

Efecto biológico del aceite de *Tagetes coronopifolia* (Asteraceae) contra *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)

Biological effect of *Tagetes coronopifolia* (Asteraceae) oil against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)

EDGAR E. MENDOZA-GARCÍA¹, LAURA D. ORTEGA-ARENAS^{1*}, MIGUEL A. SERRATO CRUZ², FRANCISCO DÍAZ CEDILLO³, JUAN A. VILLANUEVA-JIMÉNEZ⁴, J. ISABEL LÓPEZ-ARROYO⁵ y RAFAEL PÉREZ-PACHECO⁶

Resumen: En el presente estudio se determinó la actividad tóxica y repelente del aceite de *Tagetes coronopifolia* contra *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). El aceite de *T. coronopifolia* se obtuvo de la parte aérea de un ecotipo de Texcoco, México, la cual se procesó mediante hidrodestilación. La toxicidad se evaluó mediante la exposición de adultos y ninfas a diferentes concentraciones del aceite mediante aspersión e inmersión de discos de hoja de *Citrus sinensis* cv Valencia. La repelencia se determinó al exponer adultos, confinados en un dispositivo, a una hoja tratada, a las 4, 5, 6 y 24 h post-aplicación. Los adultos y ninfas resultaron significativamente susceptibles al aceite de *T. coronopifolia* ($P < 0,05$), la mortalidad se incrementó con la concentración y el tiempo de exposición. La toxicidad del aceite $\geq 40\%$ se presentó a partir de $0,01 \text{ mg mL}^{-1}$ en ninfas, mientras que en adultos fue a partir de 10 mg mL^{-1} . El aceite de *T. coronopifolia* mostró el máximo efecto repelente (92%) con 40 mg mL^{-1} a 4 h posteriores al tratamiento, aunque disminuyó a las 24 h.

Palabras clave: Plantas insecticidas. Aceite esencial. Psílido asiático de los cítricos. Mortalidad. Repelencia.

Abstract: In this study the toxicity and repellent activity of *Tagetes coronopifolia* essential oil was determined against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *T. coronopifolia* oil was obtained from the aerial part of an ecotype from Texcoco, Mexico, and processed by hydrodistillation. Nymphs and adults were sprayed with several oil concentrations, and also exposed to *Citrus sinensis* cv. Valencia leaf discs treated by immersion. Mortality was assessed in both bioassays. Repellency was evaluated by exposing adults to a treated leaf confined in a device at 4, 5, 6 and 24 hours after application. Adults and nymphs were significantly susceptible to *T. coronopifolia* oil ($P < 0.05$), mortality increased with concentration and time of exposure. In nymphs, oil toxicity $\geq 40\%$ was observed starting at 0.01 mg mL^{-1} , while in adults, it started at 10 mg mL^{-1} . *T. coronopifolia* oil caused maximum repellency (92%) with 40 mg mL^{-1} , 4 hours after treatment, but decreased at 24 hours.

Key words: Insecticide plants. Essential oil. Asian citrus psyllid. Mortality. Repellency.

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). En particular, algunas especies del género *Tagetes* (Asteraceae) han probado ser efectivas contra bacterias (Souza *et al.* 2000; Arenas *et al.* 2004), hongos (Zygodlo *et al.* 1994; Romagnoli *et al.* 2005), nematodos (Reynolds *et al.* 2000; Ball-Coelho *et al.* 2003), ácaros (Eguaras *et al.* 2005) e insectos tales como piojos de la cabeza (Cestari *et al.* 2004), gorgojos de granos almacenados (Weaver *et al.* 1994, 1997), áfidos (Tomova *et al.* 2005; Serrato-Cruz *et al.* 2008; Tripathi *et al.* 2009), moscas blancas (Camarillo *et al.* 2009), dípteros (Perich *et al.* 1994; Nivsarkar *et al.* 2001), entre otros. Lo anterior se debe a que sus extractos son ricos en principios activos como el *trans*-anetol, alilanisol, β -cariofileno y tage-

tona, que son tóxicos, repelentes e inhibidores de la reproducción y crecimiento (Saxena y Srivastava 1973; Weaver *et al.* 1994; Cestari *et al.* 2004; Tomova *et al.* 2005; Camarillo *et al.* 2009; Tripathi *et al.* 2009).

En México, el género *Tagetes* está representado 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).

