

Actividad fagodisuasiva de las plantas *Tithonia diversifolia* y *Montanoa hibiscifolia* (Asteraceae) sobre adultos del insecto plaga *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae)

Gina Bagnarello¹, Luko Hilje^{2*}, Vanessa Bagnarello³, Víctor Cartín⁴ & Marco Calvo¹

1. Escuela de Química, Universidad Nacional (UNA). Heredia, Costa Rica; ginabagnarello@yahoo.com
 2. Departamento de Agricultura y Agroforestería, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Fax (506) 2558-2043; lhilje@catie.ac.cr
 3. Departamento de Investigación, Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED). San José, Costa Rica.
 4. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional (UNA). Heredia, Costa Rica.
- * Autor para correspondencia

Recibido 29-IX-2008. Corregido 22-III-2009. Aceptado 27-IV-2009.

Abstract: Phagodeterrent activity of the plants *Tithonia diversifolia* and *Montanoa hibiscifolia* (Asteraceae) on adults of the pest insect *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bemisia tabaci* (Gennadius) is a polyphagous, cosmopolitan and worldwide relevant pest, mainly acting as a virus vector on many crops. A sound preventive approach to deal with it would be the application of repellent or deterrent substances hopefully present in tropical plants, which in turn may contribute to take advantage of the remarkable rich Mesoamerican biodiversity. Therefore, extracts of two wild plants belonging to family Asteraceae, *Tithonia diversifolia* and “tora” (*Montanoa hibiscifolia*), were tested for phagodeterrence to *B. tabaci* adults. The crude leaf extract of each one, as well as four fractions thereof (hexane, dichlorometane, ethyl acetate, and methanol) were tested under greenhouse conditions; in addition, the extracts were submitted to a phytochemical screening to determine possible metabolites causing phagodeterrence. Both restricted-choice and unrestricted-choice experiments were conducted. In the former ones, each fraction was tested at four doses (0.1, 0.5, 1.0 and 1.5% v/v), which were compared with four control treatments: distilled water, endosulfan, an agricultural oil (Aceite Agrícola 81 SC), and the emulsifier Citowett. Tomato plants were sprayed and placed inside sleeve cages, where 50 *B. tabaci* adults were released. The criterion to appraise phagodeterrence was the number of landed adults on plants at 48h. For the unrestricted-choice experiments, only the two highest doses (1.0 and 1.5%) of the crude extracts of each species were tested, and compared to distilled water and the agricultural oil. The *Tithonia* and “tora” crude extracts caused phagodeterrence, and for both plant species the methanol fraction stood out. Results suggest that metabolites causing phagodeterrence are several sesquiterpenic lactones, polyphenolic compounds (flavonoids and tannins) and saponins. Rev. Biol. Trop. 57 (4): 1201-1215. Epub 2009 December 01.

Key words: *Bemisia tabaci*, whitefly, phagodeterrence, sesquiterpenic lactones, flavonoids, tannins, saponins, plant extracts.

La advertencia más formal, convincente y explícita acerca de la urgencia de conservar y aprovechar económicamente la biodiversidad tropical fue realizada hace dos decenios por Wilson (1988). Sin embargo, a pesar de contarse con numerosos organismos potencialmente útiles en la naturaleza tropical, es poco lo que se ha avanzado en el campo agrícola y, en

particular, en su utilización en programas de manejo de plagas (Hilje & Hanson 1998).

Esto es de gran importancia para plagas como la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), que es cosmopolita y de gran importancia mundial, sobre todo como vector de virus muy destructivos en tomate, chile, frijol, soya, yuca y melón,

tanto en regiones tropicales como subtropicales (Anderson & Morales 2005).

Aunque es un insecto muy polífago, que se puede desarrollar o reproducir en más de 500 especies, pertenecientes a 74 familias (Greathead 1986), se ha demostrado que puede ser afectada por numerosos principios de origen vegetal presentes en 17 familias (Hilje & Mora 2006). Curiosamente, aunque la familia Asteraceae contiene muchos representantes que son importantes hospedantes suyos (Greathead 1986), se ha demostrado que el extracto crudo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray causa fagodisuasión en los adultos de *B. tabaci* (Aguiar *et al.* 2003).

