

# Determinación de la actividad biocida de extractos vegetales para el combate de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemíptera: Aleyrodidae)

## Determination of the biocidal activity of plant extracts against the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Lucía Rodríguez-Montero<sup>1</sup>, Alexander Berrocal-Jiménez<sup>2</sup>,  
Roel Campos-Rodríguez<sup>3</sup>, Mairon Madriz-Martínez<sup>4</sup>

Rodríguez-Montero, L; Berrocal-Jiménez, A; Campos-Rodríguez, R; Madriz-Martínez, M. Determinación de la actividad biocida de extractos vegetales para el combate de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemíptera: Aleyrodidae). *Tecnología en Marcha*. Vol. 33-3. Julio-Setiembre 2020. Pág 117-129.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v33i3.4373>

Fecha de recepción: 27 de junio de 2019  
Fecha de aprobación: 16 de octubre de 2019

- 1 Estudiante de maestría en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: lucia.rodriguezmontero@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0001-7866-2862>
- 2 Doctor en Ciencias Forestales. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: aberrocal@tec.ac.cr  
 <https://orcid.org/0000-0003-2041-4772>
- 3 Doctor en Ciencias Naturales para el Desarrollo. Coordinador del Área Académica Agroforestal, Escuela de Agronegocios, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: rocampos@tec.ac.cr  
 <https://orcid.org/0000-0003-4460-2313>
- 4 M.Sc. en Agricultura Ecológica. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Costa Rica. Correo electrónico: maironpz@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0003-0247-2370>



## Palabras clave

*Bemisia tabaci*; *Ruta graveolens*; extracto vegetal.

## Resumen

La mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) es una especie plaga de importancia económica, ampliamente distribuida en el mundo y causante de pérdidas cuantiosas en la producción agrícola. Su combate suele basarse en aplicaciones repetitivas de insecticidas químicos, que producen contaminación ambiental y generan resistencia en las poblaciones de los insectos. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad insecticida de nueve extractos vegetales en adultos de *B. tabaci*, bajo condiciones experimentales *in vitro*. Se realizaron bioensayos de toxicidad con los extractos etanólicos de cada planta a una concentración de 5000 mg/L, para determinar el de mejor desempeño. Las especies vegetales utilizadas fueron *Enterolobium cyclocarpum* (hojas y corteza), *Lippia graveolens* (hojas), *Ruta graveolens* (hojas), *Adonidia merrillii* (hojas y frutos), *Annona muricata* (semillas), *Curcuma longa* (raíz) y *Zingiber officinale* (raíz). El más tóxico fue el extracto de *R. graveolens*, el cual se fraccionó por cromatografía de columna con tres solventes de polaridad creciente: isopropanol: diclorometano (8:2), etanol 96% y agua. Finalmente se realizaron bioensayos con las tres particiones fitoquímicas para determinar su actividad y lograr una aproximación al tipo de compuestos responsables de la actividad tóxica. La fracción menos polar (isopropanol: diclorometano [8:2]) fue la que ocasionó la mayor mortalidad. La investigación buscó generar información para el desarrollo de métodos de combate alternativos contra la plaga en estudio, teniendo como presupuesto que los extractos vegetales son una opción promisoriosa para el desarrollo de bioinsecticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana.

## Keywords

*Bemisia tabaci*; *Ruta graveolens*; plant extract.

## Abstract

The whitefly *Bemisia tabaci* Genn. is a pest. It causes economic losses in crop production and it is distributed worldwide. The combat against it is usually based on repetitive applications of chemical pesticides, resulting in environmental contamination and genetic resistance of insect populations. This research was carried out with the objective of evaluating the insecticidal activity of nine plant extracts in adults of *B. tabaci*, under *in vitro* experimental conditions. Toxicity bioassays with the ethanolic extracts of each plant at a concentration of 5000 mg/L were tested to determine the one with the best performance. The plant species used were *Enterolobium cyclocarpum* (leaves and bark), *Lippia graveolens* (leaves), *Ruta graveolens* (leaves), *Adonidia merrillii* (leaves and fruits), *Annona muricata* (seeds), *Curcuma longa* (root) and *Zingiber officinale* (root). The most toxic extract was *R. graveolens*; it was fractionated by column chromatography with three solvents of increasing polarity: isopropanol: dichloromethane (8:2), ethanol 96% and water. Finally, bioassays were carried out with the three phytochemical partitions to determine their activity and to approximate to the type of compounds responsible for the toxic activity. The least polar fraction (isopropanol: dichloromethane [8:2]) was the one that caused the highest mortality. The research sought to provide a basis for the creation of alternative control methods against the pest in study, under the assumption that plant extracts are a promising option for the development of bio-insecticides safer for the environment and human health.

## Introducción

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*, Gennadius; hemíptera: Aleyrodidae) es una de las especies plaga más ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Se adapta mejor a regiones costeras y con altitudes inferiores a los 1000 m.s.n.m, aunque también se ha observado en ambientes por encima de esa altura, principalmente la del biotipo B. De esta manera, *B. tabaci* se ha convertido en una de las plagas agrícolas más dañinas en todo el mundo en los últimos 20 años [1], [2] pues ha ocasionado pérdidas económicas que se estiman en cientos o incluso miles de millones de dólares al año [3]. En los lugares en que está presente, afecta a numerosas especies, comúnmente a plantas pertenecientes a las familias Cruciferae, Cucurbitaceae, Solanaceae y Leguminosae, entre otras.

Este hemíptero es dañino por su directa alimentación del floema, lo cual debilita a la planta, también por sus excreciones, que sirven de fuente nutricional para el desarrollo de hongos que interfieren con la cantidad de radiación solar que llega a las hojas [4]. Aún así, el daño más severo lo causa como vector de un gran número de virus del género *begomovirus* (Geminiviridae), los cuales son responsables de enfermedades arrasadoras, que pueden acabar hasta con el 100% de las cosechas [5], [6].