Tagetes coronopifolia Willd. es una herbácea anual que libera un intenso aroma al estrujarse con la mano. Bajo cultivo, puede crecer hasta 1,2 m, lo que potencialmente puede significar alta producción de biomasa y rendimiento de aceite con respecto a otras especies de este género (Villarreal 2003). En observaciones de campo las plantas de *T. coronopifolia* son poco afectadas por plagas insectiles, lo que su-

¹ M.C y Dr. respectivamente. Fitosanidad-Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, C.P. 56230, Montecillo, México. ² Dr. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, carretera México-Texcoco km 38.5, C. P. 56230, Chapingo, México. ³ Dr. Laboratorio de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Casco de Santo Tomás, 11340, Distrito Federal, México. ⁴ Ph. D. Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, Km 88.5 Carr. Xalapa-Veracruz, Tepetates, Manlio F. Altamirano, Veracruz, México. ⁵ Ph. D. INIFAP, Campo Experimental General Terán Montemorelos-China Km. 31, Col. ExHacienda las Anacuas. C.P. 67413, General Terán, N.L., México. ⁶ Dr. CIIDIR-OAXACA, IPN, C.P.71230 Xoxocotlán, Oaxaca, México. **ladeorar@colpos.mx*. Autor para correspondencia.

giere la presencia de compuestos que impiden su infestación (Serrato-Cruz *et al.* 2008). El aceite de esta especie contiene cuatro compuestos mayoritarios; en tallo y hoja se encuentran verbenona, crisantenona, 2-oxo-decanoato de metilo y 6,6-dimetil-2-metil-biciclo [3.1.1] heptan-3ona, dos de ellos también presentes en la cabezuela (Díaz-Cedillo *et al.* 2013). La verbenona es señalada como repelente contra *Dendroctonus ponderosae* (Hopkins, 1902) (Coleoptera: Curculionidae) (Gillette *et al.* 2009); ovicida contra *Musca domestica* (L., 1758) (Diptera: Muscidae) y tóxica en adultos de *M. domestica* y *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (Rice y Coats 1994), pero aun se desconoce el efecto biológico de los otros compuestos.

Los aceites esenciales se han propuesto para el manejo de diferentes plagas. En el caso del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Liviidae) (Halbert y Manjunath 2004), se ha estudiado el efecto tóxico del aceite de ajo *Allium sativum* L. (Liliaceae) ($CL_{50} = 0,17 \mu\text{g insecto}^{-1}$), lavanda *Lavandula* sp. (Lamiaceae) ($0,16 \mu\text{g insecto}^{-1}$), cilantro *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) ($0,25 \mu\text{g insecto}^{-1}$), tomillo *Thymus vulgaris* L. (Labiatae) ($17,26 \mu\text{g insecto}^{-1}$) (Mann *et al.* 2012) y orégano *Lippia graveolens* Kunth (Verbenaceae) (20 y 40 mg mL⁻¹) (Cázares *et al.* 2014). El control de este insecto ha recibido gran atención a nivel mundial porque es el vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, agente putativo del “Huanglongbing” (HLB), la enfermedad más devastadora de los cítricos (Bové 2006). Para contribuir en la generación de herramientas que permitan un posible manejo sustentable de este insecto cuarentenario, el presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto tóxico y repelente del aceite de la parte aérea de *T. coronopifolia*, contra adultos y ninfas de *D. citri*.

Materiales y métodos

Obtención del aceite esencial de *T. coronopifolia*. Se recolectaron semillas de un ecotipo de *T. coronopifolia* de Santa María Tecuanulco, Texcoco, México. Las semillas germinaron en bandejas con Peat moss (Sunshine®) en el invernadero del Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo. Seiscientas plantas de un mes de edad, se trasplantaron en julio de 2012 en una parcela del Campo Experimental Chapingo (19°29.547'N 98°52.470'O; 2.267 msnm). Se colocaron en surcos de 75 cm, con 15 cm de separación entre plantas. Se aplicó un riego al momento del trasplante; después los requerimientos de humedad fueron cubiertos con la lluvia estacional. Las plantas no se fertilizaron y el deshierbe se realizó con azadón. Tres meses después del trasplante (12 de octubre), cuando las plantas se encontraban en floración, se cosecharon 180 kg de materia fresca de la parte aérea de la planta, de la cual se extrajeron 250 mL de aceite siguiendo el proceso de hidrodestilación descrito por Díaz-Cedillo *et al.* (2013).

Bioensayos de toxicidad y repelencia de *D. citri* al aceite esencial de *T. coronopifolia*. La cría de insectos y los bioensayos para determinar la actividad biológica de los aceites se realizaron en el laboratorio e invernadero de Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Cría de *D. citri*. La colonia de *D. citri* se estableció en invernadero (25 ± 5 °C y 12 h de fotoperiodo) con ~1000 adultos

(1:1) procedentes de plantaciones de naranja *Citrus sinensis* cv. 'Valencia', de Cazonos de Herrera, Veracruz. Los adultos se introdujeron en jaulas entomológicas (60 x 40 x 60 cm) de madera cubiertas con tela de organza. Previamente, en la jaula se colocaron plántulas de naranja cv. 'Valencia' de ~4 meses de edad, plantadas en bolsas de plástico negro (30 x 30 cm) con sustrato de vermicomposta, tierra de hoja y agrolita (3:2:1). Las hembras ovipositaron sobre las plantas y a los 7 d se retiraron los adultos con un aspirador. Se obtuvieron ninfas de tercer estadio y adultos para la realización de los bioensayos y el mantenimiento de la cría.

