

ACTIVIDAD REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES DE *Tagetes* spp. EN ADULTOS DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Edgar Eduardo Mendoza-García¹, Laura Delia Ortega-Arenas¹, Miguel Ángel Serrato-Cruz², Rafael Pérez-Pacheco³, José Isabel López-Arroyo⁴ y Juan Antonio Villanueva-Jiménez¹. ¹Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, Km. 36.5 Carr. México-Texcoco Montecillo, México. ²Fitotecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, C.P 56230, Chapingo, México. ³CIIDIR-OAXACA, IPN. Calle Hornos 1003, C.P 71230, Xoxocotlán, Oaxaca, México, ⁴INIFAP, Campo Experimental General Terán Montemorelos-China Km. 31, Col. ExHacienda las Anacuas. C.P. 67413, Tamaulipas, México. mendoza.edgar@colpos.mx

RESUMEN: En la búsqueda de alternativas de manejo del Psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), se evaluó el efecto repelente de los aceites esenciales de *Tagetes coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* (Asteraceae) sobre adultos de *D. citri*. Se trataron hojas de naranjo (*Citrus sinensis* var. Valencia), y se expusieron 20 adultos del psílido. La repelencia se evaluó por diferencia entre los insectos posados y no posados en cada tratamiento y repetición a las 4^a, 5^a, 6^a, y 24 h postratamiento. La actividad repelente varió en función del tiempo de exposición y la concentración. El aceite de *T. lucida* presentó del 97 a 99%, seguido por *T. coronopifolia* (92, 81, 73 y 60%), y finalmente *T. terniflora* (74, 63, 43 y 25%) a 40 mg mL⁻¹, a la 4^a, 5^a, 6^a, y 24h misma observación, respectivamente.

Palabras claves: Repelencia, Psílido asiático de los cítricos, aceites esenciales, MIP.

Repellent activity of essential oil of *Tagetes* spp. on *Diaphorina citri* adults (Hemiptera: Liviidae)

ABSTRACT: In a search for sustainable options of the Citrus Asian Psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) management, the repellent potential of the essential oils from *Tagetes coronopifolia*, *T. lucida* and *T. terniflora* (Asteraceae) on adult of *D. citri* were evaluated. The orange leaves (*Citrus sinensis* var. Valencia) were treated, and exposed to 20 psyllids adults. Repellency was measured by the difference in the number of insects settled on the leaf disk control and the disk treated at 4th, 5th, 6th, and 24h after introduction. The repellent activity varied according to the exposure time and concentration. *T. lucida* oil showed 97 to 99%, followed by *T. coronopifolia* (92, 81, 73 and 60%), and finally *T. terniflora* (74, 63, 43 and 25%) at 40 mg mL⁻¹, the 4th, 5th, 6th, and 24h same observation, respectively.

Key words: Repellency, Asian citrus psyllid, essential oils, MIP.

Introducción

El Psílido Asiático de los Cítricos (PAC) *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) es una de las plagas de importancia económica a nivel mundial, debido a que es vector de las bacterias (*Candidatus Liberibacter* var. asiaticus y americanus) agentes causales del huanglongbing (HLB) (Halbert y Manjunath, 2004). En la actualidad, el control químico es la herramienta más empleada en el manejo del insecto, con la finalidad de reducir la dispersión del HLB en los huertos de cítricos (Stansly y Qureshi, 2007). No obstante, el uso excesivo y dosis altas de productos ha traído como consecuencia la eliminación de agentes de control biológico, y propiciado el desarrollo de resistencia a dichos insecticidas. Ante este panorama, se ha implementado el uso de sustancias derivadas de plantas con efecto repelente, atrayente, tóxico o anti-alimentario (Miresmailli e Isman, 2006). Los aceites esenciales son a menudo específicos para la especie plaga a controlar, biodegradables y no tóxicos para el humano y otros mamíferos (Isman, 2000).