La aplicación de insecticidas sintéticos como los cloronicotínicos, los piretroides y los organofosforados es la práctica más utilizada en Costa Rica y el mundo para el combate de la mosca blanca y en ocasiones se hace de manera irracional, lo que incrementa los costos de producción y en la mayoría de los casos, no logra un combate eficiente de la especie en condición de plaga [7], [8]. Se ha comprobado que el uso convencional de insecticidas es poco o nada funcional en el control de *B. tabaci* [9], pues su plasticidad genética y la brevedad de su ciclo de vida le confieren a esta especie gran capacidad de adaptación y a su vez, le permiten desarrollar rápidamente altos niveles de resistencia [10].

Frente a esta situación, se hace necesario reducir la cantidad de productos químicos aplicados a los cultivos e integrar métodos alternativos que permitan un buen control de la plaga y aminoren los impactos ambientales [11].

Los extractos botánicos representan una opción promisoría como fuente de productos naturales bioactivos, más seguros y de bajo costo. Las plantas producen metabolitos secundarios para protegerse del ataque de otros organismos; estos compuestos pueden ser utilizados por su potencial insecticida o repelente [12]. Para la realización del presente proyecto se hizo una búsqueda bibliográfica previa de especies que han sido reportadas en la literatura con actividad insecticida (cuadro 1).

Las hojas y la corteza de *E. cyclocarpum* han presentado actividad biocida; en ellas se encuentran saponinas, glucósidos cianogénicos, taninos y triterpenos, entre otros [23]. *C. longa* y *Z. officinale* se utilizan de manera empírica como insecticidas caseros, y algunos estudios han comprobado esta actividad, la cual se puede atribuir a flavonoides, cumarinas, taninos, sesquiterpenos y monoterpenos, entre otros compuestos presentes en sus rizomas [24], [25], [26], [27].

Balqis *et al.* [28] demostraron el potencial tóxico de frutos de *V. merrillii*, atribuido a alcaloides, taninos, flavonoides, triterpenos y saponinas. Asimismo, ocurre con *L. graveolens*, y *R. graveolens*, que han sido reportadas con efecto insecticida debida a terpenos, flavonoides, taninos, cumarinas y otras moléculas con actividad biológica [20], [29], [5], [30], [31]. Finalmente, las semillas de *A. muricata* han demostrado su actividad insecticida contra dípteros, hemípteros, blatodeos y coleópteros; principalmente se asocia esta con las acetogeninas [32], [33], [34].

**Cuadro 1.** Efectividad tóxica y concentración requerida de productos de plantas, en insectos.

Familia	Especie de planta	Insecto	Parte de la planta	Concentración	Efecto	Referencia
Annonaceae	<i>Annona squamosa</i>	<i>Bemisia argentifolii</i>	Semillas	0,25%	98,3% mortalidad	[13]
	<i>Annona muricata</i>	<i>Plutella xylostella</i>	Hojas	5 mg/mL	100% mortalidad	[14]
		<i>Sitophilus zeamaiz</i>	Semillas	0,40%	95,6% mortalidad	[15]
	<i>Annona mucosa</i>	<i>Helicoverpa armigera</i>	Semillas	2000 ppm	100% mortalidad	[16]
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i>	<i>Crocidolomia pavonana</i>	Raíz	116,73 µg/mL (LC50)	85% mortalidad	[17]
		<i>Bactrocera zonata</i>	Raíz	1000 ppm	85% mortalidad	[18]
	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Musca domestica</i>	Raíz	1000 ppm	100% mortalidad	[19]
Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i>	<i>Bemisia tabaci</i>	Hojas	750 ppm	99,1% mortalidad	[5]
Verbenaceae	<i>Lippia graveolens</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Hojas	100 ppm	86% mortalidad	[20]
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i>	<i>Sitophilus oryzae/ Callosobruchus chinensis</i>	Hojas	10 mg/100 cc	100% mortalidad	[21]
Fabaceae	<i>Enterolobium contortisiliquum</i>	<i>Aedes aegypti</i>	Semillas	2,39 mg/mL (LC50)	100% mortalidad	[22]

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad insecticida de los nueve extractos etanólicos vegetales mencionados sobre adultos de *Bemisia tabaci*, mediante bioensayos *in vitro*.

## Metodología

### Obtención del material vegetal y extractos etanólicos

El material vegetal se recolectó de distintas partes del país (cuadro 2), siguiendo la normativa establecida por la Comisión Nacional para la Gestión de la Biodiversidad (CONAGEBIO) con respecto a la investigación y uso de los recursos de la biodiversidad.