Preparación y aplicación del aceite. El aceite extraído se diluyó 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 por medio de diluciones subsiguientes del aceite. Con estas diluciones se realizaron bioensayos preliminares con la finalidad de encontrar efectos máximo y mínimo de mortalidad o repelencia. Siempre se incluyó un testigo a base de agua destilada. Para facilitar la emulsión en todos los tratamientos, incluido el testigo, se añadió Tween 20 al 0,1%. Para cada concentración se emplearon 20 adultos de 3 a 6 d de emergidos y se realizaron cinco repeticiones. Posteriormente, se seleccionaron siete a ocho concentraciones que representaran adecuadamente todo el rango de mortalidad o repelencia ≥ 40%, de acuerdo con los criterios de Silva *et al.* (2005).

Toxicidad del aceite esencial en adultos. Para evaluar el efecto tóxico del aceite 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 CO₂ por 2 min para facilitar la aplicación de los tratamientos (Mann *et al.* 2012); posteriormente, con ayuda de un pincel entomológico (000) se colocaron sobre el envés de un disco de hoja de naranja cv. 'Valencia', en una caja Petri (Ø 4,0 cm) a la que previamente se le colocó una base de 3 mm de agar-agar 1%. El disco con los adultos se asperjó con un volumen de 1,5 mL del tratamiento respectivo (100, 60, 40, 20, 10, 3,5 mg mL⁻¹ o agua destilada), mediante el uso de un atomizador manual (5 mL). Las cajas se cubrieron con una tapa que contenía una ventana cubierta con tela de organza, y se mantuvieron en condiciones controladas (25 ± 3 °C y 12 h de fotoperiodo) (Cabrera *et al.* 2010). Para cada concentración se emplearon 20 adultos de 3 a 6 d de emergidos y se realizaron cinco repeticiones. La mortalidad (%) se registró a las 24 y 48 h después de la aplicación. Se consideró individuo muerto a aquel que no reaccionaba al estímulo con un pincel.

Toxicidad del aceite esencial en ninfas. Para esta evaluación se siguió el método propuesto por Prabhaker *et al.* (2006), el cual consistió en sumergir un disco (40 mm de diámetro) de hoja de naranja cv. 'Valencia' por 5 s en el aceite de *T. coronopifolia* a concentración de 10, 3,5, 1,0, 0,35, 0,1, 0,035 o 0,01 mg mL⁻¹. Se dejó secar a temperatura ambiente. El disco tratado se colocó con el envés expuesto dentro de una caja Petri (Ø 4,0 cm) de la misma manera que el bioensayo anterior. Enseguida, se introdujeron de 10 a 15 ninfas de tercer estadio por disco. Las cajas se mantuvieron sobre charolas color blanco y en condiciones controladas (25 ± 3 °C). La mortalidad se evaluó a las 24 h, con ayuda de un microscopio estereoscópico (16x). Al igual que en el ensayo anterior, se emplearon 10 a 15 ninfas y se realizaron cinco repeticiones.

Repelencia del aceite esencial en adultos. La repelencia se evaluó por el método de inmersión de hoja. Para ello se construyó una arena experimental conformada por un vaso de polipropileno transparente (Cristal®) de 250 mL, con tres orificios (\varnothing 4,0 cm) dos laterales y uno en el fondo, cubiertos con tela de organza 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 s en la sustancia de prueba (concentraciones de 40, 20, 10, 3,5, 1,0, 0,35 o 0,1 mg mL⁻¹). El vial y hoja se encerraron acoplado la tapa con el vaso en posición invertida. Por un orificio lateral (\varnothing 1,0 cm), tapado con un corcho, se introdujeron 20 adultos de 3 a 6 d de emergidos y 2 h en ayuno previo. Para cada concentración se realizaron cinco repeticiones y los vasos se dispusieron de manera aleatoria en una cámara bioclimática (25 ± 3 °C). La repelencia, medida por la diferencia entre insectos posados y no posados en las hojas tratadas 4, 5, 6 y 24 h posterior al tratamiento, se expresó en porcentaje, considerando el total de adultos como 100% en cada repetición.