A pesar de la gran diversidad vegetal que existe a nivel mundial, se desconocen las propiedades biológicas de la mayoría de especies, las cuales pueden ser explotadas de manera racional contra insectos plaga (Carrillo *et al.*, 2008). En este contexto, algunas especies de las familia Asteraceae se han identificado como fuentes promisoras de compuestos con propiedades plaguicidas (Serrato *et al.*,

2007). Dentro de esta familia, algunas especies del género *Tagetes* han probado ser efectivas contra insectos (Nivsarkar *et al.*, 2001; Tomova *et al.*, 2005; Camarillo *et al.*, 2009). Lo anterior se debe a que los extractos con principios activos como el *trans*-anetol, alilanisol, β -cariofileno y tagetona, han demostrado ser tóxicos, repelentes e inhibidores de la reproducción y crecimiento (Tomova *et al.*, 2005). Tomando en cuenta lo anterior y nula información sobre este género de plantas en el psílido, se planteó como objetivo evaluar el efecto repelente de aceites esenciales de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora*.

Materiales y Método

La investigación se realizó en el periodo de noviembre de 2013 a febrero de 2014, en el laboratorio de Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México. La cría masiva de *D. citri* se estableció en brotes de naranja (*Citrus sinensis*) cultivar Valencia en condiciones de invernadero ($27 \pm 3^\circ\text{C}$ y 12:12 L: O). Los aceites esenciales de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. terniflora* se obtuvieron de tallos, hojas y flores de plantas frescas (3 meses edad) por destilación de arrastre de vapor con un destilador convencional. Los aceites se almacenaron en frascos color ámbar con tapa, refrigerados a 4°C .

Para evaluar el efecto de cada concentración y repetición (cinco) se utilizaron 20 adultos del psílido, de 3 a 6 d de edad y 2 h de ayuno previo. Siempre se incluyó un testigo al que sólo se le aplicó agua destilada. A todos los tratamientos se les añadió Tween 20 al 1% como adherente. A partir de una solución al 10% (100 mg mL^{-1}), por diluciones subsecuentes, se elaboraron concentraciones de 1 a 0.00001% (10 a $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$), de cada aceite para detectar las concentraciones con efecto máximo y mínimo de repelencia en el intervalo de 0 a 100% (bioensayo preliminar). Posteriormente, se realizó el bioensayo completo en el cual se intercalaron concentraciones entre aquellas que mostraron actividad repelente $\geq 30\%$.

La repelencia se evaluó con el método del cilindro (olfatómetro) propuesto por Schuster *et al.* (2009) con ligeras modificaciones. Consistió en sumergir una hoja de naranja en el tratamiento correspondiente; enseguida, el peciolo la hoja se introdujo en un vial con agua destilada, para mantener su turgencia, y se dejó secar a temperatura ambiente, para después acoplarlo dentro de un vaso de plástico de la marca Cristal (#10). Finalmente, 20 adultos se introdujeron por un orificio lateral del vaso y éstos se dispusieron de manera aleatoria en una cámara bioclimática (25°C). La repelencia se midió por la diferencia entre insectos posados y no posados en las hojas tratadas a la 4^a, 5^a, 6^a y 24 h post tratamiento y se expresó en porcentaje, considerando el total de adultos como 100% en cada repetición.

Los datos de repelencia se ajustaron a la ecuación de Abbott (1925) y se sometieron a análisis Probit para obtener las líneas de repuesta log dosis probit y los valores de la Concentración de Repelencia Media (CR_{50}), éstas se expresaron en mg mL^{-1} . Además, se calculó el Índice de Repelencia (IR), propuesto por Lin *et al.* (1990), para comparar el efecto de las dosis, índice que se calculó con la fórmula $\text{IR} = 2G / (G + P)$, donde G = % de insectos posados en el tratamiento y P = % de insectos posados en el testigo. Los índices se clasificaron como IR = 1 planta neutra, IR < 1 planta repelente, e IR > 1 planta atrayente; la desviación estándar en cada concentración y hora de registro se incluyó para reforzar la clasificación.