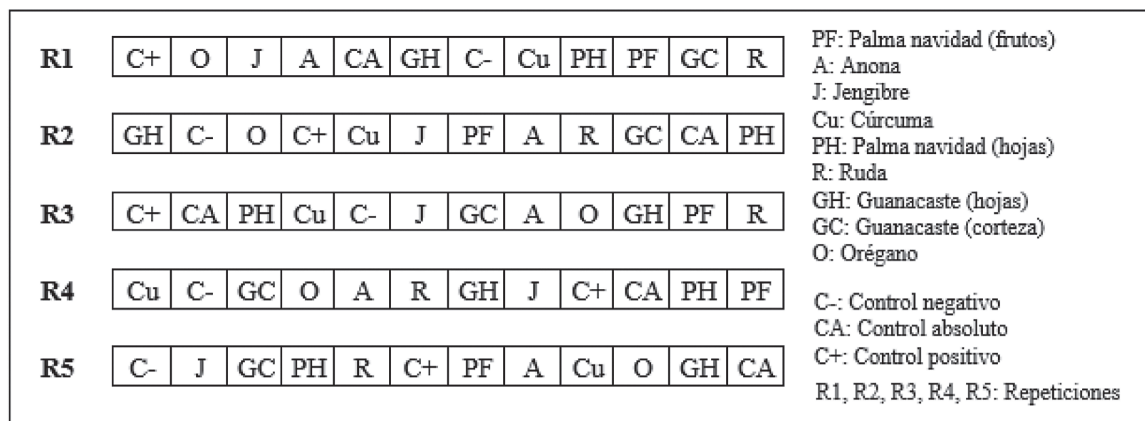
El material se limpió y se secó en un horno a 50 °C durante 3 días. Una vez seco se molió para obtener partículas finas que se sometieron a extracción con etanol. Por cada 100 g de material seco se adicionaron 700 ml de etanol al 96 %. A este material se le hicieron dos extracciones seguidas, con etanol fresco. La primera extracción se realizó aplicando sonicación durante 30 min y la segunda, aplicando sonicación 30 min y dejándola en reposo por aproximadamente 18 h. El extracto obtenido de las dos extracciones se filtró al vacío en un embudo Büchner acoplado a un matraz de Kitasato; luego se concentró en un rotavapor a 40 °C y a presión reducida. Una vez concentrado el extracto, este se liofilizó y de cada muestra, se preparó una solución de 5000 mg/L en una mezcla de etanol al 96 % y agua (1:1), para la realización de los bioensayos. Esta concentración fue elegida de acuerdo a la revisión bibliográfica realizada de las especies vegetales.

**Cuadro 2.** Caracterización de especies utilizadas para realizar los extractos etanólicos

Nombre común	Especie	Estructura de uso	Etapas de desarrollo	Coordenadas del sitio	Altitud (msnm)	Fecha de colecta
Palma navidad	<i>A. merrillii</i>	Frutos	Fructificación	9.9203461, -84.5020629	260	08/06/2018
Anona	<i>A. muricata</i>	Semillas	Fructificación	9.9203461, -84.5020629	260	02/06/2018
Jengibre	<i>Z. officinale</i>	Raíz	Desarrollo vegetativo	10.0416002, -84.1686986	1200	27/06/2018
Cúrcuma	<i>C. longa</i>	Raíz	Desarrollo vegetativo	10.0416002, -84.1686986	1200	27/06/2018
Palma navidad	<i>A. merrillii</i>	Hojas	Fructificación	9.9203461, -84.5020629	260	27/06/2018
Ruda	<i>R. graveolens</i>	Hojas y flores	Floración	10.0322340, -84.3973757	950	30/06/2018
Guanacaste	<i>E. cyclocarpum</i>	Hojas	Desarrollo vegetativo	10.0322340, -84.3973757	950	30/06/2018
Guanacaste	<i>E. cyclocarpum</i>	Corteza	Desarrollo vegetativo	10.0322340, -84.3973757	950	30/06/2018
Orégano	<i>L. graveolens</i>	Hojas	Desarrollo vegetativo	10.0322340, -84.3973757	950	02/07/2018

### Bioensayos con extractos etanólicos

Los bioensayos fueron realizados con adultos de *B. tabaci*, para lo cual se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con nueve tratamientos y tres controles (figura 1), cada uno de ellos con cinco repeticiones.



**Figura 1.** Distribución del bioensayo

Para evaluar los efectos de los extractos en adultos de *B. tabaci*, se siguió la metodología establecida por Baldin *et al.* [11] con previas modificaciones. La unidad experimental consistió en un recipiente plástico de 1 L con un respiradero tapado con malla antiáfidos, al cual se introdujo una plántula de tomate (*Solanum lycopersicum*) de aproximadamente 20 días de

germinada, previamente asperjada con 3 ml del tratamiento correspondiente. Cada recipiente se inoculó con 20 insectos introducidos a través de dos orificios, en los que se acopló un aspirador de insectos. Estos recipientes se mantuvieron en condiciones de invernadero con un fotoperiodo típico (figura 2).



**Figura 2.** Unidad experimental

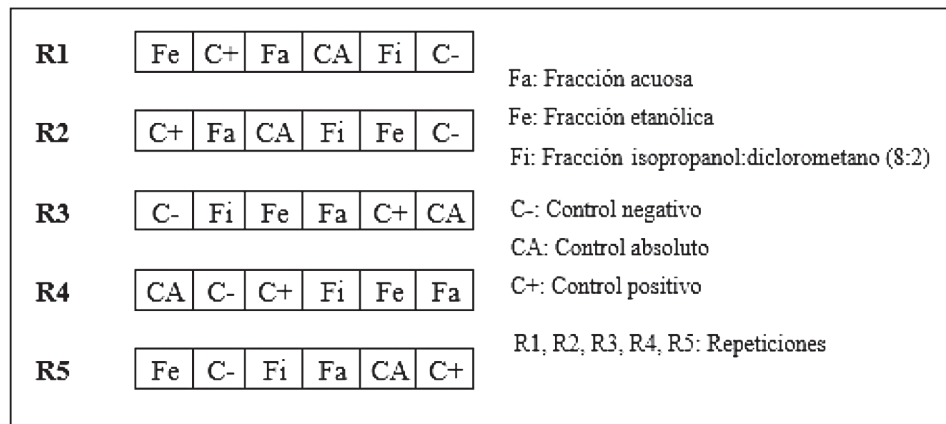
Se utilizaron un control positivo con imidacloprid como compuesto activo (Premise 20 SC), un control negativo con el vehículo de aplicación (etanol 96 % + agua, 1:1) y un control absoluto en que no se rociaron las plantas. El conteo de insectos muertos se realizó a las 24, 48 y 72 h, y se aceptó una mortalidad no mayor al 10 % en el control negativo. Con el propósito de eliminar la mortalidad de los insectos por causas ajenas al tratamiento, se determinó la mortalidad corregida (MC) según la fórmula de Abbott (ecuación 1) [35]. También se realizó un análisis de varianza y comparación múltiple de medias de Tukey ( $P = 0,05$ ), utilizando el programa estadístico Design Expert®, para evaluar diferencias significativas entre tratamientos.