Sin embargo, subsiste la interrogante de cuáles grupos de metabolitos secundarios provocan dicho efecto. Esto podría ser importante desde el punto de vista industrial, en cuanto a la eventual posibilidad de manufacturar productos derivados de dicha planta o de utilizar algunas moléculas clave como pistas para la síntesis química (Hall & Menn 1999). Asimismo, convendría evaluar otras plantas de la misma familia que sean nativas de Mesoamérica y suficientemente abundantes, como para contar con suficiente materia prima para la industria.

Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad biológica de *T. diversifolia* y de *Montanoa hibiscifolia* Benth. sobre adultos de *B. tabaci*, con énfasis en la actividad fagodisuasiva de las particiones químicas de ambas especies y tratar así de identificar los posibles grupos de metabolitos que causan dicho efecto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización: Los experimentos entomológicos se efectuaron en un invernadero del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en Turrialba, en la vertiente Caribe de Costa Rica, a 9°52'N, 83°38'W y 640msnm, con promedios anuales de 22°C, 2479mm de precipitación y 87% HR. Por su parte, la investigación química se realizó en el Laboratorio de Investigación y Tecnología

Química (LIDETEQ), ubicado en la Escuela de Química de la Universidad Nacional.

La parte de la planta usada para esta investigación es únicamente el follaje para cada una de las plantas, la *T. diversifolia* fue recolectada el mes de setiembre del año 2005 en San Juan Sur, Turrialba (en los predios del CATIE) (9°53'N, 83°39'W,) y el de *M. hibiscifolia* se recolectó en setiembre del año 2005, en el INBioparque, en Santo Domingo, Heredia en la plantación ubicada por la laguna (9°58'N, 84°05'W).

Extractos evaluados: El follaje de cada especie se secó en un horno de convección a 40°C durante una semana, tras lo cual se realizó su molienda, con un tamiz de 3mm. Se tomó una muestra de 300g de cada una y se maceró en etanol al 70% durante una semana, a 4°C. Cada extracto hidroalcohólico fue filtrado al vacío con papel Whatman No. 4, y concentrado a presión reducida en un evaporador rotatorio. Cada extracto crudo se fraccionó con disolventes de polaridad creciente (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol). Después de separadas las fracciones, los extractos se concentraron a sequedad.

Tratamientos y diseño experimental

Con cada especie vegetal se efectuaron dos tipos de experimentos, uno de escogencia restringida (planta tratada con una sola concentración vs. testigo, en un espacio cerrado) y otro de escogencia irrestricta (plantas tratadas con varias concentraciones vs. testigos, en un espacio abierto). En ambos casos se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar y la unidad experimental correspondió a cada planta que recibió el tratamiento respectivo.

Escogencia restringida: Los adultos de *B. tabaci* (biotipo A) se expusieron a una planta de tomate tratada (con el extracto o las fracciones) versus el testigo absoluto. Ambos extractos se aplicaron en cuatro dosis: 0.1, 0.5, 1.0 y 1.5 (% v/v). Se efectuaron experimentos individuales y se compararon con cuatro tratamientos testigo:

aceite agrícola (1.5% v/v) (81 SC; Mobil Oil Corp., Memphis, Tennessee) (testigo relativo); endosulfán (Thiodan 35; Bayer CropScience, Argentina) como testigo químico (insecticida organoclorado), a la dosis recomendada comercialmente (2.5 mL/L de agua); Citowett (0.025% v/v) (BASF, Alemania) como agente tensoactivo; y agua destilada (testigo absoluto). En todos los tratamientos, las sustancias se mezclaron con el Citowett, para mejorar su adherencia al follaje.

Escogencia irrestricta: Para este experimento se escogieron las dosis más altas (1.0 y 1.5%) de cada extracto crudo. Se realizó en el invernadero, en macetas descubiertas, para exponer las plantas a la colonia de *B. tabaci* ahí presente. Las macetas, cada una con una planta de tomate, se colocaron sobre una mesa rodeada por plantas de berenjena infestadas por ninfas y adultos del insecto.