Resultado y Discusión

Los aceites de las tres especies evaluados exhibieron actividad repelente, aunque ésta varió en función de la concentración y tiempo de exposición. En general, los tres aceites no mostraron un efecto repelente absoluta (100%); sin embargo, la concentración más alta (40 mg mL⁻¹) presentó una mayor repelencia. A dicha concentración el aceite de *T. lucida* mostró repelencia $\geq 97\%$, en las cuatro horas de evaluación (Cuadro 1), aunque en todos los tratamientos el efecto fue inestable a través del tiempo. Esto se atribuye en gran parte a la descomposición rápida de los compuestos por influencia de factores ambientales y biológicos como la luz, rayos UV, temperatura, pH y actividad microbial (Mulla y Su, 1999), observación registrada por Cubillo *et al.* (1999), al evaluar productos de nim sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius), y Camarillo *et al.* (2009) con los extractos de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *T. vaporariorum*. Sin embargo, dichos autores señalan que la actividad repelente puede recuperarse a través del tiempo, debido a procesos temporales de desaturación y saturación, de forma inmediata o gradual, de los quimiorreceptores en el insecto (Van Lenteren y Noldus, 1990).

Los valores de las CR₅₀ para los tres aceites oscilaron de 3.05 a 42.16 mg mL⁻¹. El aceite esencial de *T. lucida* causó la mayor actividad repelente a nivel de la CR₅₀ a la 4^a, 5^a y 6^a h postratamiento (3.05, 6.12 y 8.91 mg mL⁻¹, respectivamente), seguido de *T. coronopifolia* (4.31, 10.76 y 28.14 mg mL⁻¹, respectivamente), y finalmente, *T. terniflora* con 18.59 y 42.16 mg mL⁻¹ a la 4^a y 5^a h postratamiento (Cuadro 1, 2 y 3). Esto se reflejó en los valores del IR, sin embargo, el efecto repelente del aceite esencial de *T. coronopifolia* se mantuvo a través del tiempo. El efecto repelente (IR<1) para este aceite se presentó a partir de 3.5 mg mL⁻¹ a partir de la 4^a h de exposición y hasta las dos horas siguientes e incrementó a las 24 h (40 mg mL⁻¹) (Cuadro 2); seguido por *T. lucida* con 3.5 mg mL⁻¹ en la 4^a y 5^a h y 40 mg mL⁻¹ a las 6^a y 24 h postratamiento (Cuadro 1); mientras que el efecto repelente del aceite esencial de *T. terniflora* se evidenció a partir de 20 mg mL⁻¹ (Cuadro 3).

El efecto repelente positivo de los tres aceites sobre los adultos del psílido, hace suponer que ésta se debió a las características propias de los aceites; como la nula o poca solubilidad en agua y mayor adherencia y persistencia. El grado de viscosidad y densidad de los aceites los hace más pesados y por ello son retenidos por más tiempo sobre la hoja, de modo que las sustancias repelentes se liberan gradualmente retrasando o evitando, por más tiempo que los insectos arriben a la planta tratada (Davison *et al.*, 1991).

La actividad repelente y persistencia de los aceites depende del tamaño y forma de las moléculas presentes en cada producto, así como de su ensamble y permanencia en los receptores sensoriales de las antenas de los insectos, por interacción molecular (Wright, 1975). Sin embargo, los compuestos químicos como el alilanol, crisantenona, limoneno, ocimene, tagetona y verbenona, presentes en los aceites evaluados muestran un efecto y persistencia en los insectos (Díaz-Cedillo *et al.*, 2013; Serrato-Cruz *et al.*, 2014).