$$MC = \frac{\%mortalidad\ tratamiento - \%mortalidad\ control\ negativo}{100 - \%mortalidad\ control\ negativo} \quad (\text{ecuación 1})$$

### Fraccionamiento del mejor extracto y bioensayo

Con el fin de hacer una aproximación al tipo de compuesto responsable de la actividad biocida, el extracto con mejor desempeño (*R. graveolens*) se fraccionó con solventes de polaridad creciente (isopropanol: diclorometano [8:2], etanol 96% y agua), en una columna de cromatografía. Primero se elaboró una cabeza de fracción mezclando 304 mg de extracto crudo con 1,5 g de resina Diaion® HP-20SS, que se diluyeron en una mezcla de etanol y agua (3:1); esta mezcla se llevó a sequedad en un concentrador SpeedVac. Se hicieron pasar 50 ml de cada solvente por la columna con ayuda de una bomba de succión. Cada fracción se colectó en balones; este procedimiento se realizó por duplicado de manera simultánea.

Cada fracción se llevó a sequedad en un rotavapor y se liofilizó. De cada una de ellas, se prepararon concentraciones de 5000 mg/L con las que se realizó un bioensayo de toxicidad con adultos de *B. tabaci*, empleando cinco repeticiones. El bioensayo se dispuso en bloques completos al azar (figura 3), manteniendo los mismos controles y monitoreando la temperatura y la humedad relativa.



**Figura 3.** Disposición del bioensayo con fracciones fitoquímicas de *R. graveolens*

## Resultados y discusión

### Obtención de extractos etanólicos vegetales

El rendimiento cuantitativo y cualitativo de la extracción, en gran medida se debe al solvente utilizado, pero no se cuenta con un método ni un solvente definidos, pues estos dependerán de la naturaleza de los compuestos por extraer, así como de factores tales como la naturaleza de la muestra, la concentración del solvente, la temperatura, el tiempo de contacto, el tamaño de partícula y la relación masa-solvente, entre otros [36].

En este trabajo se utilizó etanol debido a que es el solvente por excelencia en las extracciones vegetales por su bajo costo, baja toxicidad y eficiencia de extracción [37].

La extracción realizada fue asistida por sonicación, cuyos efectos mecánicos ocasionan la ruptura de las paredes celulares, facilitando la liberación de los componentes de la célula; también, inducen una mayor penetración del solvente en dichas células, aumentando los rendimientos de extracción, lo que a su vez reduce la necesidad de altas temperaturas operativas, permitiendo así la extracción de compuestos termolábiles [38].

Una vez obtenidos todos los extractos etanólicos de las plantas en estudio, se determinó la masa de los extractos liofilizados así como su porcentaje de rendimiento, tomando como referencia la masa seca inicial del material utilizado de cada especie vegetal (cuadro 3).

El porcentaje de rendimiento más bajo lo presentó la corteza de *E. cyclocarpum*, con tan solo un 0,25%. Tomando en cuenta que el disolvente utilizado fue etanol, se puede considerar que en la corteza de esta especie se encuentran una menor cantidad de metabolitos secundarios con polaridades altas.

Por otra parte, el porcentaje de rendimiento de extracción más alto lo presentó *A. muricata* (semillas) con un 5,95%. Las semillas son órganos de reserva en donde se da acumulación

de metabolitos secundarios [39]. Algunos autores han reportado buenos rendimientos de extracción a partir de semillas con etanol [40], [41] que superan los obtenidos por medio de métodos tradicionales como el prensado o el que utiliza hexano.

**Cuadro 3.** Rendimiento de extracción (%) de los extractos etanólicos de las plantas estudiadas

Material vegetal	Masa seca inicial (g)	Masa del extracto etanólico liofilizado (g)	Rendimiento de extracción (%)
<i>A. merrillii</i> (frutos)	200	9,4	4,70
<i>A. muricata</i> (semillas)	200	11,9	5,95
<i>Z. officinale</i> (raíz)	125	7,1	5,68
<i>C. longa</i> (raíz)	123	6,4	5,20
<i>A. merrillii</i> (hojas)	200	9	4,50
<i>R. graveolens</i> (hojas y flores)	200	8,6	4,30
<i>E. cyclocarpum</i> (hojas)	200	5,7	2,85
<i>E. cyclocarpum</i> (corteza)	600	1,5	0,25
<i>L. graveolens</i> (hojas)	200	7,8	3,90

En general, los rendimientos de extracción obtenidos en los nueve casos no fueron satisfactorios si se comparan con los obtenidos en otros estudios en que se utilizó etanol. Se recomienda que, para estudios posteriores, se considere incluir dentro del protocolo de extracción la agitación constante, el incremento de temperatura e, incluso, un pulverizado más fino de las muestras para aumentar el área de contacto.

#### Efecto de los extractos etanólicos en adultos de *B. tabaci*

Con respecto a las condiciones del invernadero de experimentación durante el tiempo en que transcurrió el bioensayo, la temperatura osciló entre 15,9 °C y 31,1 °C y la humedad relativa entre 26,1% y 60,7%. Estos dos factores abióticos influyeron en la dinámica poblacional y el desarrollo de *B. tabaci*. En el desarrollo de esta especie, se ha encontrado que 26 °C es la temperatura óptima para el crecimiento de la población, ya que muy baja (< 17 °C) o muy alta (> 32 °C), se retrasa el desarrollo [42]. Con respecto a la humedad relativa, se conoce que las poblaciones se desarrollan mejor cuando es alta (>60%), a menos de ese valor, se reduce la ovoposición. No obstante, el rango en que osciló este parámetro permite la supervivencia del insecto [1].