Análisis estadístico. En todos los bioensayos se aplicó un diseño completamente al azar. Para cada concentración de los experimentos se realizaron cinco repeticiones, incluyendo un testigo al que se le aplicó agua destilada más Tween 20 al 0,1%. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (SAS 2004) y a la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (P < 0,05). Posteriormente, se obtuvieron las líneas de respuesta log dosis-Probit (en mg mL⁻¹) y los valores de la Concentración Letal Media (CL₅₀) y la Concentración de Repelencia Media (CR₅₀). La mortalidad y repelencia obtenida en los tratamientos se corrigió con la

observada en el testigo por medio de la ecuación de Abbott (1925). También se determinó el Índice de Repelencia (IR) propuesto por Lin *et al.* (1990) para comparar el efecto de las dosis mediante la fórmula $IR = 2G / (G + P)$, donde G = % de insectos posados en el tratamiento y P = % de los posados en el testigo. Los índices se clasificaron como: IR = 1 concentración neutra, IR < 1 concentración repelente, e IR > 1 concentración atrayente.

Resultados y discusión

Toxicidad del aceite esencial en adultos. La mortalidad de adultos se relacionó con la concentración del aceite esencial y el tiempo de exposición al tratamiento; en general, el aceite de *T. coronopifolia* provocó mortalidad significativa de adultos (P < 0,05) respecto al testigo, a partir de la dosis de 10 mg mL⁻¹ (24% a las 24 h y 45% a las 48 h). No obstante, la mortalidad se incrementó hasta alcanzar el 100%, al aumentar la concentración de 40 a 100 mg mL⁻¹ (Tabla 1). Estos resultados coinciden con los reportados por Cázares *et al.* (2014) quienes encontraron una mortalidad de adultos del psílido de 70% al aplicar aceite esencial de orégano (*L. graveolens*) a una concentración de 40 mg mL⁻¹.

La actividad tóxica de otros aceites esenciales de diversas especies de *Tagetes* con diferentes metabolitos secundarios también fue observada en otros insectos, como la mosquita blanca de los invernaderos (Camarillo *et al.* 2009), mosca del Mediterráneo (López *et al.* 2011), gorgojos de granos almacenados (Stefanazzi *et al.* 2011) y piojo humano de la cabeza (Gutiérrez *et al.* 2009), lo que demuestra el potencial de dichas especies como fuente de metabolitos secundarios contra plagas.

Tabla 1. Mortalidad (%) de adultos y ninfas de *Diaphorina citri*, 24 y 48 h posteriores a la aplicación de diferentes concentraciones del aceite esencial de *Tagetes coronopifolia*.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Mortalidad (% ± σ)*		
	Adultos		Ninfas
	24 h	48 h	24 h
100	100 ± 0,00 a	100 ± 0,00 a	–
60	95 ± 1,00 a	100 ± 0,00 a	–
40	85 ± 3,00 ab	96 ± 0,84 ab	–
20	66 ± 3,11 b	79 ± 1,92 b	–
10	24 ± 1,30 c	45 ± 4,00 c	100 ± 0,00 a
3,5	8 ± 1,52 cd	20 ± 1,58 d	96 ± 0,89 a
1,0	–	–	70 ± 0,71 b
0,35	–	–	64 ± 0,89 b
0,1	–	–	48 ± 0,84 c
0,035	–	–	32 ± 0,84 d
0,01	–	–	30 ± 0,71 d
Testigo	2 ± 0,89 d	4 ± 1,10 d	4 ± 0,55 e
Cv.	17,23	14,62	13,20
CL ₅₀	15,02	9,74	0,11
	(11,57-18,89) ¹	(7,30-12,43)	(0,041-0,248)
b ± s	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1

* Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0,05). ¹ Límites fiduciales, Cv. = Coeficiente de variación, b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar, σ = Desviación estándar.

A nivel de CL_{50} , los límites fiduciales a las 24 y 48 h no se traslapan entre sí, lo que indica que con menores concentraciones se alcanza mortalidades mayores a 48 h con respecto a las 24 h. Esto puede estar relacionado con el tiempo que requiere el metabolismo del insecto para desdoblar las moléculas o con la velocidad de acción de las moléculas del aceite en el interior del insecto (Isman 1999; Chiasson *et al.* 2004).

Toxicidad del aceite esencial en ninfas. La mortalidad de ninfas se relacionó positivamente con la concentración del aceite de *T. coronopifolia*. En general, el aceite provocó mortalidad significativa en ninfas ($P < 0,05$) respecto al testigo a partir de la concentración de $0,01 \text{ mg mL}^{-1}$ (30%), y se incrementó hasta alcanzar el 100% a 10 mg mL^{-1} . A nivel de CL_{50} , se requiere una concentración de $0,11 \text{ mg mL}^{-1}$ para eliminar el 50% de la población de ninfas de *D. citri*. El aceite fue efectivo para eliminar las poblaciones de ninfas de *D. citri* a las 24 h, lo que coincide con lo encontrado por varios autores (Weaver *et al.* 1994, 1997; Serrato-Cruz *et al.* 2008; Tripathi *et al.* 2009; Camarillo *et al.* 2009) en otras plagas, con diversos extractos de *Tagetes*. Según Hogson y Kuhr (1990) así como Larew y Locke (1990) el aceite probablemente remueve las ceras de la cutícula, por lo que los individuos sufren deshidratación celular. Al respecto, 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. En general, las ninfas fueron más sensibles que los adultos al aceite de *T. coronopifolia* a nivel de CL_{50} , sin traslape de sus límites fiduciales, lo que indica que a las 24 h después del tratamiento, con menores concentraciones se alcanzan mortalidades mayores en ninfas ($CL_{50} = 0,11 \text{ mg mL}^{-1}$) que en adultos ($15,02 \text{ mg mL}^{-1}$) e incluso que a las 48 h en adultos ($9,74 \text{ mg mL}^{-1}$) (Tabla 1).

