8	3	3	14	13	11	11	20	15	9	5
0.1	12	8	3	7	19	13	6	6	9	16	9	4	14	6	8	5
0.01	10	5	1	5	20	14	10	10	11	14	6	5	14	7	7	4
0.001	13	8	3	4	15	15	8	8	13	11	9	8	13	9	4	6
0.0001	8	7	4	1	18	15	4	4	12	16	8	6	19	18	11	5
Testigo	2	4	1	4	6	6	2	2	6	8	4	1	7	6	3	1

**Cuadro 3.11** Repelencia preliminar (%) de adultos de *Diaphorina citri* a 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de extractos acuosos y etanólicos de tres especies de *Tagetes*.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	<i>T. coronopifolia</i> *				<i>T. erecta</i> *				<i>T. lucida</i> *				<i>T. coronopifolia</i> **				<i>T. erecta</i> **				<i>T. lucida</i> **			
	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h	4	5	6	24h
100	32	18	19	20	38	30	16	25	24	13	7	14	18	22	11	16	14	7	11	15	9	4	1	14
10	27	22	20	11	29	24	16	17	17	13	9	9	12	19	12	5	12	7	2	9	6	5	3	15
1.0	16	12	15	9	23	19	16	16	18	15	12	5	15	10	11	3	11	8	4	8	8	6	2	7
0.1	15	13	8	10	21	17	8	10	16	7	4	5	19	15	8	2	6	5	4	12	14	5	4	6
0.01	13	9	9	10	20	19	9	19	16	6	2	2	15	11	11	6	10	3	1	7	8	6	5	8
0.001	19	18	15	7	24	15	7	12	14	9	7	4	13	12	10	3	9	4	0	4	9	5	1	3
0.0001	12	9	5	5	18	20	9	10	19	14	8	3	16	10	6	6	13	9	0	4	11	8	2	6
Testigo	9	5	3	2	9	7	3	3	7	3	2	2	10	8	7	3	7	2	3	7	5	6	2	3

\* Extractos acuosos; \*\*Extractos etanólicos.

## CAPÍTULO IV

### COMPATIBILIDAD DE ACEITES ESENCIALES DE CUATRO PLANTAS AROMÁTICAS CON *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN EL MANEJO DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

#### 4.1 RESUMEN

*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es una plaga importante de los cítricos por ser vector de la bacteria causal del Huanglongbing. Debido a que su manejo se basa en la aplicación de insecticidas, se estudian los aceites vegetales como posibles insecticidas compatibles con parasitoides en programas de manejo integrado de plagas. El objetivo del presente trabajo fue explorar la compatibilidad del parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) con el uso de aceites esenciales de *Foeniculum vulgare* (Apiaceae), *Tagetes coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* (Asteraceae) para el manejo de *D. citri*. Primero se evaluó el efecto de los aceites sobre el parasitoide, mediante tres Concentraciones Letales (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>) para *D. citri*. En una primera prueba de compatibilidad se aplicó de manera directa los aceites sobre ninfas de *D. citri* y la posterior exposición de éstas a *T. radiata*. La segunda prueba consistió en exponer las ninfas al parasitoide y posteriormente se aplicaron los aceites, o viceversa. Los aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* resultaron selectivos (Categoría 1; IOBC) para adultos de *T. radiata*. En cambio, *T. terniflora* resultó ligeramente nocivo (Categoría 2, IOBC) al parasitoide. En pruebas de compatibilidad el testigo no tratado con aceites presentó mayor proporción de ninfas parasitadas (0.315) y depredadas (0.298). El mayor parasitismo ( $0.189 \pm 0.027$ ) y la mayor depredación ( $0.281 \pm 0.311$ ) se encontraron con la aplicación de la CL<sub>30</sub> del aceite esencial de *T. lemmonii*, seguido por *T. coronopifolia* ( $0.156 \pm 0.025$  y  $0.283 \pm 0.031$ ), *T. terniflora* ( $0.119 \pm 0.021$  y  $0.248 \pm 0.278$ ) y *F. vulgare* ( $0.110 \pm 0.022$  y  $0.279 \pm 0.031$ ). Los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* pueden ser considerados selectivos para *T. radiata* e incorporados en programas de manejo integrado de *D. citri*.

**Palabras claves:** Control biológico, MIP, plantas aromáticas, selectividad, *Tagetes*.

**COMPATIBILITY FROM FOUR AROMATIC PLANTS ESSENTIAL OILS WITH  
*Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) TO MANAGEMENT  
*Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

**4.2 ABSTRACT**

*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), is an important pest of the citrus by to be Huanglongbing causal bacterium. Because its management is based on the insecticide application, the plant oil as potential insecticide compatible with parasitoids in pest integrated management programs were studied. The aim of this study the compatibility of the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) with the use of essential oils of *Foeniculum vulgare* (Apiaceae), *Tagetes coronopifolia*, *T. lemmonii* and *T. terniflora* (Asteraceae) for the management of *D. citri*, was explored. First the oils on the parasitoid were evaluated, using three Lethal Concentrations (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> and CL<sub>80</sub>) for *D. citri*. A first compatibility test was performed with the direct application of oils on *D. citri* nymphs and subsequent exposure to *T. radiata*. In a second test, nymphs were exposed to parasitoids and later oils applied, or vice versa. The essential oils of *F. vulgare*, *T. coronopifolia* and *T. lemmonii* were selective (Category 1; IOBC) for *T. radiata* adults. However, *T. terniflora* was slightly harmful (Category 2 IOBC) the parasitoid. In compatibility tests, the untreated control with oils showed higher proportion of parasitized nymphs (0.315) and preyed (0.298). The highest parasitism ( $0.189 \pm 0.027$ ) and increased predation ( $0.281 \pm 0.311$ ) were found with the application of oil CL<sub>30</sub> of *T. lemmonii*, followed by *T. coronopifolia* ( $0.156 \pm 0.025$  and  $0.283 \pm 0.031$ ), *T. terniflora* ( $0.119 \pm 0.021$  and  $0.248 \pm 0.278$ ) and *F. vulgare* ( $0.110 \pm 0.022$  and  $0.279 \pm 0.031$ ). *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* and *F. vulgare* oils be considered selective for *T. radiata* and incorporated in integrated management programs of *D. citri*.

**KEYWORDS:** biological control, IPM, aromatic plants, selectivity, *Tagetes*.

### 4.3 INTRODUCCIÓN

Las generaciones presentes están encaminadas a descubrir métodos alternos para el manejo de plagas que sean compatibles con la naturaleza y otros métodos de control, con el propósito de conservar los ecosistemas y realizar una producción racional de alimentos (Isman, 2000; Celis *et al.*, 2009). Una de las principales vías a seguir es la integración de diversas herramientas de control, es decir, considerar el sistema productivo en conjunto para alcanzar una producción sostenida, en forma económica aceptable y segura para el hombre (Evrong, 2003).

La citricultura nacional se encuentra amenazada por diversas plagas y enfermedades, donde el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es de las más importantes (Orozco-Santos *et al.*, 2014), debido a su capacidad de transmitir las bacterias *Candidatus Liberibacter* spp., agentes causales del Huanglongbing (Gottwald, 2010; Bassanezi *et al.*, 2011; Bové, 2012). El control químico del psílido es la técnica más empleada a nivel mundial (Childers *et al.*, 2002; Stansly y Qureshi, 2007).

El uso indiscriminado de productos sintéticos ha propiciado el desarrollo de la resistencia del psílido y la eliminación de enemigos naturales en agroecosistemas citrícolas (Hall y Nguyen, 2010; Mann *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2011, 2012). *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) es uno de los parasitoides más usados en el manejo de *D. citri* (CITA). En Florida la tasa de sobrevivencia de este parasitoide se reduce a menos del 9 % por los efectos residuales del imidacloprid y por la toxicidad aguda de abamectina (Cocco y Hoy, 2008), razón por la cual en huertas convencionales y orgánicas, ha crecido el interés por el uso de extractos vegetales o bioplaguicidas para el manejo de psílido (Fontes-Puebla *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012). Hall y Nguyen (2010) reportan la toxicidad de la aplicación directa de abamectina (100 %), aceite de petróleo 435 (100 %), clorpirifós (95.6 - 100 %), fentopatrín (91.3 - 100 %), imidacloprid (88.2 - 100 %), carbaril (88.1 - 100 %) y aceite de *Chenopodium* (88.9 - 94.6 %) en adultos de *T. radiata* a las 24 y 72 h. La afectación de los parasitoides por los insecticidas en uso ha incrementado el interés por la utilización de productos botánicos debido a la presencia de varios principios activos, lo que les permite ejercer su toxicidad a través de diferentes modos de acción, además de que son

biodegradables y de reducida toxicidad para el humano y otros mamíferos (Isman, 2000). Varios autores indican la acción de diversos extractos o aceites esenciales con efecto tóxico o repelente contra el psílido, tales como ajo *Allium sativum* L., lavanda *Lavandula* sp., cilantro *Coriandrum sativum* L., tomillo *Thymus vulgaris* L., orégano *Lippia graveolens* Kunth, nim *Azadirachta indica* Juss., guayaba *Psidium guajava* L., paraíso *Melia azedarach* L., y toloache *Datura stramonium* L. (Díaz, 2009; Khan *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012; Cázares *et al.*, 2014). Sin embargo, pocas evidencias refieren la actividad biológica de los extractos de plantas sobre el parasitoide *T. radiata* u otros agentes de control biológico. Entre éstos, se encuentra el trabajo de Lira *et al.* (2014) quienes reportan que los insecticidas azadirachtina, etofenproxi, gamma-cyhalotrina, piriproxifen, tebufenozide y diflubenzuron; los acaricidas piridaben y fenpiroximato y los fungicidas azoxistrobin, folpet, hidróxido de cobre, oxiclورو de cobre, mancozeb + oxiclورو de cobre, pyraclostrobin, metil-tiofenato y trifloxistrobin resultaron selectivos para *T. radiata*. Del mismo modo, el aceite de petróleo y el hidróxido de cobre solo o en combinación con los coadyuvantes Silwet L-77 y Kinetik mostraron baja toxicidad al parasitoide (mortalidad  $\leq 15$  %), por lo que estos fueron propuestos, en combinación con *T. radiata*, para ser incluidos en el manejo integrado de *D. citri* (Cocco y Hoy, 2008).

Desde el punto de vista de manejo integrado de plagas, es importante investigar la factibilidad de emplear simultáneamente diversas tácticas efectivas en el manejo de plagas (Isman, 2000). Por tanto, se planteó como objetivo del presente estudio el explorar la compatibilidad de aceites esenciales de *Foeniculum vulgare* (Apiaceae), *Tagetes coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* (Asteraceae) con el parasitoide *T. radiata* en el manejo de *D. citri*.

#### 4.4 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevo a cabo en los invernaderos del Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y del Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo. de México.

**4.4.1 Cría de insectos.** La colonia de *D. citri* se estableció en jaulas entomológicas de madera (60 x 40 x 60 cm) cubiertas con tela de organza, en condiciones de invernadero

( $25 \pm 5$  °C y 12 h de fotoperiodo), iniciando con aproximadamente 1000 adultos (1:1) procedentes de plantas limonaria o jazmín *Murraya paniculata* (L.) Jack. (Rutaceae) de la comunidad de Cazonas de Herrera, Veracruz. En las jaulas se introdujeron previamente plantas de limonaria de cuatro meses de edad, provenientes de Cuautla, Morelos, mantenidas en invernadero. Los adultos se mantuvieron por 7 d para su oviposición sobre los brotes de limonaria; después de este tiempo se retiraron con un aspirador bucal. Las plantas infestadas se mantuvieron en jaulas hasta la obtención de brotes con ninfas de tercer y cuarto instar, las cuales se utilizaron en los bioensayos posteriores y para el mantenimiento de la cría del parasitoide.

La colonia del parasitoide *T. radiata* se estableció en invernadero ( $25 \pm 5$  °C y 12 h de fotoperiodo) con  $\approx 2000$  adultos (1:1), procedentes del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) ubicado en Tecomán, Colima, México. Los individuos se mantuvieron sobre plantas de *M. paniculata* infestadas con ninfas de *D. citri* de 3er y 4º instar, confinadas en jaulas entomológicas por 15 d para su oviposición. Posteriormente las plantas infestadas se retiraron y mantuvieron en las jaulas hasta la emergencia de los adultos. Después de emerger, los parasitoides fueron alimentados cada 48 h con miel (Karo®) al 1 % durante 6 d, los cuales se utilizaron en los bioensayos posteriores y para el mantenimiento de la cría.

**4.4.2 Material vegetal y extracción de aceites.** En 2012, se establecieron parcelas de *T. coronopifolia* (procedente de Santa María Tecuanulco, Texcoco, México), *T. lemmonii* (proveniente de la Sierra de Mazatán, Sonora, México) y *T. terniflora* (procedente de Los Altos de Chiapas, México) en el Campo Experimental de Fitotecnia (CAEF) de la Universidad Autónoma Chapingo, en el Edo. de México. Asimismo, las plantas de *F. vulgare* se tomaron de una plantación establecida en el CAEF desde el año 2010. Todas las partes aéreas de las plantas en floración, se trituraron mediante una ensiladora para la extracción de los aceites. Se extrajeron por hidroddestilación alrededor de 200 a 400 mL de aceite mediante un destilador de acero inoxidable con capacidad para 250 kg de tejido fresco. El tiempo de destilación fue de alrededor de 3 h a partir de la condensación. Los aceites se almacenaron en frascos color ámbar con tapa y se refrigeraron a 4 °C.

**4.4.3 Tratamientos evaluados.** Para determinar la compatibilidad de los aceites esenciales en el manejo integrado de plagas, se utilizaron tres concentraciones que corresponden a la CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub> de los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* determinadas en experimentos preliminares (Capítulo III) (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1** Aceites esenciales y concentraciones evaluadas en pruebas de compatibilidad

Aceites esenciales	Concentraciones (mg mL <sup>-1</sup> )		
	CL <sub>30</sub>	CL <sub>50</sub>	CL <sub>80</sub>
<i>Foeniculum vulgare</i>	0.03	0.19	3.65
<i>Tagetes coronopifolia</i>	0.03	0.11	1.03
<i>Tagetes lemmonii</i>	0.01	0.05	1.69
<i>Tagetes terniflora</i>	0.02	0.21	7.12

**4.4.4 Parasitismo de *T. radiata*.** Se colocaron de 30 a 35 ninfas de *D. citri* de 3er y 4º instar sobre brotes jóvenes de *Citrus sinensis* var. ‘Valencia’, mediante un pincel de cerdas suaves. Los brotes infestados se aislaron individualmente con un frasco de polietileno transparente de 150 mL de capacidad y tapa hermética, con una ventana lateral (3.5 x 3.5 cm) cubierta con tela de organza para permitir su ventilación, lo que constituyó la unidad experimental (Fig. 4.1). Con ayuda de un microaspirador bucal, se tomaron adultos del parasitoide de 3 a 6 días de emergidos de la cría permanente y dos horas en ayuno previo, los cuales se introdujeron por parejas (1, 2 ó 3) a la unidad experimental a través de un orificio lateral (Ø = 1 cm). Las plantas con los brotes infestados se dispusieron al azar en una cámara de cría (25 ± 3 °C; 12:12 de fotoperiodo). Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. Los parasitoides se retiraron 24 ó 48 h después de la infestación.