En todos los tratamientos, incluidos los controles, se observó un aumento en la mortalidad conforme aumentaban las horas de exposición. Asimismo, en presencia tanto del control negativo como del absoluto la mortalidad fue menor del 10% al término de las 72 h, lo cual da validez a los datos que dio el bioensayo (cuadro 4).

El control positivo (imidacloprid) fue el que mostró más actividad tóxica, pues se alcanzó un 82,2% de mortalidad al término de las 72 h.

A pesar de su eficiencia y su uso intensivo actual, existen registros sobre resistencia al imidacloprid en *B. tabaci*, observados por primera vez en 1996, en invernaderos en la región de Almería, en el sur de España. Otros estudios demostraron que las poblaciones de *B. tabaci*,



en las áreas de cultivo de algodón de Arizona, se volvieron ligeramente menos susceptibles al imidacloprid, de 1995 a 1997 [43], [44]. Es por esto que el imidacloprid actualmente está en riesgo de ineffectividad por resistencia, debido principalmente a la sobredosificación y a la alta frecuencia de aplicación [9], [45].

**Cuadro 4.** Mortalidad media (%) ( $\pm$ DS) de adultos de *B. tabaci* en plántulas de tomate rociadas con extractos etanólicos, en los diferentes periodos de evaluación (n=5)

Tratamiento	% promedio de mortalidad $\pm$ DS* (5000 mg/L)		
	24 h	48 h	72 h
<i>A. merrillii</i> (frutos)	4,0 $\pm$ 0,84	9,0 $\pm$ 1,30	15,9 $\pm$ 0,84
<i>A. muricata</i>	4,0 $\pm$ 1,14	7,0 $\pm$ 1,52	11,9 $\pm$ 1,14
<i>Z. officinale</i>	3,0 $\pm$ 0,84	4,0 $\pm$ 0,84	6,0 $\pm$ 0,84
<i>C. longa</i>	4,0 $\pm$ 1,52	8,0 $\pm$ 1,52	11,9 $\pm$ 1,52
<i>A. merrillii</i> (hojas)	5,0 $\pm$ 0,84	9,9 $\pm$ 0,71	13,9 $\pm$ 0,84
<i>R. graveolens</i>	6,0 $\pm$ 0,84	23,8 $\pm$ 0,84	35,7 $\pm$ 1,30
<i>E. cyclocarpum</i> (hojas)	7,0 $\pm$ 1,14	10,9 $\pm$ 1,30	12,9 $\pm$ 1,14
<i>E. cyclocarpum</i> (corteza)	3,0 $\pm$ 0,84	4,0 $\pm$ 0,84	6,0 $\pm$ 0,84
<i>L. graveolens</i>	3,0 $\pm$ 0,55	4,0 $\pm$ 0,84	8,0 $\pm$ 0,55
Control absoluto	2,0 $\pm$ 0,89	3,0 $\pm$ 0,55	7,0 $\pm$ 0,89
Control negativo	3,0 $\pm$ 1,14	5,0 $\pm$ 1,00	7,0 $\pm$ 1,14
Control positivo	35,7 $\pm$ 1,30	54,5 $\pm$ 0,71	82,2 $\pm$ 1,34

\* Desviación estándar

Ningún extracto etanólico ocasionó más de 16% de mortalidad media a las 72 h, a excepción del extracto de *R. graveolens*, el cual en promedio ocasionó la muerte de un 35,7 % de los insectos en ese periodo. La prueba del análisis de la varianza y comparación múltiple de medias de Tukey mostró diferencias significativas entre este extracto y todos los demás tratamientos. Esto sugiere que el extracto etanólico de ruda posee algún grado de actividad tóxica, aunque no tan efectiva como el insecticida imidacloprid.

Algunos autores han reportado altos niveles de toxicidad de extractos de ruda en mosca blanca. Romero *et al.* [5] evaluaron un extracto etanólico de *R. graveolens* en adultos de *B. tabaci*, utilizando hojas de calabacín y obtuvieron un 99,1 % de mortalidad a las 72 h. Por otro lado, un extracto hidroalcohólico de ruda recolectada en Colombia evidenció actividad insecticida (43,81 %) sobre *Trialeurodes vaporariorum* al ser aplicado por inmersión [30].

La baja mortalidad alcanzada con ruda y los demás extractos en comparación con los estudios citados (cuadro 1) puede obedecer a varias causas. El material de origen vegetal presentó variabilidad en el tipo y la concentración de sus compuestos debido a factores como la época del año, la ubicación geográfica, el tipo de suelo, la edad del material y el estado fenológico, entre otros.

La observación anterior se complementa con el hecho de que se ha encontrado que existen variaciones circadianas de los metabolitos secundarios presentes en las plantas. Duarte *et al.* [46] observaron que las hojas de *Lippia alba* contienen más carvona (terpenoide) en horas de la noche. Por ende, queda claro que una complicación difícil de paliar en el proceso de investigación de extractos vegetales para el desarrollo de insecticidas es la heterogeneidad

propia de los materiales de origen natural. Debido a esto, se hace necesario generar información de la composición de metabolitos secundarios de las plantas y su relación con las condiciones del entorno en el cual se encuentran. Al generarse información de estas variaciones, se podría llegar a estandarizar el uso del material vegetal e incluso, a evaluar condiciones de estrés a las cuales este puede ser sometido para incrementar la producción de cierto tipo de metabolitos.