Repelencia del aceite esencial en adultos. El aceite esencial de *T. coronopifolia* causó repelencia de adultos $>35\%$ y hasta 92% a partir de $3,5 \text{ mg mL}^{-1}$ y hasta 40 mg mL^{-1} de 4 a 6 h después de la aplicación (excepto a las 6 h con la concentración $3,5 \text{ mg mL}^{-1}$). Los menores IR se dieron en la concentración de 40 mg mL^{-1} , con valores de 0,16 a las 4 h hasta 0,43 a las 6 h (Tabla 2). Todos los demás valores de

repelencia, aunque menores a 1,0 fueron superiores a 0,50, es decir tuvieron valores de repelencia bajos a moderados (Lin *et al.* 1990). Esto ha sido observado para otras especies de *Tagetes*, en insectos como *Trialetrodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Camarillo *et al.* 2009). El efecto repelente disminuyó al transcurrir el tiempo de evaluación, ya que con 40 mg mL^{-1} y 4 postaplicación, la repelencia fue de 92% con un IR de 0,16; mientras que a las 24 h la repelencia fue de 60%, con un IR mayor (0,57); tal respuesta se reflejó en una CR_{50} de $4,3 \text{ mg mL}^{-1}$ a 4 h después de la aplicación del aceite y aumentó 2 h más tarde a $10,7 \text{ mg mL}^{-1}$, lo que indica pérdida de la actividad repelente del aceite al paso del tiempo (Tabla 2). Al respecto, Wright (1975) menciona que la repelencia y persistencia de los aceites depende de la interacción molecular debida al 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. Asimismo, es importante conocer la concentración adecuada para repeler a la población del insecto y no causar un efecto contrario al que se esperaría; como se puede apreciar con los IR, las concentraciones por debajo de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ a las 4 h, de 3,5 a las 5 h, y de 20,0 a las 24 h después de la aplicación del aceite mostraron un efecto igual o mayor a 0,80 en el psílido, muy cercano al neutro. Camarillo *et al.* (2009) y Mendoza-García *et al.* (2014) indican que en el caso de *T. vaporariorum* se estimula la oviposición al aplicar dosis menores de 10 mg mL^{-1} del aceite esencial de *T. filifolia*, así como extractos acuosos de *Taraxacum officinale* Weber (Asteraceae) y etanólicos de *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae) de 60 mg mL^{-1} .

La propiedad repelente del aceite esencial evaluado probablemente se explique por los múltiples ingredientes activos y modo de acción presentes en ellos, por lo que los aceites pueden ser considerados como de amplio espectro de acción (Chiasson *et al.* 2004). Altas concentraciones de monoterpenos, como la verbenona presente en muchos aceites esenciales, producen un estado de bloqueo sensitivo en áfidos y barrenadores (Jackson *et al.* 1996; Gillette *et al.* 2009), lo que podría significar que este tipo de moléculas inhiban la enzima acetilcolinesterasa, vital para la transmisión de estímulos en insectos (van Oosten *et al.* 1990). Por otra parte, según la naturaleza de los estímulos químicos que interactúan

Tabla 2. Repelencia de adultos de *D. citri* a las 4, 5, 6 y 24 h post aplicación de diferentes dosis del aceite esencial de *Tagetes coronopifolia*.

Dosis [mg mL ⁻¹]	Rep (%) ¹	IR ²	Cl ³	Rep (%)	IR	Cl	Rep (%)	IR	Cl	Rep (%)	IR	Cl
	4			5			6			24 h		
40	92 a	0,16±0,05	R	81 a	0,33±0,18	R	73 a	0,43±0,15	R	60 a	0,57±0,41	R
20	62 b	0,58±0,23	R	46 b	0,72±0,13	R	35 b	0,79±0,16	R	19 b	0,89±0,19	A
10	60 b	0,60±0,28	R	53 c	0,66±0,21	R	37 b	0,78±0,11	R	18 bc	0,90±0,09	R
3,50	45 bc	0,74±0,23	A	36 d	0,80±0,13	R	27 bc	0,85±0,09	R	17 bc	0,90±0,15	A
1,00	26 cd	0,89±0,26	A	22 d	0,90±0,09	R	15 d	0,92±0,14	A	12 bc	0,93±0,09	A
0,35	35 cd	0,82±0,31	A	27 d	0,86±0,15	A	13 de	0,94±0,05	R	15 bc	0,91±0,12	A
0,10	28 cd	0,87±0,19	A	21 d	0,90±0,1	N	16 cd	0,92±0,08	N	10 bc	0,94±0,10	A
Testigo	8 e			5 e			2 e			0 c		
CR_{50}		4,31			10,76			28,14			—	
		(1,06- 28,91) ⁴			(3,1- 167)			(7,2- 44,8)				
B±s		0,65± 0,1			0,58± 0,1			0,59± 0,1				

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0,05$).