Plantas y aspersión: Los extractos se aplicaron a plantas de tomate con tres hojas, con ayuda de un atomizador DeVilbiss 15, de punta ajustable, conectado a una bomba de vacío (Cubillo & Hilje 1996), con una presión constante de 10kg/cm². Las plantas de cada tratamiento se asperjaron en forma separada, con 30mL para cada una de las cuatro dosis; se rociaron por el envés y el haz del follaje.

Manipulación de los insectos: Se capturaron 50 adultos de *B. tabaci*, de edad desconocida y sin sexar, con un succionador manual, de una colonia criada en plantas de tomate y berenjena, en un invernadero del CATIE.

Variables de respuesta: En los experimentos de escogencia restringida, para determinar la fagodisuasión se utilizó como criterio la cantidad de adultos posados sobre cada una de las dos plantas (tratada vs. testigo) después de 48h; se contaron entre las 10-12h, cuando la actividad del insecto es menor (Jovel *et al.* 2000). El criterio para la oviposición fue el número de huevos depositados en cada planta de tomate hasta las 48h, utilizando un estereoscopio. La

mortalidad se determinó contando el número total de adultos vivos dentro de cada jaula, tras verificar que los demás habían muerto, después de 48h; la comparación se hizo entre jaulas, independientemente de la planta donde estuvieran posados los adultos.

En el experimento de escogencia irrestricta se registró el número de adultos posados en las hojas asperjadas 1, 2, 8 y 15 días después de aplicado cada tratamiento. El número de ninfas grandes (instares I y II) se contó a los 15 días, en una cuadrícula de 1cm² de una de las hojas.

Todos los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA). Las medias de cada tratamiento se compararon mediante la prueba de Duncan, con un nivel de significancia de 0.05%, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS 1985).

Estudio fitoquímico: Se realizó un tamizado para determinar los metabolitos secundarios que contiene la totalidad de la planta de cada especie (Sharaipin *et al.* 2000). Al extracto se le realizaron diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados. Asimismo, se realizó cromatografía de capa fina (CCF) mediante una fase absorbente (FS) de gel de sílice Merck 60F₂₄₅, utilizando diferentes fases móviles (FM). Se identificaron los compuestos químicos mayoritarios mediante cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (MS), para lo cual se empleó un cromatógrafo Hewlett Packard serie 6890 acoplado con masas.

Se analizaron las fracciones más promisorias de ambas plantas. La separación cromatográfica se realizó usando una columna capilar Heliflex AT-1 (30m×0.32mm×0.3µm) Alltech, utilizando helio como gas de arrastre. La temperatura inicial fue de 150°C y la máxima de 325°C, con un tiempo inicial de 3min y un gradiente de 4°C por min; el tiempo total de corrida fue de 66min, a una presión de 13.28psi. Los compuestos fueron identificados mediante los datos del impacto electrónico de su masa espectral, el orden de elusión y el tiempo de retención relativo por CG, complementados

con la comparación de su masa espectral y los tiempos de retención por CG con compuestos conocidos, mediante el paquete de cómputo que se encuentra integrado al equipo.

RESULTADOS

Escogencia restringida: Debido a la naturaleza de los experimentos, las comparaciones correspondientes a la fagodisuasión y la respuesta de oviposición son válidas solamente entre tratamientos dentro de una misma jaula, y no entre jaulas. Sin embargo, para la mortalidad, las comparaciones sí son válidas entre jaulas.

En cuanto al extracto crudo de *T. diversifolia*, las plantas tratadas con las dos dosis mayores tuvieron menos adultos posados ($p < 0.05$) (Fig. 1A), y a esas dosis también hubo menor oviposición ($p < 0.05$) (Fig. 1B). Se observó una tendencia análoga a la del aceite agrícola. En relación con la mortalidad, ninguna de las dosis mostró diferencias con el testigo absoluto, aunque sí con el endosulfán, y tampoco difirieron ($p > 0.05$) del aceite agrícola (Fig. 1C).