### Obtención de fracciones y evaluación en bioensayos

Los resultados de los bioensayos sobre la actividad insecticida de los extractos etanólicos vegetales no fueron satisfactorios, tomando en cuenta que la concentración usada fue alta (5000 mg/L) y que la mortalidad máxima obtenida con el extracto crudo fue de tan solo 35,7%. A pesar de ello, se decidió fraccionar el extracto y evaluar la actividad tóxica de cada fracción. Luego de la obtención de las tres fracciones del extracto etanólico, se calculó el rendimiento de extracción de cada una, que dio como resultado un rendimiento total del 94 %.

Al evaluar los efectos de cada una de las particiones fitoquímicas en bioensayos, nuevamente el imidacloprid fue el que causó mayor mortalidad en adultos de *B. tabaci*, un 84,2 % a las 72 h. Además, tanto en el control negativo como en el absoluto la mortalidad no superó el 10 %, situación que valida los resultados obtenidos (cuadro 5).

De las particiones fitoquímicas evaluadas, la fracción isopropanol:diclorometano (Fi) causó la actividad tóxica más marcada, con un 38,7 % de mortalidad a las 72 h. Además, fue la que se acercó más a la tendencia mostrada por el extracto crudo, lo cual sugiere que los compuestos presentes en ella podrían ser los principales causantes de dicha actividad. Por su parte, la fracción acuosa (Fa) ocasionó tan solo un 17,9 % de mortalidad a las 72 h, debido a su concentración de componentes hidrofílicos de mayor polaridad, como los azúcares o los derivados azucarados como las saponinas [8].

En el caso de la fracción etanólica (Fe), al término de las 72 h hubo un 27,8 % de mortalidad, pero se comenzaron a ver síntomas de fitotoxicidad (enrollamiento, necrosis en las puntas de hojas y deshidratación del tejido foliar) en la plántula de tomate; a pesar de esto, la mortalidad en este tratamiento fue baja. Barboza *et al.* [47] también reportaron fitotoxicidad en hojas de cedro, por la partición del diclorometano de un extracto metanólico de *R. graveolens* al 0,0092 % m/v.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que los principales compuestos responsables de la actividad insecticida en adultos de *B. tabaci* son de baja polaridad, debido a que la fracción menos polar fue la más activa. Esto coincide con lo reportado por Cárdenas, Lugo y Roza [48], quienes evaluaron las concentraciones letales al 50% (CL50) y 90% (CL90), las cuales indican la concentración a la cual se espera que una sustancia produzca la muerte del 50% o 90% de los individuos, respectivamente. Los autores compararon la CL50 y CL90 obtenidas con extractos de ruda sobre larvas de mosquitos y sugieren que los solventes no polares concentran mejor las sustancias larvicidas contenidas en *R. graveolens*.

En vista de que la mosca blanca *B. tabaci* tiene un historial de generación de resistencia a los insecticidas utilizados para su combate [45], se recomienda recurrir al uso de la mayor cantidad de medidas no químicas, por lo que enfocar los controles en el manejo integrado de plagas haciendo uso de la fracción de *R. graveolens* obtenida en esta investigación (Fi) podría resultar una herramienta eficaz para mantener bajos niveles poblacionales de la plaga.

Un factor importante que considerar en la búsqueda de métodos alternativos para este fin es que además de ser eficaces para combatir las plagas, deben ser ambientalmente benignos y rentables económicamente. Una concentración efectiva muy alta, implicaría una alta demanda de materia prima para obtener el producto, aspecto de gran importancia, pues una de las barreras en el desarrollo de los plaguicidas botánicos ha sido el uso sostenible de la materia prima [5].

**Cuadro 5.** Mortalidad media (%) ( $\pm DS$ ) de adultos de *B. tabaci* en plántulas de tomate rociadas con las fracciones del extracto crudo, en los diferentes periodos de evaluación

Tratamiento	% promedio de mortalidad $\pm DS^{**}$ (5000 mg/L)		
	24 h	48 h	72 h
Fa*	4,0 $\pm$ 0,84	12,9 $\pm$ 0,55	17,9 $\pm$ 0,55
Fe*	8,9 $\pm$ 0,84	18,9 $\pm$ 0,45	26,8 $\pm$ 0,89
Fi*	20,8 $\pm$ 0,84	29,8 $\pm$ 0,71	38,7 $\pm$ 0,84
Control absoluto	2,0 $\pm$ 0,55	4,0 $\pm$ 0,84	8,0 $\pm$ 1,14
Control negativo	2,0 $\pm$ 0,55	6,0 $\pm$ 0,84	9,0 $\pm$ 1,10
Control positivo	39,6 $\pm$ 1,22	60,4 $\pm$ 1,79	84,2 $\pm$ 1,00

\*Fa: acuosa; Fe: etanólica; Fi: isopropanol: diclorometano (8:2)

\*\*Desviación estándar

Luego de haber obtenido tan solo un 38,7 % de mortalidad con la Fi, se consideró que no era viable realizar el cálculo de la CL50. En lugar de ello, se sugieren estudios posteriores que involucren extracciones del follaje de ruda con diferentes solventes y fraccionamientos más finos, que permitan una mejor aproximación a los compuestos activos contra *B. tabaci*.

## Conclusiones

Los rendimientos cuantitativos de la extracción etanólica llevada a cabo fueron del 0,25 % al 5,95 %. Los extractos etanólicos de las especies vegetales evaluadas mostraron baja actividad insecticida en los adultos de *B. tabaci* a la concentración de 5000 mg/L. El extracto etanólico de *R. graveolens* fue el más activo contra adultos de *B. tabaci*, ya que ocasionó un 35,7 % de mortalidad al término de las 72 h.-

Aunque aún son necesarios estudios adicionales para el aislamiento de sustancias y la estandarización del uso del material vegetal, los hallazgos presentados demuestran la existencia de un potencial en *R. graveolens* para ser usado como insecticida natural contra la mosca blanca.