¹ Rep, Repelencia; ² IR, Índice de Repelencia; ³ Cl, Clasificación del aceite por su efecto (R, Repelente; N, Neutro; A, Atrayente); ⁴ Límites fiduciales, b = Pendiente de la línea de regresión, s = Error estándar.

con la superficie de la planta, pueden ocasionar que el insecto no pueda reconocer a su planta huésped para alimentarse y reproducirse (Metcalf y Metcalf 1992). Dentro del manejo integrado de plagas, sería muy útil contar con un producto entomostático, como repelente o inhibidor de crecimiento o de oviposición.

Considerando los efectos de mortalidad de ninfas y adultos de *D. citri*, así como la repelencia de adultos producidos con la aplicación del aceite esencial de *T. coronopifolia*, se recomienda realizar estudios agronómicos sobre producción de biomasa y de aceite de esta especie, para valorar su potencial en la elaboración de bio-plaguicidas y bio-repelentes. El aceite esencial de *T. coronopifolia* podría presentar un potencial para el manejo del psílido, por ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo, como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, lo que permitiría su incorporación a un programa de Manejo Integrado de Plagas (Molina 2001). Martínez *et al.* (2000) mencionan que los insecticidas botánicos actúan de manera moderada en comparación con un insecticida químico debido a su rápida degradación en el ambiente y a que algunos artrópodos objetivos sobreviven a la primera aplicación; en contraparte, presentan la ventaja de no acumularse en el ambiente y resultar inocuos.

Conclusiones

El aceite esencial de *T. coronopifolia* resultó tóxico a adultos y ninfas de *D. citri*; la toxicidad se relacionó positivamente con la concentración y el tiempo de exposición al tratamiento. Las ninfas resultaron más susceptibles que los adultos. Las concentraciones mínimas efectivas en laboratorio se estimaron en 0,01 mg mL⁻¹ para ninfas y 10 mg mL⁻¹ para adultos. El aceite causó un efecto repelente de corta duración (\leq 6 h después de la aplicación).

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el proyecto FONSEC SAGARPA-CONACYT 2009-108591 "Manejo de la enfermedad Huanglongbing (HLB) mediante el control de poblaciones del vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), el Psílido Asiático de los Cítricos".