Conclusiones

Los aceites esenciales de *T. coronopifolia*, *T. lucida* y *T. erecta* mostraron actividad repelente contra los adultos del psílido, aunque su efecto se relacionó positivamente con la concentración. Por tanto, es importante continuar los trabajos para la extracción e identificación de los principios activos, definir el modo de acción, la influencia de condiciones ambientales, así como su compatibilidad con enemigos naturales y otras alternativas de control.

Cuadro 1. Porcentaje (%) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes lucida*.

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

Cuadro 2. Porcentaje (%) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes coronopifolia*

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

Cuadro 3. Porcentaje (%) de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* expuestos al aceite esencial de *Tagetes terniflora*

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

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

Agradecimientos

Al proyecto FONSEC-SAGARPA-CONACYT 2009-10859 “Manejo de la Enfermedad Huanglongbing (HLB) mediante el control de las poblaciones del vector *Diaphorina citri*”.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 165-267.
- Camarillo, De la R. G., Ortega, A. L.D., Serrato, M.A. y C. H. Rodríguez. 2009. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 35(2): 177-184.
- Carrillo, Rodríguez J. C., Vásquez-Ortiz, R., Ríos, D. A., Jerez-Salas, M. P. y A.Y. Villegas. 2008. Extractos vegetales para el control de plagas del follaje del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Oaxaca, México. VIII Congreso científico de SEAE. "Agricultura y Alimentación Ecológica". Bullas, Murcia, España.
- Cubillo, D., Sanabria, G. y L. Hilje. 1999. Evaluación de repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. *Manejo Integrado de Plagas*. 53: 65-72.
- Davison, N., Dibble, J., Flint, M., Marer, P. and A. Guye. 1991. Managing insects and mites with sprays oils. University of California. USA. 47 p.
- Díaz-Cedillo, F., Serrato-Cruz, M.A, De la Cruz-Marcial, J., Sánchez Alonso, M.G. y V. López-Cruz. 2013. Compuestos mayoritarios del aceite esencial de órganos de una población de *Tagetes coronopifolia* Willd. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36(4): 405-411.
- Halbert, S.E., and K.L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*. 87(3): 330-353.

- Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*.19: 603-608.
- Lin, H., Kogan, M. and D. Fischer. 1990. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. *Environmental Entomology*. 19: 1852-1857.
- Miresmailli, S. and M.B. Isman. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite on greenhouse tomato (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*. 99(6): 2015-2023.
- Mulla, M.S. and T. Su. 1999. Activity of biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 15: 133-152.
- Nivsarkar, M., Cheruan, B., y Padh H. 2001. Alpha-terthienyl: A plant-derived new generation insecticide. *Current Science* 81 (6): 667-672.
- Serrato, C.M.A, Barajas, P.J.S. y C. F. Díaz. 2007. Aceites esenciales del recurso genético *Tagetes* para el control de insectos, nemátodos, 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. 200p.*
- Serrato, C.M.A, Díaz, C.F., Hernández, M.D. and R.A. Curiel. 2014. Two agronomical aspects of *Tagetes terniflora* HBK for essential oil production. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*. 3(1): 9-13.
- Schuster, D.J., S. Thompson, Ortega, A.L.D. and J.E. Polston. 2009. Laboratory evaluation of products to reduce settling of sweetpotato whitefly adults. *Journal of Economic Entomology*. 102(4): 1482-1489.
- Stansly, P. A., and J. A. Qureshi. 2007. Insecticidal control of Asian citrus psyllid through foliar applications on orange. *Arthropod Management Tests* D10.
- Tomova, B.S., Waterhouse, J.S., and J. Doberski. 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115 (1): 153-159.
- Van Lenteren, V.J.C. and J.P.L. Noldus. 1990. Whitefly-plant relationships: behavioral and ecological aspects, p. 47-80. *In: Gerling, D. (Ed) Whiteflies: Their bionomics, Pest Status and Management, Intercept. Great Britain.*
- Wright, R.H. 1975. How mosquito repellents repel. *Scientific American*. 233(1): 104-111.