**Figura 4.1** Dispositivo usado en los bioensayos con el parasitoide *Tamarixia radiata*.

Cada brote se retiró a los 10 d y se revisó cuidadosamente bajo un microscopio estereoscópico (10 - 45 X) para registrar el número de adultos emergidos, tanto del psílido como del parasitoide y el número de ninfas parasitadas. Se calculó el porcentaje de parasitismo mediante la fórmula propuesta por Qureshi *et al.* (2009):

$$\text{Parasitismo (\%)} = \frac{\text{No. de parasitoides emergidos}}{\text{No. de hospederos emergidos} + \text{No. de parasitoides emergidos}} \times 100$$

**4.4.5 Toxicidad de aceites en adultos de *T. radiata*.** Se evaluó la toxicidad de los aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* en adultos de *T. radiata* con 2 h de ayuno previo. Los insectos se sometieron a -4 °C por 90 seg para facilitar la aplicación de los tratamientos (Smith y Olson, 1982; Chaskopoulou *et al.*, 2009). Posteriormente, los adultos se colocaron sobre un disco de papel secante, donde fueron asperjados con 1.5 mL de solución final de cada tratamiento (Cuadro 4.1) por unidad experimental, mediante un atomizador manual de 5 mL de capacidad. El testigo consistió en la aplicación de una solución acuosa con Tween 20 al 0.1 % (Hall y Nguyen, 2010). Los insectos tratados se transfirieron a frascos transparentes de poliestireno (27 x 50 mm), con tapa tipo clic perforada finamente para permitir la ventilación, a los que previamente se les habían colocado dos líneas de solución de miel Karo® al 1 % como sustrato de alimentación de los parasitoides. Los frascos se mantuvieron en una cámara de cría (25 ± 3

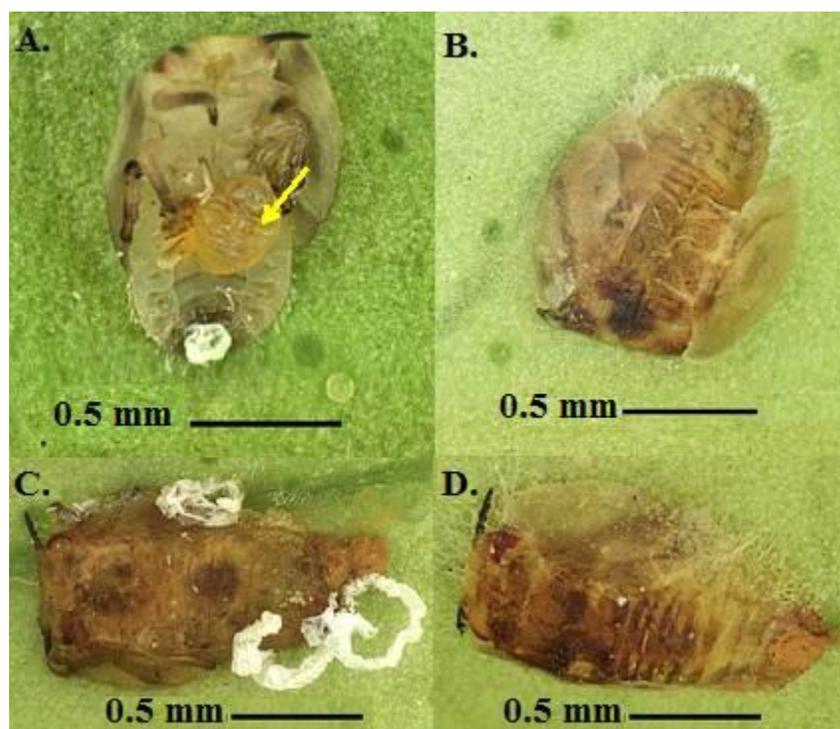
°C; 12:12 de fotoperiodo). La mortalidad se registró a las 24 y 48 h después de la aplicación, considerando individuo muerto aquel que no tuvo capacidad de caminar, saltar o volar.

**4.4.6 Pruebas de compatibilidad.** Se evaluó la compatibilidad de los aceites esenciales con los parasitoides a través de dos experimentos. En el primero (aceites - parasitoides), se asperjó un grupo de ninfas de tercer y cuarto instar de *D. citri* dispuestas en brotes de *Citrus sinensis* Var. 'Valencia' con la CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> ó CL<sub>80</sub> de cada aceite (Cuadro 4.1); 24 h después de la aplicación se expusieron las ninfas a tres parejas de *T. radiata* por 48 h, dentro de un frasco transparente de 150 mL de capacidad. En el segundo experimento (parasitoides - aceites), las ninfas se expusieron primero a las tres parejas de parasitoide por 48 h y después se trataron con la CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub> de cada aceite.

En ambos experimentos se incluyó un testigo absoluto donde solo se asperjó una solución acuosa con tween 20 al 0.1 % sin la presencia de parasitoides, y un testigo donde no se realizó ninguna aspersión y solo se expusieron las ninfas a los parasitoides. En todas las pruebas, la unidad experimental consistió en un brote de *C. sinensis* con 30 a 35 ninfas de tercer y cuarto instar de *D. citri*; en total se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. La mortalidad ninfal se registró a los 7 d; se consideraron como ninfas depredadas (host-feeding) aquellas que presentaron solidificación de la hemolinfa y adherencia de las ninfas a la hoja de naranja debido a la hemolinfa derramada, y las que carecían de simetría dorsal (Vizcarra-Valdez, 2013a). También se determinó el porcentaje de parasitismo al considerar la presencia de larva y pupa del parasitoide (Fig. 4.2) o bien, ninfas de *D. citri* con orificios de emergencia del parasitoide.

**4.4.7 Análisis estadístico.** La mortalidad obtenida en las cinco repeticiones en el testigo absoluto ( $\leq 12$  %) se utilizó para corregir la mortalidad de los tratamientos en cada uno de sus niveles mediante la ecuación de Abbott (1925). Se realizó un ensayo factorial 4 (aceites) x 3 (concentraciones) x 2 (tiempos) con cinco repeticiones. Los datos de mortalidad se transformaron mediante  $\log(Y + 1)$ , para ser sometidos al análisis de varianza (Proc GLM, SAS) (SAS Institute, 1999) y la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Cada combinación de los datos obtenidos de las pruebas de

compatibilidad se analizó separadamente. Para cada combinación, el número de ninfas muertas para cada caso- ya se por los aceites (*F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii*, *T. terniflora*), concentraciones (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>) o momentos de aplicación (aceite-parasitoide y parasitoide-aceite)- fueron analizados mediante regresión logística. La presencia de más variabilidad en los datos de los esperados bajo los supuestos binomiales (exceso de dispersión) se uso distribución de Fisher, en vez de probar la distribución de  $X^2$ . Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Genstat (Payne *et al.*, 2005).



**Figura 4.2** Estados de desarrollo de *Tamarixia radiata*. A = larva; B = prepupa; C y D = pupa.

## 4.5 RESULTADOS

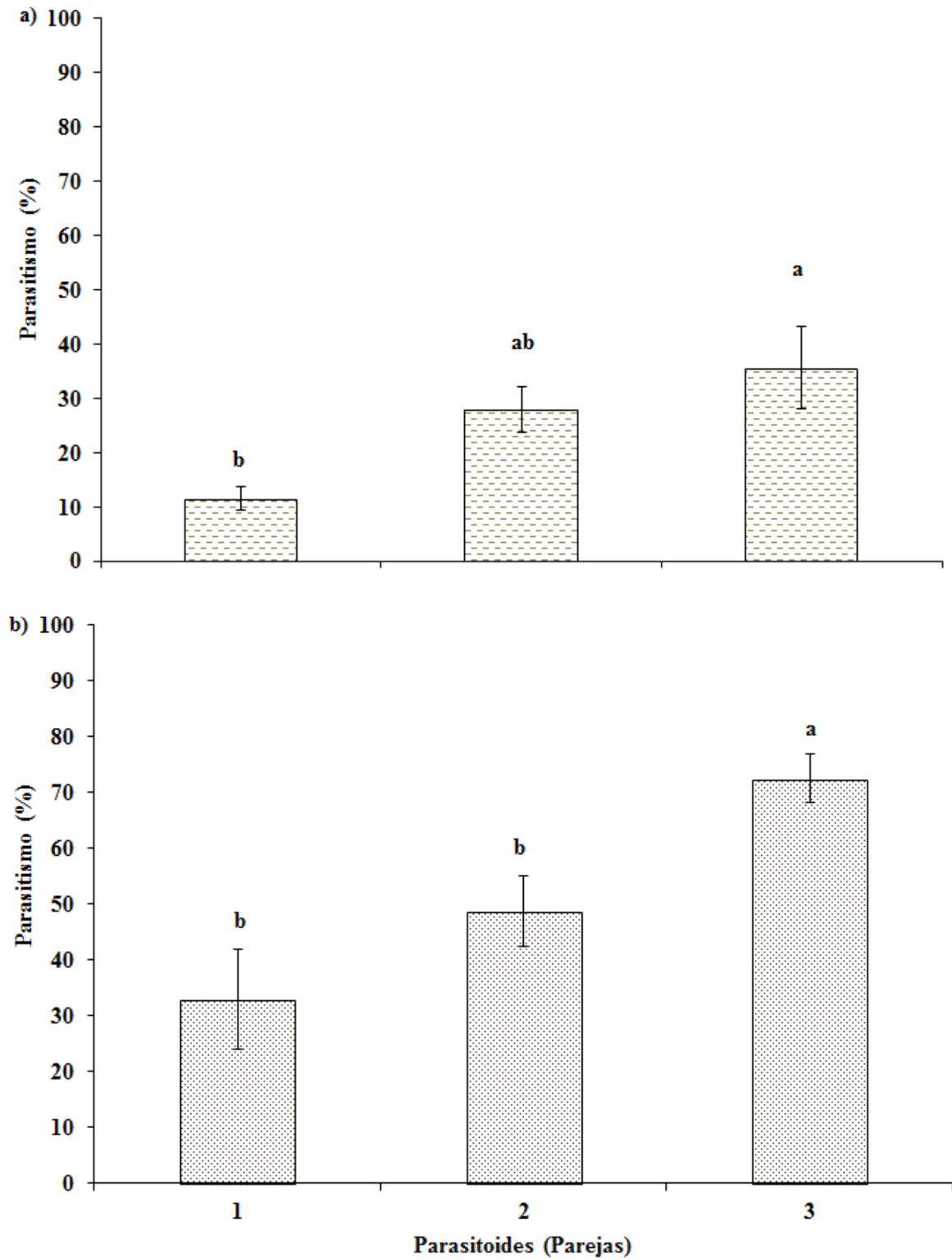
**4.5.1 Parasitismo de *T. radiata*.** El porcentaje de parasitismo de *T. radiata* sobre ninfas de 3er y 4º instar de *D. citri* aumentó al incrementar el número de parejas del parasitoide y su tiempo de exposición ( $F_{5,23}$ ,  $P= 0.0001$ ). Al exponer una pareja del parasitoide por 24 h a las ninfas se registró 11.5 % de parasitismo, 27.9 % con dos parejas y 35.6 % con tres parejas de *T. radiata* ( $F_{2,11}$ ,  $P= 0.04$ ) (Fig. 4.3 a). El parasitismo se

incrementó 2.9 X (32.9 %) al exponer una pareja de *T. radiata* por 48 h, 1.7 X (48.8 %) en dos y 2.0 X (72.5 %) en tres parejas del parasitoides con respecto a las 24 h ( $F_{2,11}$ ,  $P=0.0009$ ) (Fig. 4.3 b).

**4.5.2 Toxicidad de aceites en adultos de *T. radiata*.** En las pruebas de toxicidad de adultos de *T. radiata* se encontró que los cuatro aceites esenciales evaluados tuvieron un efecto tóxico similar a las 24 h después de su aplicación ( $F_{3,59}$ ,  $P \leq 0.05$ ). Sin embargo, la sobrevivencia de los parasitoides se afectó después de 48 h de la aplicación de *T. terniflora*, seguida en orden decreciente por *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* ( $F_{3,59}$ ,  $P < 0.0001$ ). Con respecto a las concentraciones letales evaluadas, la mayor mortalidad del parasitoide se obtuvo al aplicar la  $CL_{50}$  y  $CL_{80}$  de *T. terniflora* ( $26.7 \pm 4.6$  y  $34.4 \pm 7.2$ ), seguida por *T. coronopifolia* ( $15.8 \pm 6.8$ ;  $17.8 \pm 9.0$ ), *T. lemmonii* ( $10.4 \pm 6.5$ ;  $15.6 \pm 7.7$ ) y *F. vulgare* ( $6.6 \pm 8.6$ ;  $9.9 \pm 7.0$ ) a 48 h después de su aplicación ( $F_{3,39}$ ,  $P=0.0007$ ;  $0.0042$ ). Finalmente, los cuatro aceites esenciales evaluados mostraron un efecto similar en la mortalidad de *T. radiata* al aplicar las  $CL_{30}$  a las 24 y 48 después de su aplicación (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2** Toxicidad de cuatro aceites esenciales (% mortalidad  $\pm$  SD) en adultos del parasitoide *Tamarixia radiata*.

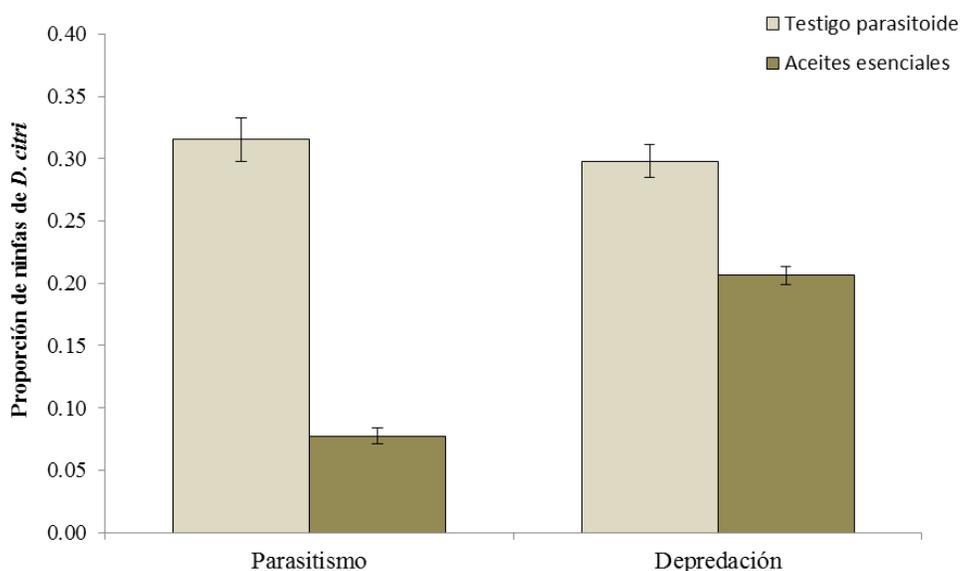
Trat.	<i>F. vulgare</i>		<i>T. coronopifolia</i>		<i>T. lemmonii</i>		<i>T. terniflora</i>	
	24	48 h	24	48 h	24	48 h	24	48 h
$CL_{80}$	10.3 $\pm$ 7.9	9.9 $\pm$ 7.0	18.4 $\pm$ 7.2	17.8 $\pm$ 9.0	7.2 $\pm$ 4.5	15.6 $\pm$ 7.2	20.6 $\pm$ 7.7	34.4 $\pm$ 7.2
$CL_{50}$	6.4 $\pm$ 5.4	6.6 $\pm$ 8.6	9.2 $\pm$ 3.9	15.8 $\pm$ 6.8	8.2 $\pm$ 5.9	10.4 $\pm$ 6.5	16.4 $\pm$ 6.9	26.7 $\pm$ 4.6
$CL_{30}$	7.8 $\pm$ 5.7	8.2 $\pm$ 4.9	10.2 $\pm$ 3.3	10.5 $\pm$ 5.9	5.2 $\pm$ 5.1	6.2 $\pm$ 6.6	5.4 $\pm$ 3.9	20.0 $\pm$ 10.1



**Figura 4.3** Parasitismo (%) de *Tamarixia radiata* (a) a las 24 y (b) 48 h de exposición a ninfas de *Diaphorina citri*.

### 4.5.3 Pruebas de compatibilidad.

**4.5.3.1 Parasitismo.** El análisis estadístico del número de ninfas parasitadas no indicó diferencias entre la interacción del orden de la aplicación de los aceites o el parasitismo (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite), el aceite esencial involucrado y las concentraciones evaluadas ( $F_{6,159}$ ,  $P = 0.806$ ). El porcentaje total de ninfas parasitadas por *T. radiata* en el testigo difiere de los porcentajes obtenidos en los tratamientos con aceites esenciales combinados ( $F_{1,159}$ ,  $P < 0.001$ ), con la mayor proporción de ninfas parasitadas encontradas en el testigo, respecto a los aceites en su conjunto (Fig. 4.4).