Por su parte, con el extracto crudo de *M. hibiscifolia* con las cuatro dosis hubo menos adultos posados ($p < 0.05$), de manera análoga al aceite agrícola (Fig. 2A) y con todas hubo menor oviposición ($p < 0.05$), excepto al 0.5% (Fig. 2B). En cuanto a la mortalidad, no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre las dosis aplicadas; además, ninguna de ellas ni el aceite agrícola mostraron diferencias con el testigo absoluto ($p > 0.05$), pero sí con el endosulfán (Fig. 2C).

En relación con las fracciones de *T. diversifolia*, la única que no causó fagodisuasión fue la de acetato de etilo (Fig. 3A). Con la de hexano hubo menos adultos posados ($p < 0.05$) al 0.5%, sin que esa tendencia se mantuviera o incrementara a dosis mayores (Fig. 3B), mientras que con la de diclorometano sucedió algo parecido, pero con menos adultos posados ($p < 0.05$) al 0.1% (Fig. 3C). Finalmente, con la fracción de metanol hubo menos adultos posados ($p < 0.05$) a las dos dosis mayores (1.0 y 1.5%) (Fig. 3D). Con estas tres fracciones, la oviposición en general mantuvo las mismas

tendencias de la fagodisuasión, mientras que en la mortalidad ninguna dosis ni el aceite agrícola difirieron del testigo absoluto, aunque sí marcadamente ($p < 0.05$) del endosulfán.

En cuanto a las fracciones de *M. hibiscifolia*, las de acetato de etilo, hexano y diclorometano no causaron fagodisuasión, como sí lo hizo el aceite agrícola (Fig. 4A-C). En cambio, las plantas tratadas con la fracción de metanol tuvieron menos adultos posados ($p < 0.05$) en dos dosis, que no fueron continuas, 0.1 y 1.0% (v/v) (Fig. 4D). La oviposición en general mostró las mismas tendencias de la fagodisuasión, mientras que en la mortalidad ninguna dosis ni el aceite agrícola difirieron del testigo absoluto, aunque sí fuertemente ($p < 0.05$) del endosulfán.

Escogencia irrestricta: Por la naturaleza del experimento, las comparaciones correspondientes a la fagodisuasión y el desarrollo ninfal son válidas entre tratamientos (a diferencia de los de escogencia restringida), pues todos ellos estuvieron igualmente expuestos al mismo grupo de adultos de *B. tabaci* presente en el invernadero. En dicho experimento se compararon las dosis más promisorias de los extractos crudos de cada una de las plantas.

En el primer recuento, a las 24h de asperjados los extractos, hubo tres grupos de tratamientos, con los extremos ocupados por el testigo absoluto y el aceite agrícola, y todas las dosis de tonia y tora ocupando una posición intermedia, sin diferir ($p > 0.05$) del aceite agrícola, excepto la de tora al 1% (Fig. 5A). A las 48h, el número de adultos posados aumentó en todos los tratamientos, y las diferencias entre el testigo relativo y el absoluto se acentuaron mucho, mientras que ninguna de las dosis de los extractos difirió del testigo absoluto (Fig. 5B). Todas las diferencias se desvanecieron posteriormente (Fig. 5C-D). En cuanto a las ninfas, no hubo diferencias entre los tratamientos

Análisis fitoquímicos: El tamizado fitoquímico de *T. diversifolia* reveló la presencia de triterpenos y esteroides en los extractos crudos, etéreo y alcohólico (Cuadro 1). Además