Las tres particiones fitoquímicas del extracto crudo de *R. graveolens* mostraron actividad insecticida en el orden del 17,9 al 38,7 % en los adultos de *B. tabaci*, a la concentración de 5000 mg/L. Al término de las 72 h, la fracción etanólica comenzó a generar fitotoxicidad en las plántulas de tomate. Los hallazgos sugieren que la fracción menos polar (isopropanol: diclorometano [8:2]) es la que concentra los principales compuestos activos contra adultos de *B. tabaci*, por lo que se sugieren estudios posteriores que se centren en la búsqueda de compuestos de baja polaridad, de esta especie.

## Referencias

- [1] F.J. Morales, C. Cardona, J.M. Bueno e I. Rodríguez, "Manejo integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas", CIAT, Cali, Colombia, 2006.
- [2] S.S. Zaidi, R.W. Briddon, and S. Mansoor, "Engineering dual begomovirus *Bemisia tabaci* resistance in plants," *Trends Plant Sci.*, 22(1), pp. 6-8, 2017.
- [3] L. Hilje and G. Mora, "Promissory botanical repellents/deterrents for managing two key tropical insect pests, the whitefly *Bemisia tabaci* and the mahogany shootborer *Hypsipyla grandella*," in *Naturally Occurring Bioactive Compounds*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2006, pp. 379-403.

- [4] E. Cerna Chávez, *et al.*, "Variación en la susceptibilidad a insecticidas de *Bemisia tabaci* biotipo B alimentada sobre diferentes hospederos", *Phyton (Buenos Aires)*, 85(2), pp. 256-261, 2016.
- [5] R. Romero *et al.*, "Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca", *Rev. Protección Veg.*, 30, pp. 11-16, 2015.
- [6] P. Segovia *et al.*, "Efecto de extractos vegetales en mosca blanca bajo dos esquemas de aplicación", *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 2(1), pp. 1-7, 2015.
- [7] C.E. Ail Catzim *et al.*, "Insecticidal and repellent effect of extracts of *Pluchea sericea* (Nutt.) on adults of *Bemisia tabaci* (Genn.)", *Revista Chapingo (Serie Horticultura)*, 21(1), pp. 33-41, 2015.
- [8] E. Cruz, "Efecto de extractos vegetales en el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) bajo condiciones de laboratorio", tesis de maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, México, 2009.
- [9] L. Araya, E. Carazo y V. Cartín, "Diagnóstico del uso de insecticidas utilizados contra *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate y chile en Costa Rica", *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, 75, pp. 68-76, 2005.
- [10] L. Hilje, "Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate, en Costa Rica", *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 61, pp. 69-80, 2001.
- [11] E.L.L. Baldin *et al.*, "Botanical extr acts: alternative control for silverleaf whitefly management in tomato", *Hortic. Bras.*, 33(1), pp. 59-65, 2015.
- [12] A. Celis *et al.*, "Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae", *Agronomía Colombiana* 26(1), pp. 97-106, 2008.
- [13] L. Chien-Yih *et al.*, "Control of silverleaf whitefly, cotton aphid and kanzawa spider mite with oil and extracts from seeds of sugar apple," *Neotropical Entomology*, 38(4), pp. 531-536, 2009.
- [14] R.C. Prêdes *et al.*, "Actividad larvica y variación estacional del extracto de *Annona muricata* en *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)", *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), pp. 223, 2011.
- [15] A.D. Asmanizar and A.B. Idris, "Evaluation of *Jatropha curcas* and *Annona muricata* seed crude extracts against *Sitophilus zeamais* infesting stored rice," *Journal of Entomology*, 9(1), pp. 13-22, 2012.
- [16] C.M. Souza *et al.*, "Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*," *J. Pest Sci.*, 90, pp. 701-709, 2017.
- [17] A.M.V. Javier, V.R. Ocampo, F.A. Ceballo and P.A. Javier, "Insecticidal activity of crude ethanolic extracts of five Philippine plants against cabbage worm, *Crociodolomia pavonana* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae)," *Philippine Journal of Science*, 147(3), pp. 513-521, 2018.
- [18] A.R. Siddiqi *et al.*, "Effects of *Curcuma longa* extracts on mortality and fecundity of *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae)", *Ciênc. Agrotec.: Lavras*, 35(6), pp. 1110-1114, 2011.
- [19] C. Chioma and F. Ifeomah, "The efficacy of *Zingiber officinale* (Ginger-Zingiberaceae) crude extracts applied as individual and mixed with *Dennettia tripetala* (Pepperfruit-Annonaceae) against *Musca domestica* (housefly) larvae," *Journal of Experimental Agriculture International*, 17(5), pp. 1-9, 2017.
- [20] P. Guevara *et al.*, "Biocidal effect of a hexane-soluble extract of *Lippia graveolens* Kunth (Verbenaceae)," *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 17(4), pp. 342-349, 2018.
- [21] P.U. Rani, T. Venkateshwaramma, and P. Devanand, "Bioactivities of *Cocos nucifera* L. (Arecaceae) and *Terminalia catappa* L. (Myrtales: Combretaceae) leaf extracts as post-harvest grain protectants against four major stored product pests", *J. Pest Sci.*, 84, pp. 235-247, 2011.
- [22] D.F. Farias *et al.*, "Water extracts of Brazilian leguminous seeds as rich sources of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* L.," *An Acad. Bras. Cienc.*, 82(3), pp. 585-594, 2010.
- [23] M.M. Martínez *et al.*, "*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.: The biotechnological profile of a tropical tree," *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Arom.*, 11(5), pp. 385-399, 2012.
- [24] R.A. Freire-González y M. Vistel-Vigo, "Caracterización fitoquímica de la *Curcuma longa* L.", *Rev. Cub. Quím.*, 27(1), pp. 9-18, 2015.
- [25] M. Leyva *et al.*, "Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)", *Rev Cubana Med Trop*, 60(1), pp. 78-82, 2008.
- [26] U. Malik, I.A. Sadiq, U. Mani, H. Badamasi y I.A. Ahmed, "Evaluation of ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe) rhizome extract against whitefly (*Bemisia Tabaci* Genn.) on tomato (*Lycopersicon Lycopersicum* L.)", *The Journal of Applied Sciences Research.*, 2(2), pp. 93-96, 2015.
- [27] W. Zhang, H.J. McAuslane y D.J. Schuster, "Repellency of Ginger Oil to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on Tomato", *Journal of Economic Entomology*, 97(4), pp. 1310-1318, 2004.