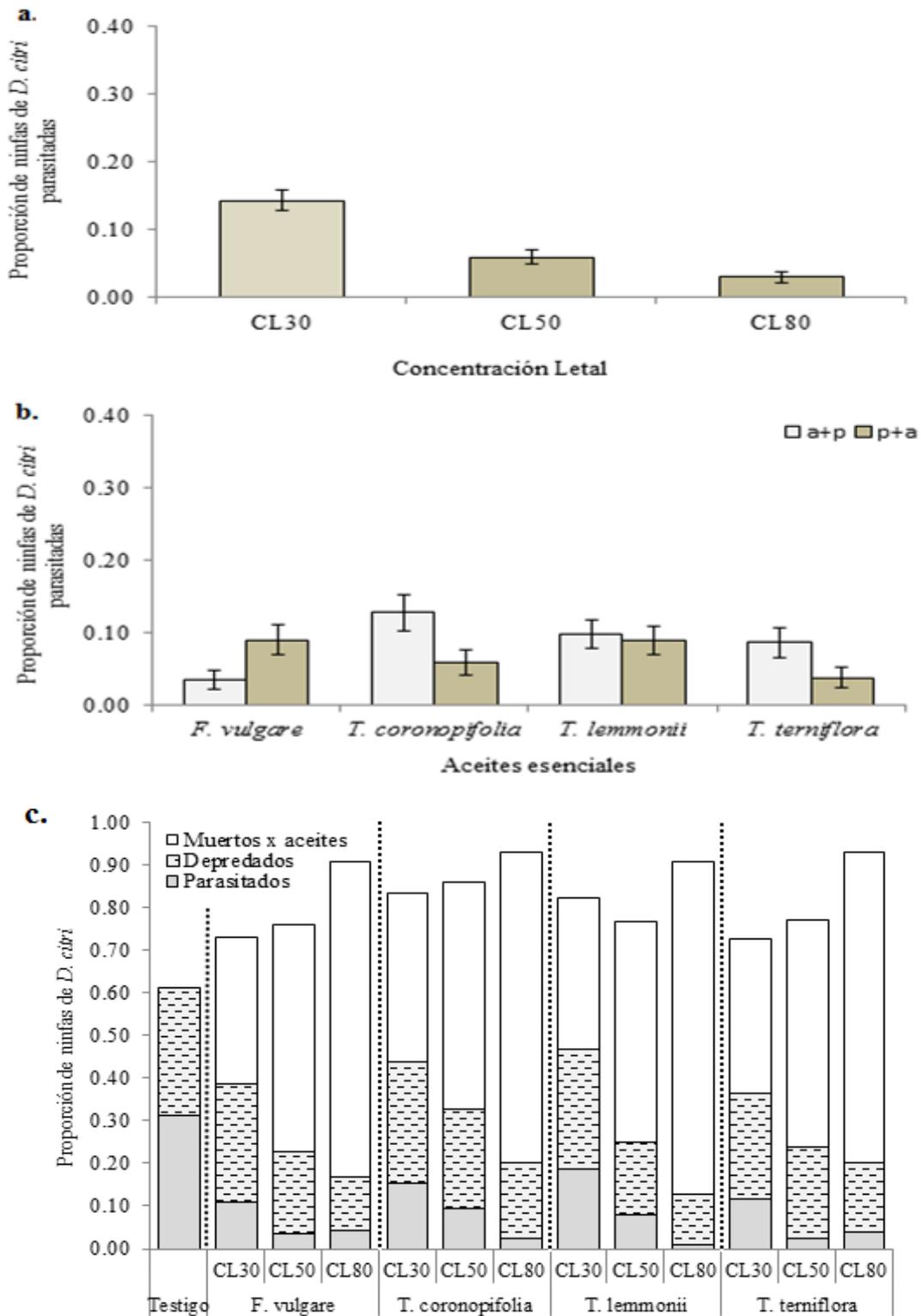
**Figura 4.4** Parasitismo y depredación de *Tamarixia radiata* en ninfas de *Diaphorina citri* tratadas con los cuatro aceites esenciales (dato promedio), en comparación con un testigo al que sólo se expuso a tres parejas del parasitoide.

Las tres concentraciones letales evaluadas mostraron diferencias significativas sobre el parasitismo de *T. radiata* ( $F_{2,159}$ ,  $P < 0.001$ ). La mayor proporción de ninfas parasitadas se encontró en la  $CL_{30}$  ( $0.1438 \pm 0.015$ ), seguida por la  $CL_{50}$  con  $0.060 \pm 0.010$  y finalmente con la  $CL_{80}$   $0.030 \pm 0.007$  (Fig. 4.5a). De igual forma, la interacción entre el aceite y el orden de aplicación tuvieron un efecto significativo en el parasitismo de *T. radiata* ( $F_{3,159}$ ,  $P = 0.005$ ). Cuando se aplicó primero el aceite y posteriormente el parasitoide, la mayor proporción de ninfas parasitadas se presentó con el aceite esencial de

*T. coronopifolia* ( $0.127 \pm 0.024$ ) y *T. terniflora* ( $0.086 \pm 0.020$ ), con respecto a la aplicación de parasitoide-aceite. Sin embargo, el aceite de *F. vulgare* se comportó de manera diferente, con mayor proporción de ninfas parasitadas ( $0.090 \pm 0.020$ ) al exponerlas primero al parasitoide y posteriormente a la aplicación del aceite. El aceite de *T. lemmonii* se comportó de forma similar en ambos periodos de aplicación ( $0.097 \pm 0.020$  y  $0.088 \pm 0.020$ ) (Fig. 4.5 b). De manera general, la mayor proporción de ninfas parasitadas se encontró con la aplicación de la CL<sub>30</sub> del aceite esencial de *T. lemmonii* ( $0.189 \pm 0.027$ ), seguida en orden descendiente por *T. coronopifolia* ( $0.156 \pm 0.025$ ), *T. terniflora* ( $0.119 \pm 0.021$ ) y *F. vulgare* ( $0.110 \pm 0.022$ ), sin importar el orden de aplicación respecto al parasitismo. Con la aplicación de la CL<sub>50</sub> de *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* se registró el mayor parasitismo, mientras que con la aplicación de la CL<sub>80</sub> de los cuatro aceites se presentó un parasitismo de 1 a 4 % (Fig. 4.5 c).

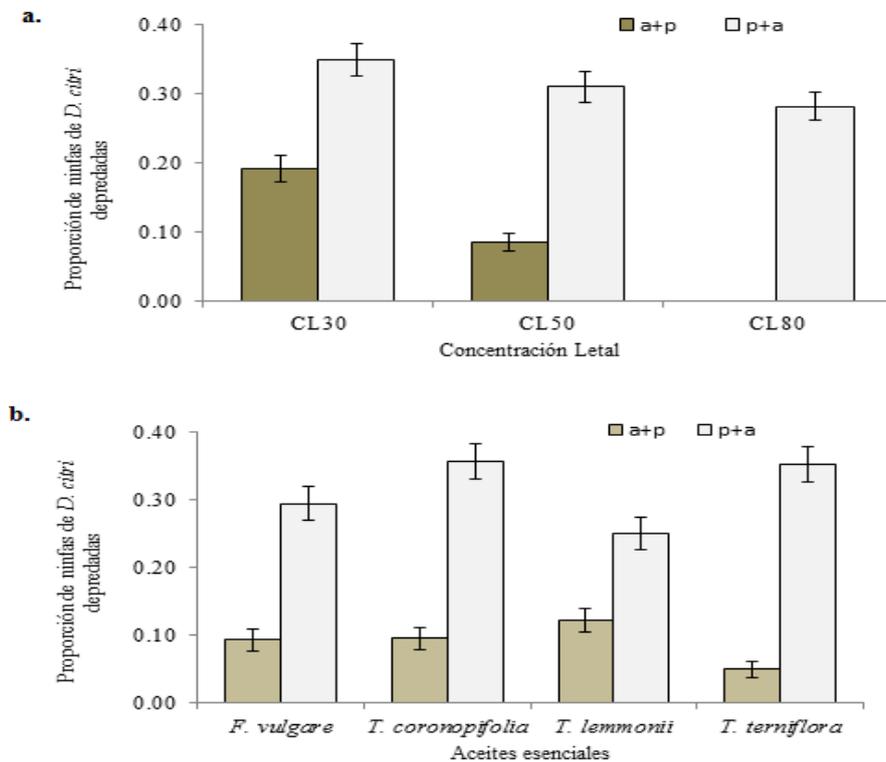
**4.5.3.2 Depredación.** El análisis estadístico del número de ninfas depredadas no indicó diferencias entre la interacción del orden de aplicación (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite), el aceite esencial aplicado y la concentración evaluada ( $F_{6,159}$ ,  $P = 0.947$ ). El porcentaje total de ninfas depredadas por *T. radiata* en el testigo y en los tratamientos con aceites esenciales combinados, difieren estadísticamente ( $F_{1,159}$ ,  $P < 0.001$ ). El testigo al que sólo se expuso a tres parejas del parasitoide presentó mayor proporción de ninfas depredadas ( $0.298 \pm 0.013$ ) con respecto a los tratados con los aceites esenciales en su conjunto ( $0.206 \pm 0.007$ ) (Fig. 4.4).

La interacción entre el orden de aplicación y las concentraciones evaluadas fue significativa en la proporción de ninfas de *D. citri* depredadas ( $F_{2,159}$ ,  $P < 0.001$ ). La mayor proporción de ninfas depredadas (0.349, 0.310 y 0.281) se encontró cuando se expusieron primero al parasitoide *T. radiata* y posteriormente a la aplicación de los aceites en las tres concentraciones letales evaluadas. No obstante, al aplicar primero el aceite la mayor proporción de ninfas consumidas se encontró en las CL<sub>30</sub>'s ( $0.190 \pm 0.019$ ) y CL<sub>50</sub>'s ( $0.084 \pm 0.013$ ). Al aplicar las CL<sub>80</sub>'s se encontró que el parasitoide no se alimentó sobre ninfas tratadas (Fig. 4.6 a).



**Figura 4.5** Efecto de (a) las concentraciones letales de los aceites esenciales y (b) orden de aplicación (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite) en el parasitismo de ninfas de *Diaphorina citri*. (c) Componentes de la mortalidad total (parasitismo, depredación y mortalidad por aceite) por la interacción del tipo de aceite y las concentraciones evaluadas.

La interacción entre el orden de aplicación y los aceites esenciales evaluados fue significativa en la proporción de ninfas depredadas ( $F_{3,159}$ ,  $P < 0.001$ ). La mayor proporción de ninfas depredadas (de 0.250 a 0.356) se encontró cuando éstas se expusieron primero al parasitoide y posteriormente al aceite. Sin embargo, los aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* se comportaron de forma similar (0.093, 0.095 y 0.122) en depredación de ninfas al aplicar primero el aceite y posteriormente al exponerlas al parasitoide, a diferencia de *T. terniflora* que afectó negativamente la alimentación de *T. radiata* (0.050) (Fig. 4.6 b). En general, en la interacción de los aceites con las concentraciones evaluadas no presentaron diferencias significativas en la depredación de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* ( $F_{6,159}$ ,  $P = 0.913$ ). La mayor proporción de ninfas depredadas se encontró al aplicar la CL<sub>30</sub> del aceite de *T. coronopifolia* ( $0.283 \pm 0.031$ ), seguida en orden decreciente por *T. lemmonii* ( $0.281 \pm 0.311$ ), *F. vulgare* ( $0.279 \pm 0.031$ ) y *T. terniflora* ( $0.248 \pm 0.278$ ). Con la aplicación de la CL<sub>50</sub> de los aceites de *T. coronopifolia*, *T. terniflora*, *F. vulgare* y *T. lemmonii* se encontraron depredaciones que van de 17 a 23 % (Fig. 4.5 c).

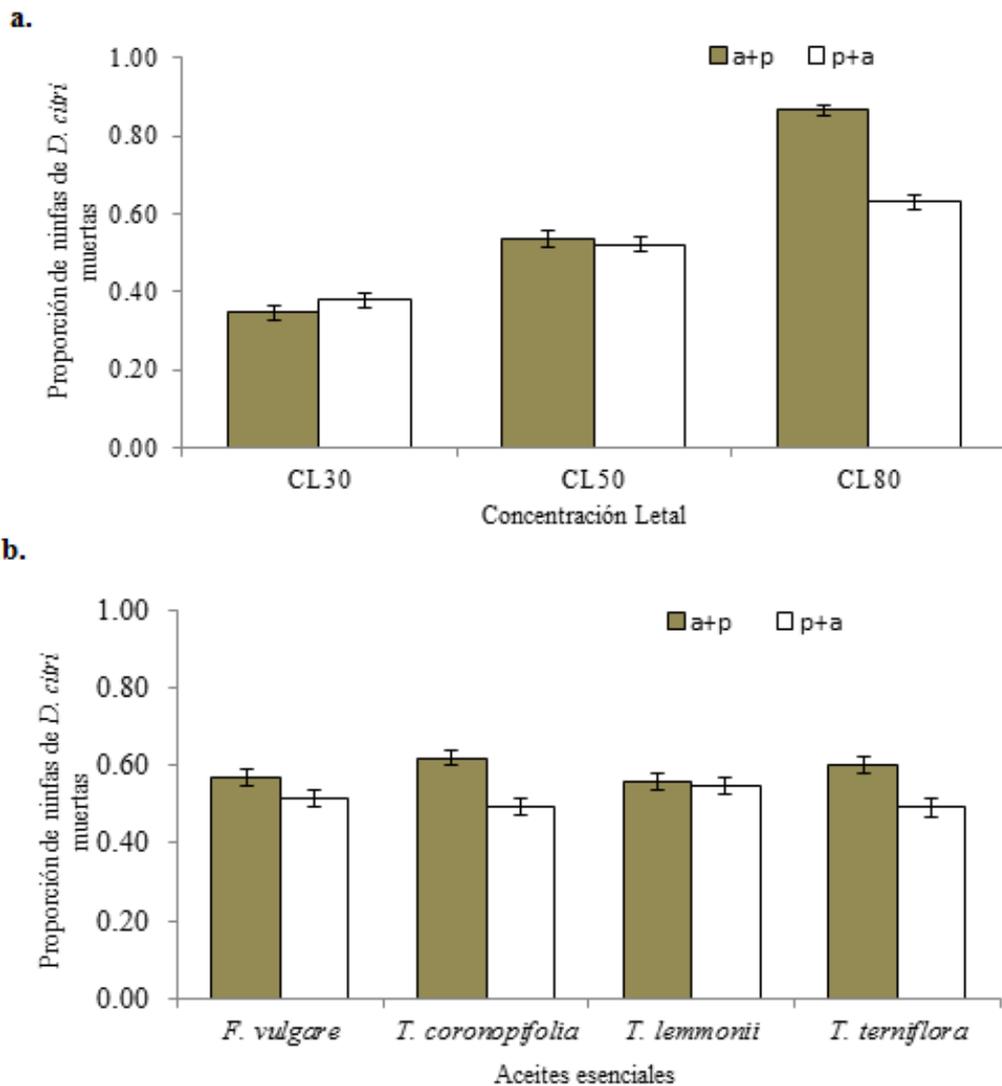


**Figura 4.6** Efecto de (a) las concentraciones letales y (b) el orden de aplicación de los aceites esenciales sobre ninfas depredadas. Nótese el efecto de la depredación como parte de los componentes de mortalidad total (Fig. 4.5 c).