Literatura citada

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 (2): 265-267.
- ADAMS, R. P. 2007. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. 4th Edition. Allured Publishing, Carol Stream, Illinois. 804 p.
- ARENAS, A.; LÓPEZ, D.; ÁLVAREZ, E.; LLANO, G.; LOKE, J. 2004. Efecto de prácticas ecológicas sobre la población de *Ralstonia solanacearum* Smith, causante de Moko de plátano. *Fitopatología Colombiana* 28 (2): 76-80.
- BALL-COELHO, B.; BRUIN, A. J.; ROY, R. C.; RIGA, E. 2003. Forage pearl millet and marigold as rotation crops for biological control of root-lesion nematodes in potato. *Agronomy Journal* 95 (2): 282-292.
- BOVÉ, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7-37.
- CABRERA-CABRERA, R. I.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; HERNÁNDEZ-ESPINOSA, D.; RODRÍGUEZ-TAPIA, J. L.; FERRER-GONZÁLEZ, J.; HERRERA-BATISTA, N. 2010. Evaluación de los aceites minerales Sigatoka y Rocío Spray en el control de *Diaphorina citri* Kuw. *Revista CitriFrut* 27 (1): 23-27.
- CAMARILLO R., G.; ORTEGA A., L. D.; SERRATO C., M. A.; RODRÍGUEZ H., C. 2009. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 35 (2): 177-184.
- CÁZARES A., N. P.; VERDE, S. M. J.; LÓPEZ, A. J. I.; ALMEYDA, L. I. H. 2014. Evaluación de diferentes extractos vegetales contra el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Revista Colombiana de Entomología* 40 (1): 67-73.
- CESTARI, I. M.; SARTI, S. J.; WAIB, C. M.; CASTELLO, A. 2004. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Neotropical Entomology* 33 (6): 805-807.
- CHIASSON, H.; VINCENT, C.; BOSTANIAN, N. J. 2004. Insecticidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. *Journal of Economic Entomology* 97 (4): 1378-1383.
- DÍAZ-CEDILLO, F.; SERRATO-CRUZ, M. A.; CRUZ-MARCIAL, J.; SÁNCHEZ-ALONSO, M. G.; LÓPEZ-MORALES, V. 2013. Compuestos mayoritarios del aceite esencial en órganos de una población de *Tagetes coronopifolia* Willd. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36 (4): 405-411.
- DIXON, R. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411 (6839): 843-847.
- EGUARAS, M. J.; FUSELLI, S.; GENDE, L.; FRITZ, R.; RUFFINENGO, S. R.; CLEMENTE, G.; GONZALEZ, A.; BAILAC, P. N.; 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*. *Journal of Essential Oil Research* 17 (3): 336-340.
- FEENY, P. 1992. The evolution of chemical ecology: Contributions from the study of herbivorous insects. pp. 1-35. En: Rosental, G. A.; Berenbaum, M. R. (Eds.). *Herbivores. Their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York. 493 p.
- GILLETTE, N. E.; ERBILGIN, N.; WEBSTER, J. N.; PEDERSON, L.; MORI, S. R.; STEIN, J. D.; OWEN, D. R.; BISCHEL, K. M.; WOOD, D. L. 2009. Aerially applied verbenone-releasing laminated flakes protect *Pinus contorta* stands from attack by *Dendroctonus ponderosae* in California and Idaho. *Forest Ecology and Management* 257 (5): 1405-1412.
- GUTIÉRREZ, M. M.; STEFANAZZI, N.; WERDIN, G. J.; BENZI, V.; FERRERO A. A. 2009. Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) sobre adultos de *Pediculus humanus capitis* (Insecta; Anoplura; Pediculidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8 (3): 176-179.
- HALBERT, S. E.; MANJUNATH, K. L. 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.
- HODGSON, E.; KUHR, R. J. 1990. A brief history of insecticides. *Research perspectives*. North Carolina State University 8 (1): 89.
- ISMAN, M. B. 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook* 10 (2): 68-72.
- JACKSON, D. L.; JAROSIK, V.; DIXON, A. F. G. 1996. Resource partitioning and tolerance of monoterpenes in four species of spruce aphid. *Physiological Entomology* 21 (3): 242-246.
- KRISHNA, A. MALLAVARAPU, G. R.; KUMAR, S.; RAMESH, S. 2002. Volatile oil constituents of the capitula, leaves and shoots of *Tagetes patula* L. *Journal of Essential Oil Research* 14 (6): 433-436.
- LAREW, H. G.; LOCKE, J. C. 1990. Repellency and toxicity of a horticultural oil against whiteflies on chrysanthemum. *HortScience* 25 (11): 1406-1407.
- LIN, H.; KOGAN, M.; FISCHER, D. 1990. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. *Environmental Entomology* 19 (6): 1852-1857.