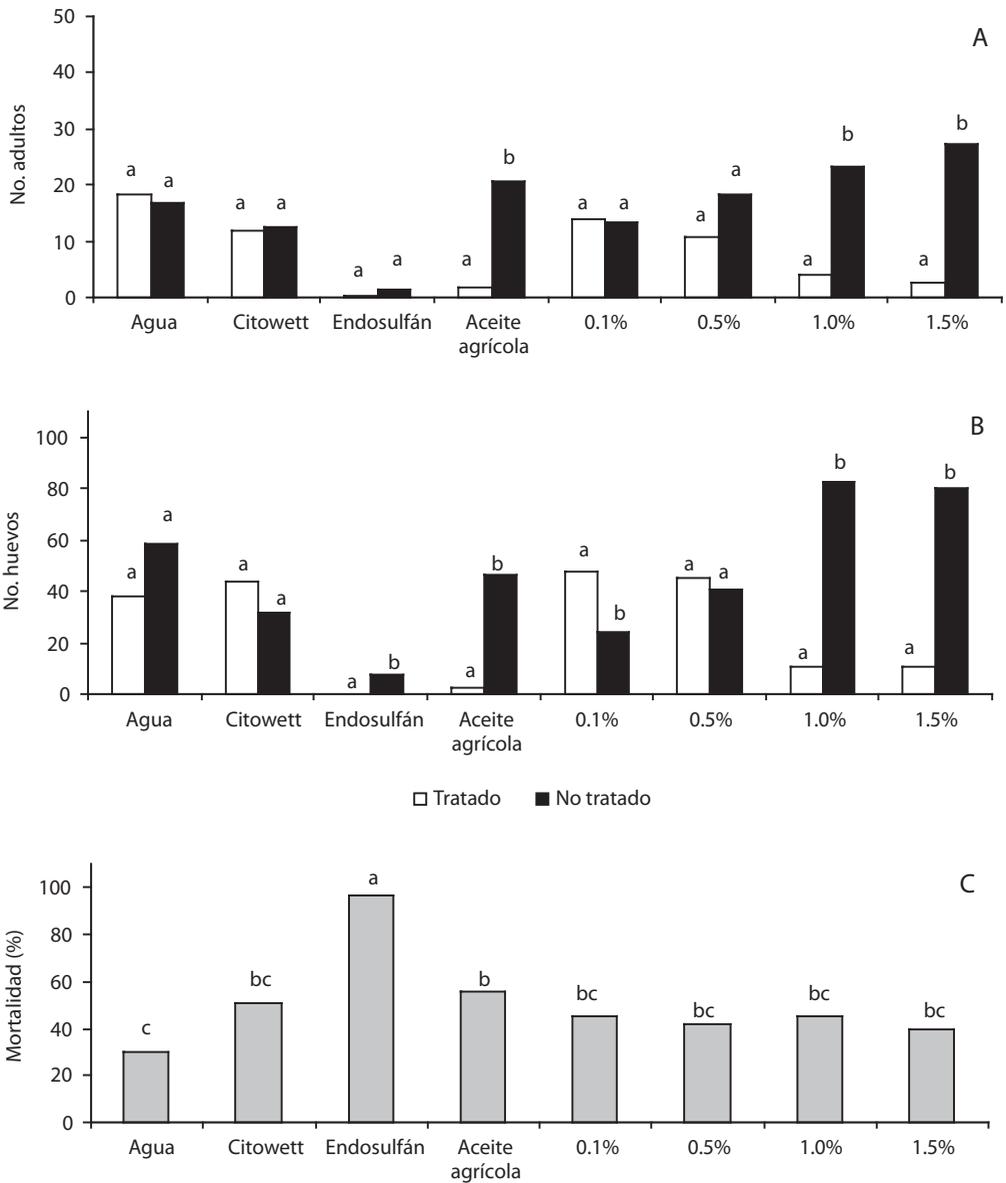


Fig. 1. Promedio de adultos de *B. tabaci* posados (A) y de huevos depositados (B) a las 48h de aplicado el extracto crudo de *T. diversifolia*, así como el porcentaje de adultos muertos (C) en ese intervalo. Los promedios con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí ($p>0.05$).

Fig. 1. Average number of landed *B. tabaci* adults (A) and deposited eggs (B) 48h after the *T. diversifolia* crude extract was applied to tomato plants, as well as the percentage of dead adults (C) in that interval. Means followed by the same letter in each pair of bars for A and B, and between all bars for C, are not significantly different ($p>0.05$).