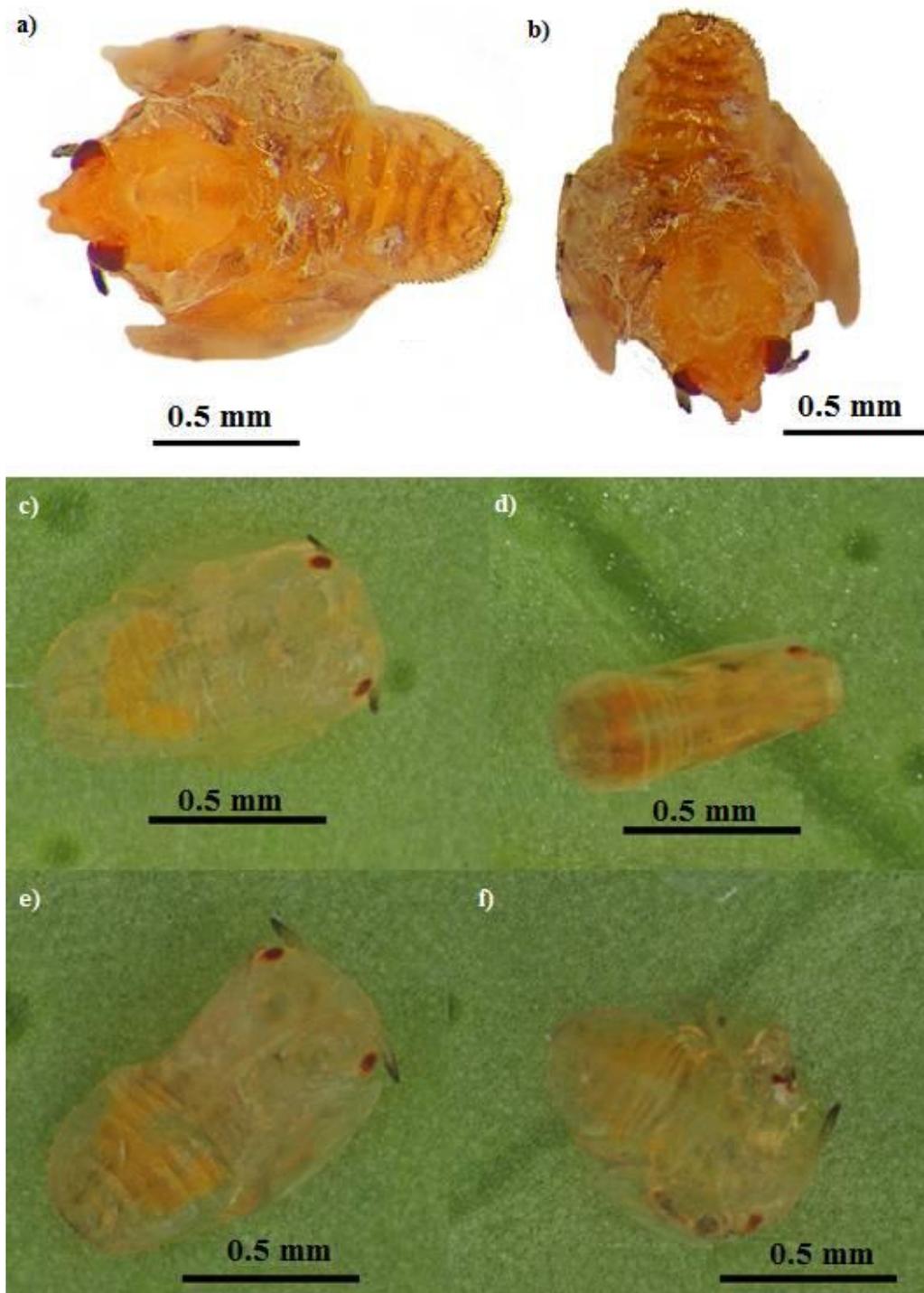
**4.5.3.3 Mortalidad por aceites esenciales.** El análisis estadístico de la mortalidad de ninfas por efecto de los aceites esenciales no indicó diferencias significativas entre aceites aplicados ( $F_{3,159}$ ,  $P = 0.881$ ) e la interacción entre los aceites aplicados y las concentraciones evaluadas ( $F_{6,159}$ ,  $P = 0.716$ ). El orden de aplicación de los aceites respecto al parasitismo, afectó la sobrevivencia de las ninfas de *D. citri* ( $F_{1,159}$ ,  $P < 0.001$ ). La aplicación de los aceites esenciales en primer lugar y posteriormente la liberación del parasitoide presentó mayor mortalidad de ninfas ( $0.585 \pm 0.010$ ), con respecto a la aplicación en orden inverso ( $0.511 \pm 0.011$ ).

La interacción entre el orden de aplicación con las concentraciones letales evaluadas presenta diferencias significativas ( $F_{2,159}$ ,  $P < 0.001$ ) en la mortalidad de ninfas. Se encontró que ésta mortalidad fue similar en las CL<sub>30</sub>'s (0.346 y 0.377) y CL<sub>50</sub>'s (0.536 y 0.520) en los dos órdenes de aplicación. Sin embargo, la proporción de ninfas muertas fue mayor al aplicar primero las CL<sub>80</sub>'s de los aceites y después exponer al parasitoide ( $0.864 \pm 0.013$ ), que a la inversa ( $0.630 \pm 0.018$ ) (Fig. 4.7 a). La interacción entre el orden de aplicación y los aceites evaluados mostró diferencias en la mortalidad de las ninfas del psílido ( $F_{3,159}$ ,  $P = 0.029$ ). Los aceites de *F. vulgare*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* actuaron de manera similar en los dos órdenes de aplicación; sin embargo, *T. coronopifolia* presentó mayor proporción de ninfas muertas ( $0.618 \pm 0.020$ ) al aplicar primero el aceite que al exponer las ninfas al parasitoide ( $0.492 \pm 0.022$ ) (Fig. 4.7 b). En general, las concentraciones letales evaluadas se comportaron de forma similar para los cuatro aceites esenciales, con la aplicación de las CL<sub>80</sub>'s de los cuatro aceites evaluados se encontró una proporción de mortalidad de 0.72 a 0.77, seguido por las CL<sub>50</sub>'s (0.51 a 0.53) y las CL<sub>30</sub>'s de 0.34 a 0.39 (Fig. 4.5 c).

En ambas pruebas y en las tres concentraciones evaluadas (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>), las ninfas de *D. citri* mostraron deshidratación y remoción de grasa corporal, adhesión de las antenas al cuerpo, coloración brillante del cuerpo, con uno o los dos primordios alares retraídos hacia la parte ventral y con daño en la superficie de las facetas lo cual ocasionó derrame del pigmento ocular. Estos son algunos efectos que fueron ocasionados por la aplicación de los aceites esenciales. Además, con el aceite de *T. coronopifolia* se encontró una inhibición de muda como efecto subletal de la CL<sub>30</sub> (Fig. 4.8).



**Figura 4.7** Proporción de mortalidad de ninfas de *D. citri* por efecto de (a) la concentración letal y (b) el orden de aplicación (aceite-parasitoide ó parasitoide-aceite esencial) de los aceites esenciales. Nótese el efecto de la mortalidad por aceites esenciales como parte de los componentes de mortalidad total (Fig. 4.5 c).



**Figura 4.8** Efectos de los aceites esenciales sobre ninfas de *Diaphorina citri*. (a, b) Inhibición de la muda, (c) remoción de grasa corporal, (d) primordios alares retraídos hacia la parte ventral, (e) deshidratación y coloración brillante del cuerpo, y (e, f) derrame del pigmento ocular.

## 4.6 DISCUSIÓN

**4.6.1 Toxicidad de aceites en adultos de *T. radiata*.** La toxicidad de los aceites esenciales de las cuatro especies de plantas aromáticas evaluadas sobre adultos de *T. radiata* varió de  $6.2 \pm 6.6$  a  $34 \pm 7.2$  en las tres concentraciones evaluadas. De acuerdo con la clasificación de la IOBC/WPRS (Sterk *et al.*, 1999), los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* a las 24 y 48 h, y *T. terniflora* a las 24 h fueron selectivos para adultos de *T. radiata* (Categoría 1; mortalidad <30 % IOBC). En cambio, a las 48 h de aplicar las tres concentraciones (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>), el aceite de *T. terniflora* resultó ligeramente nocivo (Categoría 2: 30-79 % IOBC). Estos resultados son similar a los reportados por Iannacone y Alvaríño (2010) con el extracto acuoso de *Schinus molle* (Anacardiaceae) sobre larvas de *Ceraeochrysa cincta* Schneider (Neuroptera: Chrysopidae) y adultos de *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae). Los resultados coinciden también con los de Luna-Cruz *et al.* (2011; 2015) con la aplicación del producto botánico PHC NEEM® sobre el parasitoide *Tamarixia triozae* Burks (Hymenoptera: Eulophidae).

Diversos autores señalan que los enemigos naturales presentan a menudo mayor susceptibilidad a la persistencia de insecticidas con respecto a la plaga (Croft, 1990; Stark *et al.*, 1992; Ruberson *et al.*, 1998). La hipótesis de este estudio fue que al menos un aceite esencial fuera selectivo a los adultos de *T. radiata*. De los cuatro aceites evaluados, *F. vulgare* y *T. lemmonii* presentaron una mortalidad del parasitoide menor al 19 %, similar al reportado por Cocco y Hoy (2008) con aceite de petróleo al 2 %, lo cual soporta la hipótesis planteada. Asimismo coinciden también con Villanueva-Jiménez y Hoy (1998), quienes reportan que la azadirachtina sola, el aceite de nim y el producto Neemix® al aplicar 0.688 ml/L, 1.5 ml/L y 3 ml/L no afectan la sobrevivencia de adultos del parasitoide del minador de la hoja de los cítricos *Ageniaspis citrícola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae). Sin embargo, los resultados de la selectividad de *F. vulgare* y *T. lemmonii* sobre *T. radiata* se contraponen con lo indicado sobre la persistencia de insecticidas a enemigos naturales. El reducido efecto de estos aceites esenciales sobre el parasitoide, posiblemente se debe a que son de bajo peso molecular y altamente volátiles (Miresmailli e Isman, 2006), lo cual los hace específicos para ciertos insectos y con modo de acción únicos, con baja toxicidad para organismos de control biológico, el hombre y otros mamíferos (Isman, 2000).

**4.6.2 Pruebas de compatibilidad.** En las pruebas de compatibilidad se obtuvo mayor proporción de parasitismo y depredación (0.315 y 0.298) en el testigo al que sólo se expuso a tres parejas del parasitoide, en comparación con los tratados con el aceite en su conjunto. El parasitismo en el testigo coincide con lo reportado por diversos autores, quienes mencionan que *T. radiata* puede llegar a parasitar entre 34 a 71 % de ninfas de tercer y cuarto instar de *D. citri* (Chien *et al.*, 1991; Vizcarra-Valdez *et al.*, 2013b; Sule *et al.*, 2014). Con respecto a la depredación, la proporción de ninfas de *D. citri* depredadas varió de 0.250 a 0.356 al exponer en primer lugar el parasitoide; dato diferente al reportado por Vizcarra-Valdez *et al.* (2013a), quienes indican que *T. radiata* puede depredar hasta un 56.3 %. Mientras que para *T. triozae* se reporta un promedio de 181 ninfas depredadas (4.5 a 10 ninfas por día) de *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Triozidae) (Cerón-González *et al.*, 2014).

La interacción entre aceites esenciales de plantas con agentes de control biológico de plagas no se ha estudiado ampliamente. La aplicación de los aceites esenciales en las pruebas de compatibilidad afectó el proceso de aceptación en la alimentación y la oviposición con respecto al testigo, al que sólo se expuso a tres parejas del parasitoide. Onagbola *et al.* (2009) indica que la búsqueda del hospedero se lleva a cabo mediante la presencia de sensilas placoideas presentes en las antenas de los parasitoides, con la finalidad de detectar las kairomanas emanadas del hospedero. Sin embargo, estos tienen la capacidad de evaluar y seleccionar a sus hospederos no contaminados por sustancias tóxicas (Husain y Nath, 1923; Tremblay *et al.*, 2008; Rehman y Powell, 2010).

En esta investigación se encontró parasitismo superior al 10 % en ninfas tratadas con la CL<sub>30</sub> de los cuatro aceites esenciales evaluados; esto posiblemente se debe a que se aplicó una dosis subletal al parasitoide, o a la pérdida de energía como mecanismo de defensa del hospedero al tratar de degradar moléculas tóxicas haciéndolas propensas al parasitismo. Villanueva-Jiménez y Hoy (1998) reportan un porcentaje de parasitismo de *A. citrícola* de 83.4 % al aplicar un cuarto de la dosis recomendada en campo de aceite de nim; sin embargo, el parasitismo se redujó (63 %) al aplicar dos veces la dosis recomendada del aceite; estos autores clasificaron a este aceite como un producto selectivo al parasitoide *A. citrícola*. Otro factor importante a considerar en el parasitismo y depredación es el orden de aplicación de los aceites esenciales, como se encontró en el

presente estudio donde se obtuvo mayor parasitismo y depredación al exponer primero al parasitoide y posteriormente realizar la aplicación del aceite, en comparación con el orden inverso. Resultado similar fue encontrado por García (2003), quien reporta mayor depredación y parasitismo de *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae) antes de la aplicación de los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin.

La susceptibilidad de ninfas tratadas con dosis subletales (CL<sub>30</sub>) de aceites esenciales a los parasitoides no se ha estudiado, a diferencia de los hongos entomopatógenos, donde hay una interacción positiva entre los agentes de control (Rosenheim *et al.*, 1995). Powell *et al.* (1986) mencionan que la presencia de los parasitoides incrementa significativamente la mortalidad de los hospederos por efecto de los hongos entomopatógenos aplicados 48 h después de la exposición a los parasitoides. Por otro lado, en esta investigación la presencia de menor parasitismo en el aceite esencial de *T. coronopifolia* y *T. terniflora* después de la exposición al parasitoide, posiblemente se deba a la mortalidad tanto del hospedero como del parasitoide en su estado de huevo, causada por la exposición directa de las concentraciones de los aceites. Aspecto estudiado ampliamente en insecticidas químicos (Tanaka y Minakuchi, 2012).

#### 4.7 CONCLUSIONES

El mayor parasitismo de ninfas de *D. citri* se encontró al exponerlas a tres parejas de *Tamarixia radiata* por 48 h, en comparación con la exposición a una o dos parejas y por 24 h. Los aceites de *Foeniculum vulgare*, *Tagetes coronopifolia* y *T. lemmonii* resultaron selectivos a *T. radiata*, mientras que el de *T. terniflora* resultó ligeramente nocivo para el parasitoide. En pruebas de compatibilidad de aceites con el parasitoide, la mayor proporción de ninfas parasitadas y depredadas se encontraron en el testigo, en el que se expusieron las ninfas a tres parejas de *T. radiata*. Al aplicar la CL<sub>30</sub> del aceite esencial de *T. lemmonii* se alcanzó la mayor proporción de ninfas parasitadas, seguida por *T. coronopifolia*, *T. terniflora* y *F. vulgare*. La mayor depredación se registró cuando se expusieron las ninfas primero al parasitoide y posteriormente a la aplicación de los aceites. Con la aplicación de la CL<sub>80</sub> de los aceites se encontró que el parasitoide no se alimentó sobre las ninfas tratadas. La mayor depredación de ninfas se

obtuvo al aplicar la CL<sub>30</sub> del aceite de *T. coronopifolia*, seguida por *T. lemmonii*, *F. vulgare* y *T. terniflora*. La mortalidad de ninfas por efecto de los aceites fue directamente proporcional a las tres concentraciones de los aceites evaluadas (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>). Existe compatibilidad entre el parasitoide *T. radiata* y los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* para el manejo integrado de *D. citri*, siempre y cuando las ninfas se expongan primero al parasitoide y después a la CL<sub>30</sub> de los aceites

## CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

Se identificaron más del 98 % de los compuestos presentes en los análisis fitoquímicos de los aceites esenciales de las siete plantas aromáticas evaluadas. El compuesto principal en el aceite esencial de *F. vulgare* fue anetol (con 47.67 % de abundancia relativa); en *R. officinalis* (-)-alcanfor (24.05 %); en *S. molle* biciclo[3,1,0]hexano, 4-metil-1-(1-metiletil)-, didehidro (27.74 %); en *T. coronopifolia* verbenona (30.74 %); en *T. lemmonii* 4-etil-4-metil-1-hexano (35.21 %); en *T. lucida* 4-alilanol (36.01 %) y en *T. terniflora* *trans*-tagetona (28.65 %). Fue común la presencia de  $\beta$ -ocimeno, 4-etil-4-metil-1-hexano, anetol, *trans*-tagetona, *cis*-tagetona, verbenona, *cis*-verbenona y  $\beta$ -cariofileno en las cuatro especies de *Tagetes*.