- LÓPEZ, S. B.; LÓPEZ, M. L.; ARAGÓN, L. M.; TERESCHUK, M. L.; SLANIS, A. C.; FERESIN, G. E.; ZYGADLO, J. A.; 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (10): 5286-5292.
- MANN, R. S.; TIWARI, S.; SMOOT, J. M.; ROUSEFF, R. L.; STELINSKI, L. L. 2012. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwamura (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Applied Entomology* 136 (1-2): 87-96.
- MANSARAY, M. 2000. Herbal remedies - food or medicines? *Chemistry and Industry* 20: 677- 678.
- MARTÍNEZ, J. V.; BERNAL, H. Y.; CÁCERES, A. 2000. Fundamentos de la agrotecnología en cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Convenio Andrés Bello-Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Santa Fe de Bogotá, Colombia. 524 p.
- MENDOZA-GARCÍA, E. E.; ORTEGA-ARENAS, L. D.; PÉREZ-PACHECO R.; RODRÍGUEZ- HERNÁNDEZ, C. 2014. Repellency, toxicity, and oviposition inhibition of vegetable extracts against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 74 (1): 41-48.
- METCALF, R. L.; METCALF, E. R. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall. New York. 169 p.
- MOLINA, N. 2001. Uso de extractos botánicos en el control de plagas y enfermedades. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 59: 76-77.
- NIVSARKAR, M.; CHERIAN, B.; PADH, H. 2001. Alpha-terthienyl -A plant-derived new generation insecticide. *Current Science* 81 (6): 667-672.
- OTTAWAY, P. B. 2001. The roots of a healthy diet? *Chemistry and Industry* 22 (1): 42-44.
- PERICH, M. J.; WELLS, C.; BERTSCH, W.; TREDWAY, K. E. 1994. Toxicity of extracts from three *Tagetes* against adults and larvae of yellow fever mosquito and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 31 (6): 833-837.
- POLI, F.; SACCHETTI, G.; BRUNI, A. 1995. Distribution of internal secretory structures in *Tagetes patula* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany* 15 (2): 197-205.
- PRABHAKER, N.; CASTLE, S.; BYRNE, F.; HENNEBERRY, T. J.; TOSCANO, N. C. 2006. Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for *Homalodisca coagulata* Say (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *Journal of Economic Entomology* 99 (1): 141-154.
- REYNOLDS, L. B.; POTTER, J. W.; BALL-COELHO, B. R. 2000. Crop rotation with *Tagetes* sp. is an alternative to chemical fumigation for control of root-lesion nematodes. *Agronomy Journal* 92 (5): 957-966.
- RICE, P. J.; 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). *Journal of Economic Entomology* 87: 1172-1179.
- ROMAGNOLI, C.; BRUNI, R.; ANDREOTTI, E.; RAI, M. K.; VIVENTIN, C. B.; MARES, D. 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma* 225 (1-2): 57-65.
- SAXENA, B.; SRIVASTAVA, J. B. 1973. *Tagetes minuta* L. oil- A new source of juvenile hormone mimicking substance. *Indian Journal of Experimental Biology* 11 (1): 56-58.
- SEFIDKON, F.; SALEHYAR, S.; MIRZA, M.; DABIRI, M. 2004. The essential oil of *Tagetes erecta* L. occurring in Iran. *Flavour and Fragrance Journal* 19 (6): 579-581.
- SERRATO-CRUZ, M. A.; DÍAZ-CEDILLO, F.; BARAJAS-PÉREZ, J. S. 2008. Composición del aceite esencial en germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. de la Región centro-sur de México. *Agrociencia* 42 (3): 277-285.
- SIEBURTH, P. J.; SCHROEDER, W. J.; MAYER, R. T. 1998. Effects of oil and oil-surfactant combinations on silverleaf whitefly nymphs (Homoptera: Aleyrodidae) on Collards. *Florida Entomologist* 81 (3): 446-450.
- SOUZA, C. A. S. DE; AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M. 2000. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L.- Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 37 (6): 429-433.
- SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Publishing. Cary, North Carolina. 5180 p.
- STEFANAZZI, N.; STADLER, T.; FERRERO, A. 2011. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Management Science* 67 (6): 639-646.
- TOMOVA, B. S.; WATERHOUSE, J. S.; DOBERSKI, J. 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115 (1): 153-159.
- TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1 (5): 52-63.
- TURNER, B. L. 1996. Chapter 6: The comps of México-A systematic account of the family Asteraceae. (p. 1-93). En: Adams R. P.; Turner B. L. (Eds.). *Tageteae and Anthemideae*. Volume 10. *Phytologia Memoirs*. Texas. 93 p.
- VAN OOSTEN, A. M.; GUT, J.; HARREWIJN, P.; PIRON, P. G. M. 1990. Role of farnesene isomers and other terpenoids in the development of different morphs and forms of the aphids *Aphis fabae* and *Myzus persicae*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 25 (4): 331-342.
- VILLARREAL Q., J. A. 2003. Familia Compositae. Tribu Tageteae. Fascículo 113. Instituto de Ecología A. C. Pátzcuaro, Michoacán, México. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. 85 p.
- WEAVER, D. K.; WELLS, C. D.; DUNKEL, F. V.; BERTSCH, W.; SING, S. E.; SRIHARAN, S. 1994. Insecticidal activity of floral, foliar, and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Economic Entomology* 87 (6): 1718-1725.
- WEAVER, D. K.; ZETILEH, L. J.; WELLS, C. D.; BAKER, J. E.; BERTSCH, W.; THRONE, J. E. 1997. Toxicity of fractionated and degraded Mexican marigold floral extract to adult *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 90 (6): 1678-1683.
- WRIGHT, R. H. 1975. Why mosquito repellents repel. *Scientific American* 233 (1): 104-111.
- XU, L. W.; CHEN, J.; QI, H. Y.; SHI, Y. P. 2012. Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes L.* *Chinese Herbal Medicines* 4 (2): 103-117.
- ZYGADLO, J. A.; GUZMÁN, C. A.; GROSSO, N. R. 1994. Antifungal properties of the leaf oils of *Tagetes minuta* L. and *T. filifolia* Lag. *Journal of Essential Oil Research* 6 (6): 617-621.

Recibido: 21-ene-2015 • Aceptado: 23-oct-2015

Citación sugerida:

MENDOZA-GARCÍA, E. E.; ORTEGA-ARENAS, L. D.; SERRATO-CRUZ, M. A.; DÍAZ CEDILLO, F.; VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J. A.; LÓPEZ-ARROYO, J. I.; PÉREZ-PACHECO, R. 2015. Efecto biológico del aceite de *Tagetes coronopifolia* (Asteraceae) contra *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Revista Colombiana de Entomología* 41 (2): 157-162. Julio - Diciembre 2015. ISSN 0120-0488.