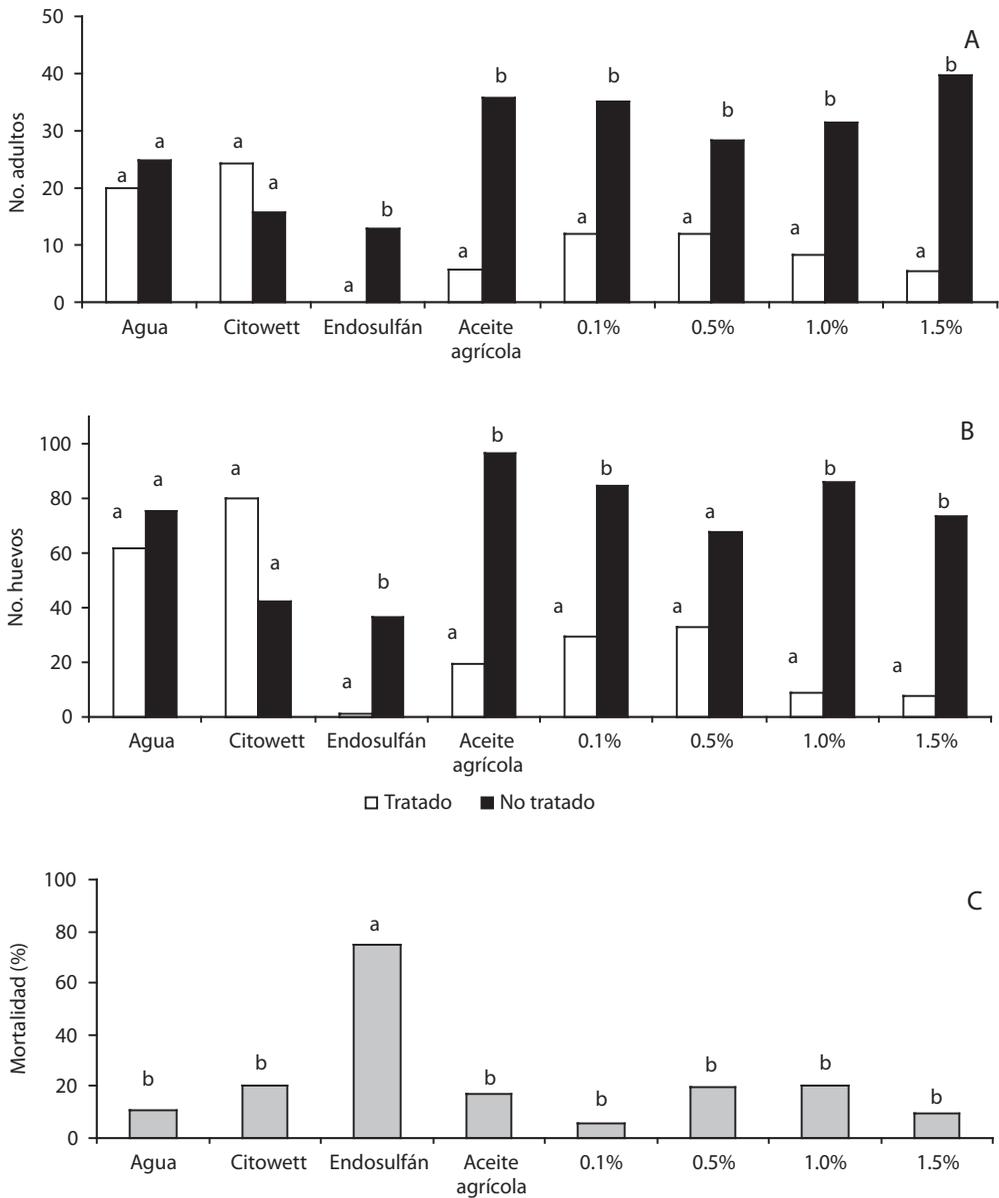


Fig. 2. Promedio de adultos de *B. tabaci* posados (A) y de huevos depositados (B) a las 48h de aplicado el extracto crudo de *M. hibiscifolia*, así como el porcentaje de adultos muertos (C) en ese intervalo. Los promedios con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí ($p>0.05$).