En los bioensayos de actividad biológica de las siete plantas contra *Diaphorina citri*, los extractos acuosos y etanólicos de *T. coronopifolia*, *T. erecta* y *T. lucida*, y los aceites de *S. molle* y *R. officinalis* no mostraron efecto tóxico ni repelente sobre adultos y ninfas de la plaga. Sin embargo, la supervivencia de las ninfas se vió afectada por la aplicación de aceites esenciales de *F. vulgare*, *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *T. terniflora* a 10 mg mL<sup>-1</sup>, aunque los aceites de *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* fueron los más tóxicos a nivel de CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>. En adultos de *D. citri*, los aceites de *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. terniflora* fueron tóxicos a partir de 20 mg mL<sup>-1</sup>, después de 24 h de exposición. Las concentraciones mayores a 3.5 mg mL<sup>-1</sup> de los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* fueron repelentes a adultos de *D. citri*.

La eficiencia del parasitoide *T. radiata* en el manejo de *D. citri* estuvo determinada por el tiempo de exposición de las ninfas y el número de parejas de parasitoides evaluados. La mayor tasa de parasitismo se encontró al exponer tres parejas de parasitoides a ninfas de tercer y cuarto instar por un periodo de 48 h, en comparación con las 24 h.

Los bioensayos de toxicidad de los aceites esenciales sobre adultos de *T. radiata* revelaron que *F. vulgare*, *T. coronopifolia* y *T. lemmonii* fueron selectivos al parasitoide; mientras que el aceite de *T. terniflora* resultó ligeramente nocivo, según los estándares del Organismo Internacional de Control Biológico.

En pruebas de compatibilidad de los aceites con el parasitoide, el testigo que no fue tratado con aceites presentó mayor proporción de ninfas parasitadas y depredadas (0.315 y 0.298). Las CL<sub>30</sub> de los aceites presentaron mayor parasitismo ( $0.1438 \pm 0.015$ ) y depredación ( $0.273 \pm 0.015$ ), seguida por la CL<sub>50</sub> ( $0.060 \pm 0.010$  y  $0.202 \pm 0.013$ ) y finalmente con la CL<sub>80</sub> ( $0.030 \pm 0.007$  y  $0.146 \pm 0.010$ ), sin importar el orden de exposición del aceite o del parasitoide. Sin embargo, la mayor depredación (0.349, 0.310 y 0.281) se registró cuando se expusieron las ninfas primero al parasitoide y posteriormente a la aplicación de los aceites. En general, el mayor parasitismo ( $0.189 \pm 0.027$ ) y la mayor depredación ( $0.281 \pm 0.311$ ) se encontraron con la aplicación de la CL<sub>30</sub> del aceite esencial de *T. lemmonii*, seguido por *T. coronopifolia* ( $0.156 \pm 0.025$  y  $0.283 \pm 0.031$ ), *T. terniflora* ( $0.119 \pm 0.021$  y  $0.248 \pm 0.278$ ) y *F. vulgare* ( $0.110 \pm 0.022$  y  $0.279 \pm 0.031$ ). La mortalidad de ninfas ocasionada por los aceites fue directamente proporcional a sus concentraciones evaluadas (CL<sub>30</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>80</sub>).

Existe compatibilidad entre el parasitoide *T. radiata* y los aceites de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* para el manejo integrado de *D. citri*, siempre y cuando las ninfas se expongan primero al parasitoide y despues a la CL<sub>30</sub> de los aceites.

En general, las sustancias vegetales son una herramienta para integrarse al manejo bioracional del psílido asiático de los cítricos, ya que no resolverán de manera unilateral este problema. Se necesita investigar la interacción de *T. coronopifolia*, *T. lemmonii* y *F. vulgare* con el parasitoide *T. radiata* en campo. Además, se requiere definir los modos de acción de estos aceites sobre el insecto, la volatilidad de las moléculas, la influencia de condiciones ambientales, así como su compatibilidad con otros enemigos naturales y otras alternativas de manejo, con el fin de definir mejor formas prácticas de manejo.

## LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Abdala, L. R., Martino V., Caffini N., Phillipson J. D., Lappa A., Tchernitchin A., Ferraro G., Debenedetti S., Schilch H., and Acevedoer C. 1999. Flavonoids in *Tagetes coronopifolia* Wild (Asteraceae). *Acta Hort.* 501: 219-222.
- Abdel-Sattar, E., Zaitoun A. A., Farag M. A., Gayed S. H., and Harraz F. M. H. 2010. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod. Res.* 24(3): 226-235.
- Adams, R. P. 2001. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole. Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL. Pp:468-572.
- Agustí, M. 2003. Citricultura. Mundi-Prensa. 2ª ed. Madrid, España. 422p.
- Akgül, A., and Bayrak A. 1988. Comparative volatile oil composition of various parts from Turkish bitter fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*). *Food Chem.* 30: 319-323.
- Alemán, J., Baños H., y Ravelo J. 2007. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: Una combinación destructiva para la producción citrícola. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba. *Rev. Protección Veg.* 22(3): 154-165.
- Almeida, C. F. C. B. R., and Albuquerque U. P. 2002. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45(3): 343-353.
- Almiron, E., Stefanazzi N., Werdin G. J. O., y Ferrero A. A. 2013. Toxicidad por contacto y fumigante del aceite esencial de *Tagetes terniflora* (Asteraceae) en *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae). *A4 Toxicología. Dominguezia* 29 (suplemento): 81.
- Amer, S. A. A., Refaat A. M., and Momen F. M. 2001. Repellent and oviposition-detering activity of rosemary and sweet marjoram on the spider mites *Tetranychus urticae* and *Eutetranychus orientalis* (Acari: Tetranychidae). *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 36: 155-164.
- Andrade-Cetto, A. 2009. Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, Mexico. *J. Ethnopharmacol.* 122: 163-171.
- Araque, M., Rojas L. B., and Usubillaga A. 2007. Antimicrobial activities of essential oil of *Foeniculum vulgare* miller against multiresistant gram negative *Bacillus* from nosocomial infections. *Ciencia.* 15(3): 366-370.
- Arena, A., López D., Álvarez E., Llano G., y Loke J. 2004. Efecto de prácticas ecológicas sobre la población de *Ralstonia solanacearum* Smith, causante de Moko de plátano. *Fitopatol. Colomb.* 28: 76-80.
- Aubert, B. 1987. *Trioxa erythrae* del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. *Fruits.* 42: 149-162.
- Badawy, M. E. I., and Abdelgaleil S. A. M. 2014. Composition and microbial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Ind. Crops Prod.* 52: 776-784.
- Baldwin, I. T. 1991. Damage-induced alkaloids in wild tobacco. Pp. 47-69. *In: Tallamy D. W., and Raupp M. J. (eds.). Phytochemical induction by herbivores.* John Wiley and Sons, New York, USA.
- Ball-Coelho, B., Bruin A. J., Roy R. C., and Riga E. 2003. Forage pearl millet and marigold as rotation crops for biological control of root-lesion nematodes in potato. *Agron. J.* 95: 282-292.

- Barajas, P. J. S. 2009. Propiedades plaguicidas de cinco especies del género *Tagetes*. Tesis de maestría en ciencias. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. 83p.
- Barajas, P. J. S., Montes-Belmont R., Castrejón A. F., Flores-Moctezuma H. E., y Serrato C. M. A. 2011. Propiedad antifúngicas en especies del género *Tagetes*. *Rev. Mex. Micol.* 34: 85-91.
- Barros, L., Carvalho A. M., and Ferreira I. C. F. R. 2010. The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): shoots, leaves, stems and inflorescences. *LWT: Food Sci. Technol.* 43(5): 814-818.
- Baser, K. H. C., Kürkçüoğlu M., Demirçakmak B., Ülker N., and Beis S. H. 1997. Composition of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Turkey. *J. Essent. Oil Res.* 9: 693-696.
- Bassanezi, R. B., Montesino L. H., Gasparoto M. C. G., Bergamin-Filho A., and Amorim L. 2011. Yield loss caused by Huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. *Eur. J. Plant Pathol.* 130: 577-586.
- Bernath, J. 2009. Aromatic plants. Pp. 329-352. *In: Fuleky G. (ed.). Cultivated Plants, Primarily as Food Sources. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Volume 2. Paris, France.*
- Bicchi, C., Fresia M., Rubiolo P., Monti D., Franz C., and Goehler I. 1997. Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour Fragr. J.* 12: 47-52.
- Bigornia, A. E., and Obana S. P. 1974. Studies on the population dynamics of *Diaphorina citri* (Kuw.) and the flushing rhythm of citrus. *Philipp. J. Plant Ind.* 39: 37-52.
- Bloch, G., and Wool D. 1994. Methidathion resistance in the sweetpotato whitefly (Aleyrodidae: Homoptera) in Israel selection, heritability, and correlated changes of esterase activity. *J. Econ. Entomol.* 87: 1147-1156.
- Bostanian, N. J., Akalach M., and Chiasson H. 2005. Effects of a *Chenopodium*-based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthracoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest. Manag. Sci.* 61: 979-984.
- Bové, J. M. 2012. Huanglongbing and the future of citrus in Sao Paulo, State, Brazil. *J. Plant Pathol.* 94: 465-467.
- Cabrera-Cabrera, R. I., González-Fernández C. G., Hernández-Espinosa D., Rodríguez-Tapia J. L., Ferrer-González J., y Herrera-Bautista N. 2010. Evaluación de los aceites minerales Sigatoka y Rocio Spray en el control de *Diaphorina citri* Kuw. *CitriFrut.* 27: 23-27.
- Cáceres, S. y M. R. A. Aguirre. 2005. Presencia de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en cultivos cítricos de Corrientes. *Rev. Soc. Entomol.* 64(4): 348-349.
- Calderón, R. G. de, y Rzedowski J. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán. 1406 p.
- Camarillo, De la R. G., Ortega A. L. D., Serrato M. A., y Rodríguez H. C. 2009. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 35(2): 177-184.
- Cano, E., y Gladstone C. 1994. Efecto del insecticida botánico, nim-20 sobre el parasitismo por *Trichogramma pretiosum* en huevos de *Helicoverpa zea* en el cultivo del melón. *Man. Int. Plagas (Costa Rica).* 33: 23-25.
- Cavalcanti, E. S., Morais S. M., Lima M. A., and Santana E. W. 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99: 541-544.
- Cázares, A. N. P., Verde S. M. J., López A. J. I., y Almeyda L. I. H. 2014. Evaluación de diferentes extractos vegetales contra el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 40: 67-73.

- Celis, A., Mendoza F. C., y Pachón M. E. 2009. Revisión: Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. *Temas Agrarios*. 14: 5-16.
- Cermeli, M., Morales P., and Godoy F. 2000. Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. *Bol. Entomol. Venezol.* 15: 235-243.
- Cerón-González, C., Lomeli-Flores J. R., Rodríguez-Leyva E., y Torres-Ruiz A. 2014. Fecundidad y alimentación de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido de la papa *Bactericera cockerelli*. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(5): 893-899.
- Céspedes, C. I., Avila J. G., Martínez A., Serrato B., Calderón-Mugica J. C., and Salgado-Garciglia R. 2006. Antifungal and antibacterial activities of mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *J. Agric. Food Chem.* 54: 3521-3527.
- Chang, K. S. and Ahn Y. T. 2001. Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. *Pest Manag. Sci.* 58: 161-166.
- Charleston, D. S., Kfir R., Dicke M., and Vet L. E. M. 2005. Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species on the diamondback moth. *Biol. Control.* 33: 131-145.
- Charleston, D. S., Kfir R., Dicke M., and Vet L. E. M. 2006. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. *Biol. Control.* 39: 105-114.
- Chaskopoulou, A., Pereira R. M., Scharf M. E., and Koehler P. G. 2009. Vapor toxicity of three prototype volatile insecticidal compounds to house fly (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.* 46(6): 1400-1406.
- Chen, X., and Stansly P. A. 2014. Biology of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of the citrus greening disease vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea): A mini review. *Fla. Entomol.* 97(4): 1404-1413.
- Cheng, S., Liu J., Tsai K., Chen W., and Chang S. 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4395-4400.
- Chiasson, H., Bostanian N. J., and Vincent C. 2004. Acaricidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. *J. Econ. Entomol.* 97: 1373-1377.
- Chien, C. C., Chu Y. I., and Ku H. C. 1991. Parasitic strategy, morphology and life history of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Chin. J. Entomol.* 11: 264-281.
- Childers, C. C., Simms M. K., and Threlkeld D. K. 2002. Evaluation of insecticides for control of Asian citrus psylla (ACP) on Florida citrus, 2001. *Arthropod Manag. Tests*, 27: D2.
- Chirino, M., Carriac M., y Ferrero A. A. 2001. Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) sobre larvas neonatas de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Bol. San. Veg. Plag.* 27: 305-314.
- Cloyd, R. A., and Bethke J. A. 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. *Pest Manag. Sci.* 67: 3-9.
- Ciccio, J. F. 2004. A source of almost pure methyl chavicol: volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52(4): 853-857.
- Cobelo, L. 2005. Un citrus sin intrusos. Ed. Limusa. D.F. México. 124p.
- Cocco, A., and Hoy M. A. 2008. Toxicity of organosilicone adjuvants and selected pesticides to the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fla. Entomol.* 91(4): 610-620.
- Conti, B., Canale A., Bertorli A., Gozzini F., and Piselli L. 2010. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 107(6): 1455-1461.

- Coronado, B. M. J., Ruíz-Cancino E., Myartseva S. N., y Gaona-García G. 2003. *Tamarixia* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático de los cítricos en Tamaulipas, México. Pp. 71-73. In: Memorias del XXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Guadalajara, Jalisco, México.
- Cortez, M. E., López-Arroyo J. I, Hernández F. L. M., Fú C. A., y Loera G. J. 2010. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces, en México. Selección de insecticidas y época de aplicación. Folleto técnico No. 35. INIFAP-SAGARPA. 22p.
- Cortez, M. E., Pérez M. J., Melania M. H., y González V. M. 2012. Control de *Diaphorina citri* en cítricos. Folleto técnico. Colección Tecnologías para el productor. Fundación produce, Sinaloa A. C. y Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 23p.
- Croft, B. A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. A Wiley-Interscience publication. USA. 722p.
- Cubillo, D., Sanabria G., y Hilje L. 1999. Evaluación de repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. Man. Int. Plagas. 53: 65-72.
- Curti-Díaz, S. A., Loredó-Salazar X., Díaz-Zorrilla U., Sandoval R. J. A., y Hernández H. J. 2000. Tecnología para producir limón persa. INIFAP-CIRGOC. Campo Experimental Ixtacuaco. Libro Técnico Núm. 8. Veracruz, México. 144p.
- Da Ponte, J. J. 1992. Extracto líquido das raíces de mandioca como defensivo agrícola. Fitop. Venezol. 15: 44-50.
- Damjanovic, B., Lepojevic Z., Zivkovic V., and Tolic, A. 2005. Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO<sub>2</sub>: comparison with hydrodistillation. Food Chem. 92: 143-149.
- Davison, N., Dibble J., Flint M., Marer P., and Guye A. 1991. Managing insects and mites with sprays oils. University of California. USA. 47 p.
- De Feo, V., Urrunaga S. E., Urrunaga S. R., and Pizza C. 2005. Composition and in vitro toxicity of the essential oil of *Tagetes terniflora* HBK. (Asteraceae). Flavour Fragr. J. 20: 89-92.
- Derwich, E., Benziane Z., Chabir R., and Taouil R. 2011. *In vitro* antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 3(3): 89-95.
- Descamps, L. R., Stefanazzi N., Sánchez-Chopa C., y Ferrero A. A. 2008. Actividad biológica de extractos vegetales de *Schinus molle* var. areira (Anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* Herbst. (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae), plaga de grano almacenado. Bol. San. Veg. Plag. 34: 595-606.
- Deveci, O., Sukan A., Tuzun N., and Hames K. E. E. 2010. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. J. Med. Plant. Res. 4(21): 2211-2216.
- Díaz, Z. U. A. 2009. Estudio de evaluación de efectividad biológica de Actara®, para controlar diaforina (*Diaphorina citri*) en limón Persa (*Citrus latifolia* Tan.) INIFAP-Campo Experimental Ixtacuaco. Tlapacoyan, Ver. Pp. 73
- Díaz-Cedillo, F., Serrato-Cruz M. A., De la Cruz-Marcial J., Sánchez A. M. G., y López-Cruz V. 2013. Compuestos mayoritarios del aceite esencial de órganos de una población de *Tagetes coronopifolia* Willd. Rev. Fitotec. Mex. 36: 405-411.
- Díaz-Maroto, M. C., Díaz-Maroto I. J., Sánchez-Palomo E., and Pérez-Coello M. S. 2005. Volatile components and key odorants of fennel (*F. vulgare* Mill.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. J. Agric. Food Chem. 53: 5385-5389.