- [28] U. Balqis *et al.*, "Cuticular surface damage of *Ascaridia galli* adult worms treated with *Veitchia merrillii* betel nuts extract in vitro", *Vet World*, 10(7), pp. 732-737, 2017.
- [29] M.L. Peschiutta *et al.*, "Effectiveness of Mexican oregano essential oil from the Dominican Republic (*Lippia graveolens*) against maize pests (*Sitophilus zeamais* and *Fusarium verticillioides*)", *Agriscientia*, 33(2), pp. 89-97, 2016.
- [30] C. Salazar, C.A. Betancourth y T. Bacca, "Evaluación de extractos vegetales sobre mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en frijol en condiciones de laboratorio", *Revista de Ciencias Agrícolas*, 20(1), pp. 50-61, 2003.
- [31] F. Silva *et al.*, "Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation", *Acta Scientiarum: Agronomy*, 33(1), pp. 37-43, 2011.
- [32] C.A. Hincapié, D. Lopera y M. Ceballos, "Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)", *Rev. Colomb. Entomol.*, 34(1), pp. 76-82, 2008.
- [33] L.C. Paz *et al.*, "Toxicity of the organic extract from *Annona muricata* L. (Annonaceae) seeds on *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) in cabbage cultivation (*Brassica oleracea* L.)", *Ciência Agrícola: Rio Largo*, 16(1), pp. 55-60, 2018.
- [34] P.C. Robledo-Reyes, R. González, G.I. Jaramillo y J. Restrepo, "Evaluación de la toxicidad de acetogeninas anonáceas sobre ninfas de *Periplaneta americana* L. (Dictyoptera: Blattidae)", *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, 9(1), pp. 54-61, 2008.
- [35] W.S. Abbott, "A method of computing the effectiveness of an insecticide", *J. Econ. Entomol.*, 18(2), pp. 265-267, 1925.
- [36] M. Soto García y M. Rosales Castro, "Efecto del solvente y de la relación masa/solvente sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*", *Cienc. Tecnol.: Maderas*, 18(4), pp. 701-714, 2016.
- [37] Y. Sánchez, "Fitoquímica de cinco especies del género *Baccharis* (*B. boyacensis* Cuatr., *B. lehmannii* Klatt, *B. macrantha* Kunth, *B. bogotensis* Kunth, *B. mutisiana* Cuatrec) endémicas del altiplano cundiboyacense", tesis de licenciatura, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia, 2010.
- [38] L. Wang and C.L. Weller, "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants", *Trends in Food Science & Technology*, 17, pp. 300-312, 2006.
- [39] R. González *et al.*, "Efecto insecticida de extractos vegetales sobre larvas de *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) en laboratorio", *Rev. Mex. Cienc. Agríc.*, 4(2), pp. 273-284, 2013.
- [40] C.O. Brossard González *et al.*, "Evaluación preliminar del etanol anhidro como solvente en la extracción de aceite de semillas de jatrofa (*Jatropha curcas* L.)", *Grasas y Aceites*, 61(3), pp. 295-302, 2010.
- [41] O.D. López *et al.*, "Lipid extraction from seeds of *Cucurbita pepo* L. (pumpkin)", *Rev. Cub. Plant. Med.*, 14(2), 2009 [en línea]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-7962009000200005&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-7962009000200005&script=sci_arttext&lng=en)
- [42] Q. Bao-li *et al.*, "Effect of temperature on the development and reproduction of *Bemisia tabaci* B biotype (Homoptera: Aleyrodidae)", *Entomologia Sinica*, 10(1), pp. 43-49, 2003.
- [43] F.J. Byrne *et al.*, "Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype *Bemisia tabaci* from Guatemala", *Pest Management Science*, 59, pp. 347-352, 2003.
- [44] A. Elbert and R. Nauen, "Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids", *Pest Management Science*, 56, pp. 60-64, 2000.
- [45] E.V. Cruces, "Los neonicotinoides y su uso seguro en la agricultura", tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, 2016.
- [46] S. Duarte *et al.*, "Estudio de la variación circadiana de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por destilación-extracción con solvente simultánea de hojas de *Lippia alba* (fam. Verbenaceae)", *Scientia et Technica*, 18(33), pp. 83-85, 2007.
- [47] J. Barboza *et al.*, "Fagodisuasión de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) y sus particiones sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae)", *Rev. Biol. Trop.*, 58(1), pp. 1-14, 2010.
- [48] E. Cárdenas, L. Lugo y A. Rozo, "Efecto tóxico del extracto acuoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) sobre larvas de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 y *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), en condiciones experimentales", *Entomotrópica*, 25(1), pp. 11-18, 2010.