Fig. 2. Average number of landed *B. tabaci* adults (A) and deposited eggs (B) 48 h after the *M. hibiscifolia* crude extract was applied to tomato plants, as well as the percentage of dead adults (C) in that interval. Means followed by the same letter in each pair of bars for A and B, and between all bars for C, are not significantly different ($p>0.05$).

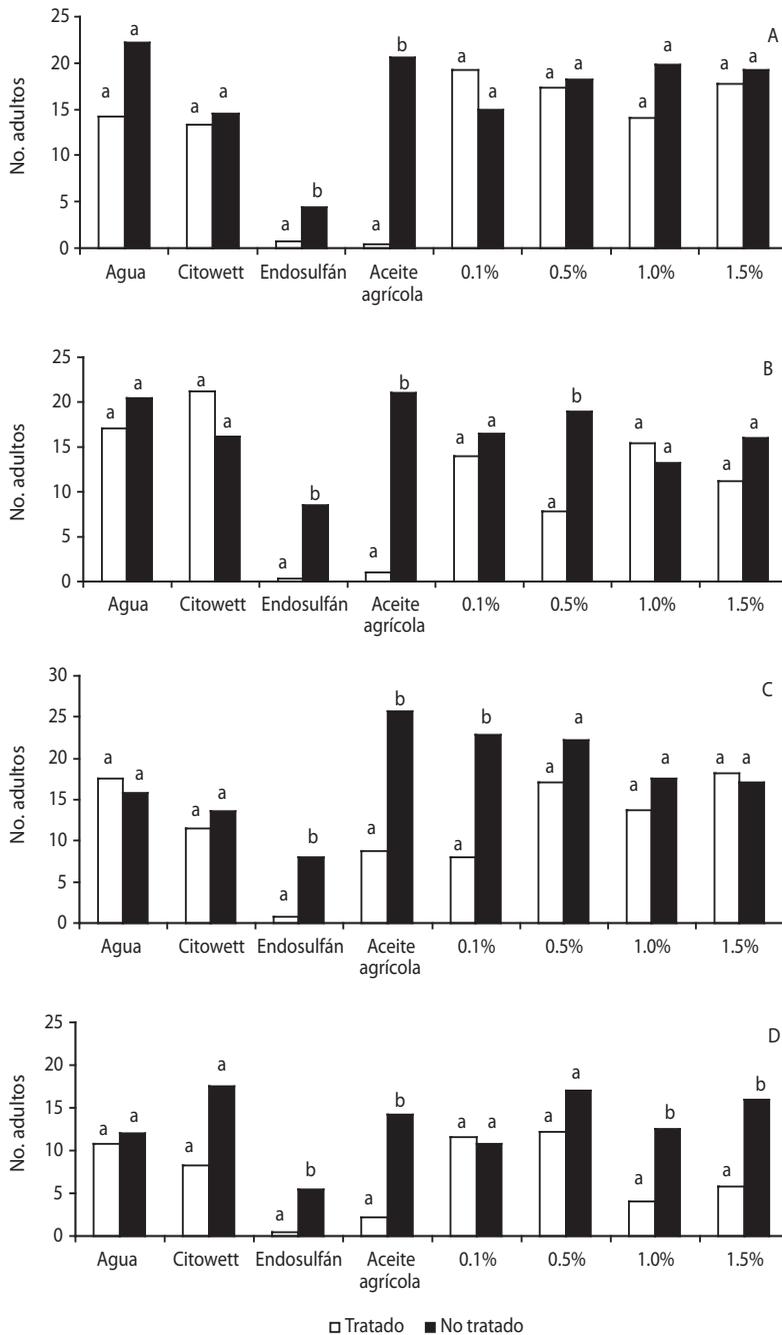


Fig. 3. Promedio de adultos de *B. tabaci* posados a las 48h de aplicadas las fracciones de acetato de etilo (A), hexano (B), diclorometano (C) y metanol (D) de *T. diversifolia*. Los promedios con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí ($p > 0.05$).

Fig. 3. Average number of landed *B. tabaci* adults 48 h after the ethyl acetate (A), hexane (B), dichlorometane (C) and methanol (D) fractions of *T. diversifolia* were applied. Means followed by the same letter in each pair of bars are not significantly different ($p > 0.05$).