- Dixon, R. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*. 411(6839): 843-847.
- Douiri, L. F., Boughdad A., Alaoui M. H., and Moumni M. 2014. Biological activity of *Rosmarinus officinalis* essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera, Bruchinae). *J. Biol. Agric. Health*. 4(2): 5-14.
- Dover, J. W. 1985. The responses of some Lepidoptera to labiate herb and white clover extracts. *Entomol. Exp. Appl.* 39: 177-182.
- Ebadollahi, A. 2013. Plant essential oils from Apiaceae family as alternatives to conventional insecticides. *Ecol. Balk.* 5: 149-172.
- Eguaras, M. J., Fuselli S., Gende L., Fritz R., Ruffinengo S. R., Clemente G., González A., Bailac P. N., and Ponzi M. I. 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*. *J. Essent. Oil Res.* 17: 336-340.
- Espinal, G. C. F. 2005. Documento de trabajo No. 66: La cadena de cítricos en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia. 56p. Disponible: [http://www.agronet.gov.co/www/docs\\_agronet/2005112155430\\_caracterizacion\\_citrico\\_s.pdf](http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2005112155430_caracterizacion_citrico_s.pdf) (Consultado el 20 de enero, 2015).
- Evrong, M. 2003. Control natural e insecticidas de cuarta generación (En línea). Disponible en <http://www.herbociencia.com.ar> (Consultado el 01 de julio de 2015).
- Fang, F., Qi M., Li T., Shao Q., and Fu R. 2006. Headspace solvent microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile compounds from *Foeniculum vulgare* Mill. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41: 791-797.
- FAO. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org) (Consultado el 20 de enero de 2015)
- Fauvergue, X., and Quilici S. 1991. Studies on the biology of *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), primary ectoparasitoid of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera, Psyllidae), Asian vector of citrus greening disease. *Fruits*. 46: 179-183.
- Feeny, P. 1992. The evolution of chemical ecology: Contributions from the study of herbivorous insects. Pp. 1-35. *In*: Rosenthal, G. A.; Berenbaum, M. R. (eds.). *Herbivores. Their interaction with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press, New York. 493p.
- Ferrero, A. A., Werdin G. J. O., and Sánchez C. C. 2006. Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia*. 77: 381-383.
- Ferrero, A. A., Sánchez C. C., Werdin G. J. O., and Alzogaray R. A. 2007. Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*. *Fitoterapia*. 78: 311-314.
- Fettig, C. J., McKelvey S. R., Dabney C. P., Huber P. W., Lait C. G., Fowler D. L., and Borden J. H. 2012. Efficacy of “Verbenone Plus” for protecting ponderosa pine trees and stands from *Dendroctonus brevicomis* (Coleoptera: Curculionidae) attack in British Columbia and California. *J. Econ. Entomol.* 105: 1668-1680.
- Fontes-Puebla, A. A., Fu-Castillo A. A., y López-Arroyo J. I. 2012. Eficacia de productos orgánicos foliares para el control de ninfas y adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *BIOtecnia*. 14(2): 26-31.
- Gachkar, L., Yadegari D., Bagher Rezaei M., Taghizadeh M., Alipoor Astaneh S., and Rasooli I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.* 102: 898-904.
- García, M. V. H. 2013. Susceptibilidad de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) a insecticidas en Veracruz, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 41p.

- García, V. F. 2003. Compatibilidad de los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* y *Bauveria bassiana* con el parasitoide *Encarsia formosa*, en el control de la mosquita blanca *Trialetrodes vaporariorum*. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco. 95p.
- García-Jiménez, N., Pérez-Alonso M. J., and Velasco-Negueruela A. 2000. Chemical composition of fennel oil *Foeniculum vulgare* Miller, from Spain. J. Essent. Oil Res. 12: 159-162.
- Genena, A. K., Hense H., Smânia Jr. A., and De Souza S. M. 2008. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*)- a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. Ciênc. Tecnol. Aliment. 28(2): 463-469.
- Gillette, N. E., Erbilgin N., Webster J. N., Pederson L., Mori S. R., Stein J. D., Owen D. R., Bischel K. M., and Wood D. L. 2009. Aerially applied verbenone-releasing laminated flakes protect *Pinus contorta* stands from attack by *Dendroctonus ponderosae* in California and Idaho. Forest Ecol. Manag. 257(5): 1405-1412.
- Gómez, P., Cubillo G. D., Mora A., y Hilje L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: II. Extractos vegetales. Man. Int. Plagas. (Costa Rica). 46: 17-25.
- González, C., Hernández D., Cabrera I. R., y Tapia J. R. 2002. *Diaphorina citri* Kuw., inventario y comportamiento de los enemigos naturales en la citricultura cubana. Taller sobre plagas emergentes de los cítricos. Resúmenes de las sesiones orales. Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales. La Habana. Cuba. 10p.
- González, G. J. G., Vázquez G. M., Ruiz L. M. A., y Vázquez G. J. A. 2011. El género *Salvia* y sus aceites esenciales. Pp. 193-200. En: Rodríguez-Hernández C., López-Olguín J. F., y Aragón-García A. (Eds.). Alternativas ecológicas contra plagas. Agricultura Sostenible 7. Colegio de Postgraduados y Benemérita Universidad de Puebla. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- González-Ferrara, M. 1998. Plantas Medicinales del Noreste de México. 1st ed.. Grupo Vitro: Monterrey N.L., México. Volumen 1. 123p.
- González-Hernández, A., Arredondo-Bernal H. C., Robles-González M., Martínez-Carrillo J. L., Pérez J., y López-Arroyo J. I. 2009. Determinación de especies de parasitoides del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en México. Entomol. Mex. 8: 373-377.
- Gottwald, T. R. 2010. Current epidemiological understanding of citrus Huanglongbing. Annu. Rev. Phytopathol. 48: 119-139.
- Greathead, H. 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proc. Nutr. Soc. 62: 279-290.
- Gutiérrez, M. M., Stefanazzi N., Werdin G. J., Benzi V., y Ferrero A. A. 2009. Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) sobre adultos de *Pediculus humanus capitis* (Insecta; Anaplura; Pediculidae). Bol. Latinoam. Caribe Plant Med. Aromat. 8(2): 176-179.
- Halbert, S. E., and Manjunath K. L. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Fla. Entomol. 87: 330-353.
- Halbert, S.E., and Nuñez C. A 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. Fla. Entomol. 87: 401-402.
- Hall, D. G., Gottwald T. R., Chau N. M., Ichinose K., Dien L. Q., Beattie G. A. C. 2008a. Greenhouse investigations on the effect of guava on infestations of Asian citrus psyllid in citrus. Fla. State Hort. Soc. 121: 104-109

- Hall, D. G., Hentz M. G., and Adair R. C. Jr. 2008b. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environ. Entomol.* 37: 914-924.
- Hall, D. G., and Nguyen R. 2010. Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. *Bio Cont.* 55(5): 601-611.
- Hall, D. G., Richardson M. L., Ammar E. D., and Halbert S. E. 2012. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus Huanglongbing disease. *Entomol. Exp. Appl.* 146: 207-223.
- He, W., and Huang B. 2011. A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *J. Med. Plants Res.* 5: 3595-3600.
- Hernández, T., Canales M., Flores C., García A. M., Durán A., and Avila J. G. 2006. Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. *Pharm. Biol.* 44: 19-22.
- Heywood, V. H. 1993. *Flowering Plants of the World*. Update Oxford University Press, New York. Pp. 197-198.
- Hodgson, E., and Kuhr R. J. 1990. A brief history of insecticides. Research perspectives. *North Carolina State Univ. USA.* 8: 89.
- Hori, M. 1998. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a screenhouse. *J. Chem. Ecol.* 24: 1425-1432.
- Huerta, A., Chiffelle I., Puga K., Azúa F., and Araya J. E. 2010. Toxicity and repellence of aqueous and ethanolic extracts from *Schinus molle* on elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola*. *Crop Protec.* 29: 1118-1123.
- Husain, M. A., and Nath D. 1923. The Life-history of *Tetrastichus radiatus* parasitic on *Euphalerm citri*, Euw.; and its Hyperparasite. Pp. 122-128 *In: Rep. Proc. 5th Entomol. Mtg. Pusa.*
- Iannacone, J., y Alvaríño L. 2010. Toxicidad de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) a cuatro controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú. *Acta Zool. Mex.* 26(3): 603-615.
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Isman, M. B., Wilson J. A., and Bradbury R. 2008. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni* in relation to their chemical compositions. *Pharm. Biol.* 46: 82-87.
- JiSen, H., and ErrLieh H. 2005. The repellent effect of several repellent plants on the mosquito and house fly. *Formos. Entomol.* 25: 221-230.
- Katole, S. R., Thakare H. S., and Mahajan R. K. 1993. Effects of some plant products and insecticides on the infestation of citrus leaf miner on Nagpur mandarin. *J. Maharashtra Agric. Univ.* 18: 67-68.
- Ketoh, G. K., Glitho A. I., and Huignard J. 2002. Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. *J. Econ. Entomol.* 95: 174-182.
- Khan, I., Zahid M., and Khan G. Z. 2012. Toxicity of botanic and synthetic pesticide residues to Citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama and *Chysoperla carnea* (Stephens). *Pakistan J. Zool.* 44: 197-201.
- Kim, D. H., and Ahn Y. J. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Manag. Sci.* 57: 301-306.

- Kim, S. I., Park C., Ohh M. H., Cho H. C., and Ahn Y. J. 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *J. Stored Prod. Res.* 39: 11-19.
- Klemm, U., and Schmutterer H. 1993. Effects of neem preparations on *Plutella xylostella* L. and its natural enemies of the genus *Trichogramma*. *J. Plant Dis. Prot.* 100: 113-128.
- Koul, O., Singh G., Singh R., and Singh J. 2007. Mortality and reproductive performance of *Tribolium castaneum* exposed to anethole vapours at high temperature. *Biopestic. Int.* 3: 126-137.
- Koul, O., Walia S., and Dhaliwal G. S. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int.* 4: 63-84.
- Krishna, A., Mallavarapu G. R., Kumar S., and Ramesh S. 2002. Volatile oil constituents of the capitula, leaves and shoots of *Tagetes patula* L. *J. Essent. Oil Res.* 14(6): 433-436.
- Kwon, Y. S., Choi W. G., Kim W. J., Kim W. K., Kim M. J., Kang W. H., and Kim C. M. 2002. Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. *Arch. Pharm. Res.* 25(2): 154-157.
- Laborda, R., Manzano I., Gamón M., Gavidia I., Pérez-Bermúdez P., and Boluda R. 2013. Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crops Prod.* 48: 106-110.
- Larew, H. G., and Locke J. C. 1990. Repellency and toxicity of a horticultural oil against whiteflies on chrysanthemum. *HortScience.* 25: 1406-1407.
- Lawrence, B. M. 1992. Chemical components of Labiate oils and their exploitation. Pp. 399-436. *In: Advances in Labiate Science*, ed. Royal Botanic Gardens KEW, Whitstable.
- Lee, B. H., Choi W., Lee S., and Park B. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Prot.* 20: 317-320.
- Lee, B. H., Lee S. E., Annis P. C., Pratt S. J., Park B. S., and Tumaalii F. 2002. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Asia Pac. Entomol.* 5: 237-240.
- Lee, H. S. 2004. Acaricidal activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit oil against *dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae). *J. Agric. Food Chem.* 52(10): 2887-2889.
- Lee, S., Tsao R., Peterson C., and Coats J. R. 1997. Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn root worm (Coleoptera: Chrysomelidae), two spotted spidermite (Acari: Tetranychidae) and Housefly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 883-892.
- Lim, W. H., Shamsudin O. M., and Ko W. W. 1990. Citrus greening disease in Malaysia. Pp: 100-105. *In: Aubert B., Tontyaporn S., and Buangsuwon D. (eds.). Rehabilitation of citrus industry in the Asia Pacific region. Proceeding Asia Pacific International Conference on Citriculture.* Chiang Mai, Thailand. UNDP-FAO, Rome, Italy.
- Lin, H., Kogan M., and Fischer D. 1990. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. *Environ. Entomol.* 19: 1852-1857.
- Lira, A. C. S., Zanardi O. Z., Beloti V. H., Yamamoto P. T., Parra J. R. P., and Carvalho G. A. 2014. Physiological selectivity of pesticides used in citrus culture on parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae). *J. Citrus Pathol.* 1: 161.
- López, L. M. T. 2008. El romero, planta aromática con efectos antioxidantes. *Fitoterapia.* 27(7): 60-63.
- López, S. B., López M. L., Aragón L. M., Tereschuk M. L., Slanis A. C., Feresin G. E., Zygadlo J. A., and Tapia A. A. 2011. Composition and anti-insect activity of essential

- oils from *Tagetes* L. species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. J. Agric. Food Chem. 59: 5286-5292.
- López, A., Castro S., Andina M. J., Ures X., Munguía B., Llabot J. M., Elder H., Dellacassa E., Palma S., and Domínguez L. 2014. Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil. Ind. Crops Prod. 53: 209-216.
- López-Arroyo, J. I., Jasso J., Reyes M. A., Loera-Gallardo J., Cortez-Mondaca E., and Miranda M. A. 2008. Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Mexico. Pp. 289. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. Orlando, Florida.
- López-Arroyo, J.I., Peña M.A., Rocha-Peña M.A., and Loera J. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). Pp. C68. In: Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México.
- López-Collado, J., López-Arroyo J. I., Robles-García P. L., and Márquez-Santos M. 2013. Geographic distribution of habitat, development, and population growth rates of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* in Mexico. J. Insect Sci. 13(114): 1-17
- Luna-Cruz, A., Lomeli-Flores R., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas L. D., y Huerta-de la Peña A. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). Acta Zool. Mex. 27(3): 509-526.
- Luna-Cruz, A., Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., Ortega-Arenas L. D., Bautista-Martínez N., and Pineda S. 2015. Toxicity and residual activity of insecticides against *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). J. Econ. Entomol. 1-7. DOI: 10.1093/jee/tov206. En prensa.
- Machado, D., Kaster M., Binfaré R., Dias M., Santos A., Mizzolatti M., Brighente I., and Rodrigues A. 2007. Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. Prog. Neuropsychoph. Biol. Psychiatry. 31: 421-428.
- Mann, R. S., Rouseff R. L., Smoot J. M., Castle W. S., and Stelinski L. L. 2011. Sulfur volatiles from *Allium* spp. affect Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), response to citrus volatiles. Bolletín Entomol. Res. 101: 89-97.
- Mann, R. S., Tiwari S., Smoot J. M., Rouseff L. R., and Stelinski L. L. 2012. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). J. Appl. Entomol. 136: 1-10.
- Mansaray, M. 2000. Herbal remedies - food or medicines? Chem. Ind. 20: 677- 678.
- Marotti, M., Piccaglia R., Biavati B., and Marotti I. 2004. Characterization and yield evaluation of essential oils from different *Tagetes* species. J. Essent. Oil Res. 16: 440-444.
- Martins, M. R., Arantes S., Candeias F., Tinoco M. T., and Cruz-Morais J. 2014. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. J. Ethnopharmacol. 151: 485-492.
- Mazyad, S. A., and Soliman M. 2001. Laboratory evaluation of the insecticidal activity of camphor on the development of *Oestrus ovis* larvae. J. Egypt. Soc. Parasitol. 31(3): 887-892.
- Medina, P., Budía F., Del Estal P., and Viñuela E. 2004. Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. J. Econ. Entomol. 97: 43-50.
- Mendoza-García, E. E., Ortega-Arenas L. D., Pérez-Pacheco R., and Rodríguez-Hernández C. 2014. Repellency, toxicity, and oviposition inhibition of vegetable extracts against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). Chil. J. Agr. Res. 74: 41-48.

- Michaud, J. P. 2002. Biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: a preliminary report. *Entomol. News* 113: 2169-2223.
- Michaud, J. P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in Central Florida. *Biol. Cont.* 29(2): 260-269.
- Mimica-Dukić, N., Kujundžić S., Soković M., and Couladis M. 2003. Essential oils composition and antifungal activity of *F. vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytother. Res.* 17(4): 368-371.
- Miresmailli, S., and Isman M. B. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. *J. Econ. Entomol.* 99: 2015-2023.
- Moawad, S., and Ebadah I. 2007. Impact of some natural plant oil on some biological aspects of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Res. J. Agr. Biol. Sci.* 3(2): 119-123.
- Moghtader, M. 2013. Comparative survey on the essential oil composition from the seeds and flowers of *Foeniculum vulgare* Mill. from Kerman province. *J. Hortic. For.* 5(3): 37-40.
- Molina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Man. Int. Plagas (Costa Rica)*. 50: 56-57.
- Molina-Garza, Z. J., Bazaldúa-Rodríguez A. F., Quintanilla-Licea R., and Galaviz-Silva L. 2014. Anti-*Triponasoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. *Acta Tropical*. 136: 14-18.
- Montes de Oca, R. G. 2010. Elaboración y control de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Artemisia absinthium* L), romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) para combatir la menstruación dolorosa. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Mora, V. F. D., Rojas L. B., Usubillaga A., Carmona J., y Silva B. 2009. Composición química del aceite esencia de *Myrcianthes fragrans* (Sw.) Mc Vaught de los Andes venezolanos. *Rev. Fac. Farm.* 51: 20-23.
- Mulla, M. S., and Su T. 1999. Activity of biological effects of neem products against arthropods medical and veterinary importance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 15: 133-152.
- Napoli, E. M., Curcuruto G., and Ruberto G. 2010. Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. *Biochem. Syst. Ecol.* 38: 213-223.
- Negi, P. S. 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int. J. Food Microbiol.* 156: 7-17.
- Neher, R. T. 1968. The entobotany of *Tagetes*. *Econ. Bot.* 22: 317-325.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel J., and Stashenko E. E. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *J. Stored Prod. Res.* 45: 212-214.
- Nivsarkar, M., Cheruan B., and Padh H. 2001. Alpha-terthienyl: A plant-derived new generation insecticide. *Current Sci.* 81: 667-672.
- Ohnmeiss, T. E., and Baldwin I. T. 2000. Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. *Ecology.* 81: 1765-1783.
- Oka, Y., Nacar S., and Putievsky E. 2000. Nematicidal activity of essentials oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathol.* 90(7): 710-715.
- Okoh, O. O., Sadimenko A. P., and Afolayan A. J. 2010. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem.* 120: 308-312.

- Olivero-Verbel, J., Tirado-Ballestas I., Caballero-Gallardo K., and Stashenko E. E. 2013. Essential oils applied to the food act as repellents toward *Tribolium castaneum*. J. Stored Prod. Res. 55: 145-147.
- Oluwatuyi, M., Kaatz W., and Gibbons S. 1994. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. Phytochem. 65(5): 3249-3254.
- Onagbola, E. O., Boina D. R., Hermann S. L., and Stelinsky L. L. 2009. Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Ann. Entomol. Soc. America. 102: 523-531.
- Orozco, S. M., Ibarra-Zurita A. K., Gutierrez-Monrroy I. Z. Velázquez-Monreal J. J., Manzilla-Ramírez M. A., Robles-González M. M., Cortes-Arroyo A. R., Olivares-Soto H. M., y Bermúdez-Guzmán M. de J. 2013. Efectos de aceites y extractos vegetales para el control del psílido asiático (*Diaphorina citri*) en limón Mexicano. IX Simposio Internacional cítrícola y 1er Simposio Internacional sobre HLB en Cítricos ácidos. Tecomán Colima, México. 29 de octubre al 1 de noviembre de 2013.
- Orozco-Santos, M., Robles-González M. M., Velázquez-Monreal J. J., Manzanilla-Ramírez M. A., Bermúdez-Guzmán M. J., Carrillo-Medrano S. H., Medina-Urrutia V. M., Hernández-Fuentes L. M., Gómez- Jaime R., Manso-Sánchez G., Farias-Larios J., Nieto-Ángel D., Mijangos-Hernández E., Sánchez- de la Torre J. A., y Varela-Fuentes S (Eds.). 2014. El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). Libro Técnico Núm. 1. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 449p.
- Ortega, A. L. D. 2008. Manejo integrado de moscas blancas. Pp. 113-120. En: S. Infante G. (ed.). Moscas blancas temas selectos sobre su manejo. 1ª. Edición. Colegio de Postgraduados. Mundi prensa. México, D.F.
- Osman, M. S., and Quilici S. 1991. Trapping studies of citrus greening vector, *Diaphorina citri* Kuway, natural enemies and alternate hosts in Malaysia. Proceedings of 6th International Asia Pacific Workshop on Integrated Citrus Health Management, Jun. 24-30. Kuala Lumpur, Malaysia. Pp: 118-127.
- Ottaway, P. B. 2001. The roots of a healthy diet? Chem. Ind. 22: 42-44.
- Ozcan, M., and Chalchat J. 2008. Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) oil from Turkey. Int. J. Food Sci. Nutrit. 59(7): 691-698.
- Padin, S., Ringuelet J. A., Bello D., Cerimele E. L., Re M. S., and Henning C. P. 2000. Toxicology and repellent activity of essential oils on *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* Herbst. J. Herbs. Spices Med. Plants. 7: 67-73.
- Papachristos, D. P., and Stamopoulos D. C. 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 38: 117-128.
- Payne, R., Murray D., Harding S., Baird D., and Soutar D. 2005. GenStat for Windows, eighth Edition. Introduction. VSN International, Hemel Hempstead.
- Peña-Carrillo, K. I., González-Hernández A., Lozano-Contreras M. G., Jasso-Argumedo J., y López-Arroyo J. I. 2014. Parasitoides de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y caracterización de haplotipos de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en Yucatán, México. Vedia. 15: 16-24.
- Pérez-Amador, M. C., García-Jiménez F., Herrera J. J., González L. P., and Márquez-Alonso L. 1994. Essential oils, anthocyanins and phototoxic compounds in two species of *Tagetes* (Asteraceae). Rev. Int. Bot. Exp. Phytol. 56: 143-146.
- Perry, N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., McGimpsey J. A., and Smallfield B. M. 1999. Essential oil from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. J. Agric. Food Chem. 47: 2048-2054.

- Poli, F., Sacchetti G., and Bruni A. 1995. Distribution of internal secretory structures in *Tagetes patula* (Asteraceae). *Nordic J. Bot.* 15(2): 197-205.
- Powell, W., Wilding N., Brobyn P. J., and Clark S. J. 1986. Interference between parasitoids (Hym, Aphididae) and fungi (Entomophthorales) attacking cereal aphids. *Entomoph.* 31: 293-302.
- Pozzatti, P., Alves S. L., Borba S. T, Linde A. M, Morais S. J, and Hartz A. S. 2008. In vitro activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. *Can. J. Microbiol.* 54(11): 950-956.
- Prabhaker, N., Castle S. J., Byrne F. J., Henneberry T. J., and Toscano N. C. 2006. Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata* Say (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *J. Econ. Entomol.* 99: 141-154.
- Quiñones, L. S. 2012. Evaluación de campo del sulfoxaflor, un nuevo insecticida contra el Psílido Asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón mexicano. 2° Simposio nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Montecillo, México.
- Qureshi, J. A., Rogers M. E., Hall D. G., and Stansly P. A. 2009. Incidence of invasive *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and its introduced parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Florida citrus. *J. Econ. Entomol.* 102: 247-256.
- Rae, D. J., Liang W.G., Watson D. M., Beattie G. A., and Huang M. D. 1997. Evaluation of petroleum spray oils for control of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae), in China. *Int. J. Pest Manag.* 43: 71-75.
- Rahimmalek, M., Maghsoudi H., Sabzalian M. R., and Pirbalouti A. G. 2014. Variability of essential oil content and composition of different Iranian fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions in relation to some morphological and climatic factors. *J. Agr. Sci. Tech.* 16: 1365-1374.
- Ramírez, D. A. M., Robles G. P.L., y Reyes G. B. 2000. Memoria de la Segunda Reunión Nacional de la Campaña Contra el VTC. Veracruz, Ver. México. Pp: 111-123.
- Ramírez, J. E., Gómez J. M. I, Cortés J. M., y Núñez C. E. 2010. Efecto insecticida de los aceites esenciales de algunas lamiáceas sobre *Tecia solanivora* Povolny en condiciones de laboratorio. *Agron. Col.* 28(2): 255-263.
- Ray, D. P., Walia S., Dureja P., and Singh R. P. 2000. Composition and repellent activity of the essential oil of marigold (*Tagetes erecta*) flower. *Ind. Perf.* 44: 267-270.
- Regalado, E. L., Fernández M. D., Pino J. A., Mendiola J., and Echemendia O. A. 2011. Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. From Cuba. *J. Essent. Oil Res.* 23: 63-67.
- Rehman, A., and Powell W. 2010. Host selection behavior of aphid parasitoids (Aphidiidae: Hymenoptera). *J. Plant Breed. Crop Sci.* 2(10): 299-311.
- Rice, P. J., and Coats J. R. 1994. Insecticidal properties of several monoterpenoids to the housefly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and southern corn root-worm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 1172-1179.
- Rivero-Aragon, A., and Grillo-Ravelo H. 2000. Natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in the central region of Cuba. *Centro-Agrícola* 27: 87-88.
- Robles, G. P. L. 2010. Protocolo de actuación ante la emergencia por la detección del Huanglongbing. Dirección de Protección Fitosanitaria. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 27p.
- Robles, G. P. L. 2012. Protocolo para establecer áreas regionales de control del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos (ARCOs). Dirección de Protección Fitosanitaria. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 60p.

- Robles, G. P. L., y Delgadillo V. I. 2010. Protocolo de actuación para la detección del Huanglongbing. Dirección de Protección Fitosanitaria. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 38p.
- Robles-González, M. M., Orozco-Santos M., Manzanilla-Ramírez M. A., y Medina-Urrutia V. M. 2014. Capítulo 1. Importancia del cultivo de Limón Mexicano. Pp. 1-18. *In*: Orozco-Santos, M., Robles-González M. M., Velázquez-Monreal J. J., Manzanilla-Ramírez M. A., Bermúdez-Guzmán M. J., Carrillo-Medrano S. H., Medina-Urrutia V. M., Hernández-Fuentes L. M., Gómez- Jaime R., Manso-Sánchez G., Farias-Larios J., Nieto-Ángel D., Mijangos-Hernández E., Sánchez- de la Torre J. A., y Varela-Fuentes S (Eds.). El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). Libro Técnico Núm. 1. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 449p.
- Rodríguez, H. C. 2006. Plantas contra plagas I. Potencial práctico de ajo, nim, chile y tabaco. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México. Colegio de Postgraduados. 133p.
- Rodríguez, H. C., Silva A. G., Vendramim y J. D. 2003. Insecticidas de origen vegetal. Pp. 87-111. *In*: Silva, A. G. y R. Hepp G. (eds). Capítulo 5: Bases para el manejo racional de insecticidas. Trama Impresores. Chillán, República de Chile.
- Roel, A. R., Vendramim J. D., Frighetto S. T. R., e Frighetto N. 2000. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* (Swartz) (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). An. Soc. Entomol. Bras. 29: 799-808.
- Rojht, H., Meško A., Vidrih M., and Trdan S. 2009. Insecticidal activity of four different substances against larvae and adults of sycamore lace bug (*Corythucha ciliata* [Say], Heteroptera, Tingidae). Acta Agriculturae Slovenica. 93: 31-36.
- Romagnoli, C., Bruni R., Andreotti E., Rai M. K., Viventi C. B., and Mares D. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. Protoplasma 225: 57-65.
- Romeu, C. R., Botta F. E., y Díaz F. Y. 2007. Caracterización química del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y evaluación in vitro de su actividad acaricida. Fitosanidad. 11 (2): 75-78.
- Rosenheim, J. A., Kala H. K., Ehler L. E., Marois J. J., and Jaffe B. A. 1995. Intraguild predation among biological-control agents: Theory and evidence. Biol. Cont. 5: 303-335.
- Rouseff, R. L., Onagbola E. O., Smoot J. M., and Stelinski L. L. 2008. Sulfur volatiles in guava (*Psidium guajava* L.) leaves: possible defense mechanism. J. Agric. Food Chem. 56: 8905-8910.
- Rozman, T., and Jersek B. 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of Listeria. Acta Agric. Slovenia. 93: 51-58.
- Ruberson, J. R., Nemoto H., and Hirose Y. 1998. Pesticides and conservation of natural enemies in pest management. Pp. 207-220. *In*: Barbosa P. (ed.). Conservation biological control. Academic Press, New York.
- Ruffinengo, S. R., Eguaras M., Floris I., Faverin C., Bailac P., and Ponzi M. 2005. LD<sub>50</sub> and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. J. Econ. Entomol. 98: 651-655.
- Ruíz, C. E., Coronado B. J. M., and Myartseva S. N. 2004. The Asian citrus psyllid in Mexico. 52nd Annual meeting of the Entomological Society of America. Salt Lake City, UT.
- Ruíz-Galván, I., Bautista-Martínez N., Sánchez-Arroyo H., y Valenzuela E. F. A. 2015. Control químico de *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Liviidae) en lima persa. Acta Zool. Mex. (n.s). 31: 41-47.

- Saavedra, N., Cosme V. W., Viturro C., Molina A., y Molina S. G. 2002. Ensayo piloto de extracción de volátiles de *Tagetes terniflora* H.B.K. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA. Universidad Nacional de Catamarca, Catamarca, Argentina.
- Saeidi, M., and Moharrampour S. 2013. Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*, *Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*. J. Crop Prot. 2: 23-31.
- Sahayaraj, K., Namasivayam S. K. R., and Rathi J. M. 2011. Compatibility of entomopathogenic fungi with extracts of plants and commercial botanicals. Afr. J. Biotechnol. 10(6): 933-938.
- Salcedo, B. D., Hinojosa R., Mora A. G., Covarrubias G. I, DePaolis F., Cíntora G. C., y Mora F. S. 2010. Evaluación del impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola Mexicana. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). México, D. F. 141p.
- Sánchez, Ch. C., and Descamps L. R. 2012. Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. Pest Manag. Sci. 68: 1492-1500.
- Sánchez-González, J. A., Moreno-Carrillo G., González-Cabrera J., y Arredondo-Bernal H. C. 2012. Parasitismo de *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en áreas urbanas de la zona citrícola del estado de Colima. 3° Simposio Nacional sobre Investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp: 311-315.
- Sandoval-Reyes, F., Arriaga-Gaona M. L., Hernández-Limón L., Hernández-Romero I., y Guzmán-González F. I. 2013. Actividad biológica en campo del extracto etanólico de *Melia azedarach*, *Psidium guajava*, *Datura stramonium*, *Piper auritum* y *Azadirachta indica* a juss sobre la *Diaphorina citri*. Rev. Latino. Rec. Nat. 9: 22-29.
- Sandoval-Rincón, J. A., Curti-Díaz S. A., Díaz-Zorrilla U. A., Medina-Urrutia V. M., y Robles-González M. M. 2010. Alternativas para el manejo del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama). Pp: 54-173. En: VI Simposio Internacional Citrícola y 1er. Simposio Internacional sobre Mejoramiento Genético de Cítricos. Tecomán, Colima, México.
- Santoyo, S., Cavero S., Jaime L., Ibáñez E., Senorans F. J., and Reglero G. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. J. Food Protect. 68(4): 790-795.
- SAS, Institute. 1999. The SAS System for Windows v.9. SAS Institute. Carry, N.C.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. J. Appl. Ent. 121: 121-128.
- Sedaghat, M. M., Dehkordi A. S., Abai M., Khanavi M., Mohtarami F., Abadi Y. S., Rafi F., and Vatandoost H. 2011. Larvicidal activity of essential oils of Apiaceae plants against malaria vector, *Anopheles stephensi*. Iran J. Arthropod Borne Dis. 5: 51-59.
- Sefidkon, F., Salehyar S., Mirza M., and Dabiri M. 2004. The essential oil of *Tagetes erecta* L. occurring in Iran. Flavour Fragr. J. 19(6): 579-581.
- SENASICA. 2012. Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México. Disponible en línea: <http://www.senasica.gob.mx> (Consultado: 26 de enero de 2015).
- Serrato, C. M. A. 2010. Información documental sobre el taxa *Tagetes* para dimensionar su centro de origen y diversidad genética en México. Recopilación y análisis de la información existente de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 63p.
- Serrato, C. M. A., Barajas P. J. S., y Díaz C. F. 2007. Capítulo 18: Aceites esenciales del recurso genético *Tagetes* para el control de insectos, nematodos, ácaros y hongos. Pp.

- 186-197. In: López O. J. F., Aragón G. A., Rodríguez C. H. y Vázquez G. M. (eds.). Agricultura sostenible: Substancias naturales contra plagas. Vol.3. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible. Benemérita Universidad de Puebla. Colegio de Postgraduados.
- Serrato, C. M. A., y Quijano M. L. 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, Puebla), del Colegio de Postgraduados. México.
- Serrato, C. M. A., Díaz C. F., y Barajas P. J. S. 2008. Composición en el aceite esencial en germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la región centro-sur de México. Agrociencia. 42: 277-285.
- Serrato, C. M. A., Díaz C. F., Hernández M. D., and Curiel R. A. 2014. Two agronomical aspects of *Tagetes terniflora* HBK for essential oil production. J. Agr. Chem. Environ. 3: 9-13.
- Shaaya, E., Kostjukovski M., Eilberg J., and Sukprakarn C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 33: 7-15.
- Shaaya, E., Ravid U., Paster N., Juven B., Zisman U., and Pissarev V. 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. J. Chem. Ecol. 17: 499-504.
- SIAP. 2013. Producción agrícola: Cíclicos y perenes 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA, México. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> (Fecha de consulta: 26 de enero de 2015).
- Siddiqui, M. A., and Mashkoor A. M. 1988. Toxicity of different plant parts of *Tagetes lucida* to plant parasitic nematodes. Ind. J. Nematol. 18(2): 181-185.
- Sieburth, P. J., Schroeder W. J., and Mayer R. T. 1998. Effects of oil-surfactant combinations on silverleaf whitefly nymphs (Homoptera: Aleyroididae) on Collards. Fla. Entomol. 81: 446-450.
- Silva, G., Orrego O., Hepp R., y Tapia M. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. Pesq. Agropec. Bras. 40: 11-17.
- Simas, N. K., Lima E. C., Conceição S. R., Kuster R. M., and Oliveira Filho A. M. 2004. Natural products for dengue transmission control: larvicidal activity of *Myroxylon balsamum* (red oil) and of terpenoids and phenylpropanoids. Quím. Nova. 27: 46-49.
- Simmonds, M. S. J.; Evans H. C., and Blaney W. M. 1992. Pesticides for the year 2000: mycochemicals and botanicals. Pp. 127-164. In: Pest management and the environment in 2000. Malaysia, CAM International.
- Singh, G., Maurya S., de Lampasona M. P., and Catalan C. 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Cont. 17: 745-752.
- Singh R., Rup P. J., and Koul O. 2008. Bioefficacy of 1,8-cineole from *Eucalyptus camaldulensis* var. obtuse and linalool from *Luvanga scandans* against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and combination effects with some other monoterpenoids. Biopestic. Int. 4: 128-137.
- Skelley, L. H., and Hoy M. A. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. Biol. Control 29: 14-23.

- Slimane, B. B., Ezzine O., Dhahri S., and Ben Jamaa M. L. 2014. Essential oils from two Eucalyptus from Tunisia and their insecticidal action on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Biol. Res.* 47: 29.
- Slimane, B. B., Olfa E., Samir D., Hnia Ch., and Mohamed L. B. J. 2015. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula stoechas* essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera: Lymantriidae). *J. Coast. Life Med.* 3: 64-69.
- Smith, J. S., and Olson J. K. 1982. A portable chill table for immobilizing live mosquitoes. *Mosq. News* 42: 113-114.
- Smith, V. S., Zambrano D. F., Méndez-Sánchez S. C., Rodríguez-Sanabria F. R., Stashenko E. E., and Duque L. J. E. 2014. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 113: 2647-2654.
- Soule, J. A. 1996. Novel annual and perennial *Tagetes*. Pp: 546-551. *In: J. Janick (ed.). Progress in new crops.* ASHS Press, Arlington, Virginia.
- Stansly, P. A., and Qureshi J. A. 2007. Insecticidal control of Asian citrus psyllid through foliar applications on orange, 2006. *Arthropod Manage. Tests.* 32: D10.
- Stark, J., Wong T., Vargas R, and Thalman R. 1992. Survival and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadirachtin. *J. Econ. Entomol.* 4: 1125-1129.
- Stefanazzi, N., Gutiérrez M. M., Stadler T., Bonini N. A., y Ferrero A. A. 2006. Actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneum* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Biol. San. Veg. Plagas.* 32: 439-447.
- Stefanazzi, N., Stadler T., and Ferrero A. 2011. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pest *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Manag. Sci.* 67: 639-646.
- Sterk, G., Hassan S. A., Baillod M., Bakker F., Bigler F., Blümel S., Bogenschütz H., Boller E., Bromand B., Brun J., Calis J. N. M., Coremans-Pelseneer J., Duso C., Garido A., Grove A., Heimbach U., Hokkanen H., Jacas J., Lewis L., Moreth L., Polgar L., Rovesti L., Samsøe-Petersen L., Sauphanor B., Schaub L., Stäubli A., Tuset J. J., Vainio M., Van De Veire M., Viggiani G., Viñuela E., and Vogt H. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS working group "Pesticides and Beneficial Organisms". *Bio Cont.* 44: 99-117.
- Subandiyah, S., Nlkoh N., Sato H., Wagiman F., Tsyuymy S., and Fukatsu T. 2000. Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea) in Indonesia. *Mycoscience.* 41: 509-513.
- Sule, H., Muhamad R., Omar D; and Kah-Wei H. A. 2014. Parasitism rate, host stage preference and functional response of *Tamarixia radiata* on *Diaphorina citri*. *Int. J. Agric. Biol.* 16(4): 783-788.
- Swaminathan, R., Jat H., and Hussain T. 2010. Side effects of a few botanicals on the aphidophagous coccinellids. *J. Biopest.* 3: 081-084.
- Tanaka, T., and Minakuchi C. 2012. Insecticides and Parasitoids, Insecticides. Pp. 115- 140. *In: Perveen F. (Ed.). Advances in Integrated Pest Management.* China. ISBN: 978-953-307-780-2.
- Tang, Y. Q., Weathersbee III A. A., and Mayer R. T. 2002. Effect of neem seed extract on the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) and its parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Environ. Entomol.* 31: 172-176.

- Telci, I., Demirtas I., and Sahin A. 2009. Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. *Ind. Crops. Prod.* 30: 126-130.
- Tereschuk, M. L., Baigorí M. D., and Abdala L. R. 2003. Antibacterial activity of *Tagetes terniflora*. *Fitoterapia.* 74: 404-406.
- Thomas, D. B. 2002. Trip report: Status of the brown citrus aphid in the Mexican state of Campeche: April 2002. USDA-ARS. Kika de la Garza Subtropical Agriculture Research Center. Weslaco, Texas. 9 p.
- Tiwari, S., Mann R. S., Rogers M. E., and Stelinski L. L. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Manag. Sci.* 67: 1258-1268.
- Tiwari, S., Stelinski L. L., and Rogers M. E. 2012. Biochemical basis of organophosphate and carbamate resistance in Asian citrus psyllid. *J. Econ. Entomol.* 105: 540-548.
- Tomova, B. S., Waterhouse J. S., and Doberski J. 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomol. Exp. Appl.* 115: 153-159.
- Traboulsi, A. F., El-Haj S., Tueni M., Taoubi K., Nader N. A., and Mrad A. 2005. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.* 61: 597-604.
- Tremblay, E., Bélanger A., Brosseau M., and Boivin G. 2008. Toxicity and sublethal effects of an insecticidal soap on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Manag. Sci.* 64: 249-254.
- Trujillo, A. J., Sánchez A. M., y Robles G. P. 2008. Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México. 3p. *En: Memorias del I taller Internacional sobre el Huanglongbing de los cítricos (Candidatus Liberibacter spp) y el psílido asiático de los cítricos (Diaphorina citri)*. Hermosillo, Sonora, México.
- Tucker, A. O., and Maciarelo M. 1996. Volatile leaf oil of *Tagetes lemmonii* Gray. *J. Essent. Oil Res.* 8: 417-418.
- Turner, B. L. 1996. Chapter 6: The comps of México-A systematic account of the family Asteraceae. Pp. 1-93. *In: Adams R. P., and Turner B. L. (eds.). Tageteae and Anthemideae. Volume 10. Phytologia Memoirs. Texas.* 93p.
- Vaccaro, N., and Bouvet J. 2006. Registro de un enemigo natural de la chicharrita de los cítricos en Entre Ríos, Argentina. *Boletín de la IOBCSRNT.* 15: 13.
- Van Lenteren, J. C., and Noldus P. J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioral and ecological aspects. Pp. 47-80. *In: D. Gerling (ed). Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management.* Intercept. Great Britain.
- Verdeguer, S. M. 2011. Fitotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas para el control de arvenses. Tesis doctoral. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Universitat Politècnica de València, España. 204p.
- Verma, R. S., Rahman L., Mishra S., Verma R. K., Chauhan A., and Singh A. 2011. Changes in essential oil content and composition of leaf and leaf poder of *Rosmarinus officinalis* cv. CIM-Hariyali during storage. *Maejo. Int. J. Sci. Tecnol.* 5(2): 181-190.
- Vibrans, H. 2009a. Malezas de México. *Schinus molle*. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/anacardiaceae/schinus-molle/fichas/ficha.htm> (Fecha de consulta: enero 2015).
- Vibrans, H. 2009b. Malezas de México. *Tagetes coronopifolia*. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-coronopifolia/fichas/ficha.htm> (Fecha de consulta. enero de 2015).

- Viera, P. C., Mafezoli J., e Biavatti M. W. 2001. Inseticidas de Origem vegetal. Pp. 23-45. *In*: Ferreira, J. T. B., Corrêa A. G., e Vieira P. C. (eds.). Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: EdUFSCar.
- Villalobos, W., Godoy C., and Rivera C. 2004. Occurrence of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), the vector of Huanglongbing, in Costa Rica. Pp. 7-13. *In*: Proceedings of the XVI Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Monterrey, MX.
- Villanueva-Jiménez, J. A., Cabrera M. H., Murillo C. F. D, Aguilar R. L., José P. R., y Montero M. A. L. 2011. Insecticidas para el control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón persa en la región central de Veracruz. 2° Simposio Nacional sobre investigación para el manejo de psílido asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México. Montecillo, Edo. de México.
- Villanueva-Jiménez J. A., and Hoy M. A. 1998. Toxicity of pesticides to the citrus leafminer and its parasitoid *Ageniaspis citricola* evaluated to assess their suitability for an IPM program in citrus nurseries. *Bio Cont.* 43: 357-388.
- Villarreal, Q. J. A. 2003. Familia Compositae. Tribu Tageteae. 85 p. *En*: Rzedowski, G. C., y Rzedowski J. (eds.). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 113. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Villavicencio-Nieto, M. A., Pérez-Escandón B. E., y Gordillo-Martínez A. J. 2010. Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica.* 30: 193-238.
- Viraktamath, C. A., and Bhumannavar B. X. 2002. Biology, ecology and management of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Pest manag. Hort. Ecosyst.* 7: 1-27.
- Vizcarra-Valdez, N. I., Sánchez-González J. A., González-Cabrera J., y Arredondo-Bernal H.C. 2013a. Determinación de la preferencia de alimentación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre su huésped. Pp: 194-1999. *In*: Vásquez L. A. y Pérez-Pacheco R. (eds.). XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR)-IPN Unidad Oaxaca.
- Vizcarra-Valdez, N. I., Sánchez-González J. A., González-Cabrera J., y Arredondo-Bernal H. C. 2013b. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Vedalia.* 14: 31-34.
- Watson, L., and Dallwitz M. J. 1991. The families of angiosperms: automated descriptions, with interactive identification and information retrieval. *Aust. Syst. Bot.* 4: 681-95.
- Wimalaratne, P. D. C., Slessor K. N., Borden J. H., Chong L. J., and Abate T. 1996. Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinus molle* L. *J. Chem. Ecol.* 22: 49-59.
- Wright, R. H. 1975. How mosquito repellents repel. *Sci. Am.* 233: 104-111.
- Xu, C. F., Xia Y. H., Li K. B., and Ke C. 1990. Study on latent period of pathogen of citrus Huanglongbing in citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw. *Acta Phytopathol. Sinica.* 20: 27-33.
- Xu, L. W., Chen J., Huan-Yang Q., and Yan-Ping S. 2012. Phytochemicals and their biological activities of plants of *Tagetes* L. *Chinese Herb. Med.* 4(2): 103-117.
- Yamamoto, P. T., and Miranda M. P. 2009. Controle do psílideo *Diaphorina citri*. *Ciência e Prática.* 1: 10-12

- Yang, Y., Huang M., Beattie G. A. C., Xia Y., Ouyang G., and Xiong J. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a status report for China. *Inter. J. Pest Manag.* 52: 343-352.
- Yefremova, Z., González-Santarosa G., Lomeli-Flores J. R., and Bautista-Martínez N. 2014. A new species of *Tamarixia* Mercet (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Trioza aguacate* Hollis & Martin (Hemiptera, Triozidae) in Mexico. *ZooKeys.* 368: 23-35.
- Yueqin, Z., Recio M. C., Máñez S., Giner R. M., Cerdá-Nicolás M., and Ríos J. L. 2003. Isolation of two triterpenoids and a biflavanone with anti-inflammatory activity from *Schinus molle* fruits. *Planta Med.* 69(10): 893-898.
- Zaka, S. M., and Zeng X. N. 2008. Repellent effect of guava odor against adults of citrus psyllid *Diaphorina citri*. *IRCHLB Proceedings Dec.* www.plantmanagementnetwork.org. Pp. 316-317.
- Zaka, S. M., Zeng Z. N., Holford P., and Beattie G. A. C. 2010. Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. *Insect Sci.* 17: 39-45.
- Zargari, A. 1995. *Medical plants.* 5<sup>th</sup> edition. Tehran University Press.
- Zhao, N. N., Zhou L., Liu Z. L., Du S. S., and Deng Z. W. 2012. Evaluation of the toxicity of the essential oils of some common Chinese spices against *Liposcelis bostrychophila*. *Food Control.* 26: 486-490.
- Zoubiri, S., and Baaliouamer A. 2011. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. *Food Chem.* 129: 179-182.
- Zoubiri, S., Baaliouamer A., Seba N., and Chamouni N. 2014. Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil. *Arabian J. Chem.* 7: 480-485.
- Zygadlo, J. A., Lamarque A. L., Maestri D. M., Guzman C. A., and Grosso N. R. 1993. Composition of the inflorescence oils of some *Tagetes* species from Argentina. *J. Essent. Oil Res.* 5: 679-681.