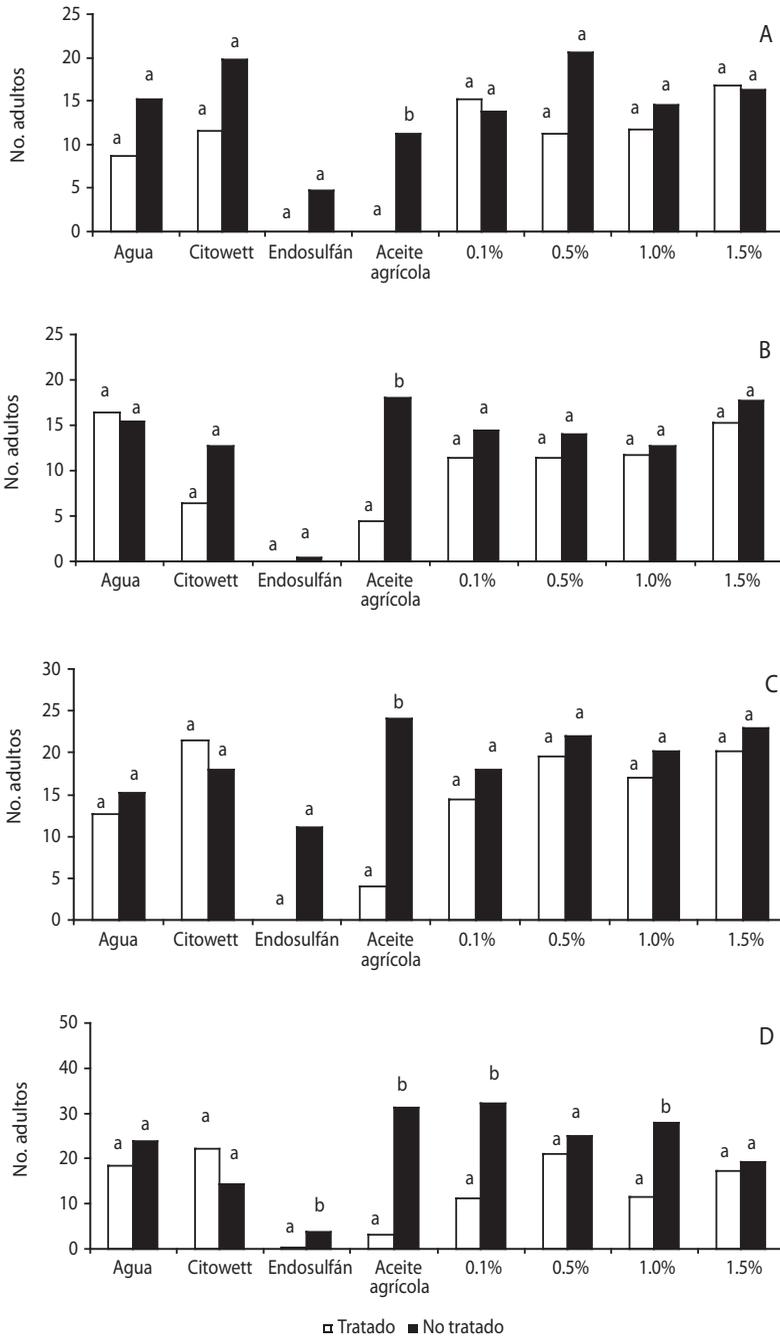


Fig 4. Promedio de adultos de *B. tabaci* posados a las 48h de aplicadas las fracciones de acetato de etilo (A), hexano (B), diclorometano (C) y metanol (D) de *M. hibiscifolia*. Los promedios con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí ($p > 0.05$).

Fig. 4. Average number of landed *B. tabaci* adults 48h after the ethyl acetate (A), hexane (B), dichlorometane (C) and methanol (D) fractions of *M. hibiscifolia* were applied. Means followed by the same letter in each pair of bars are not significantly different ($p > 0.05$).

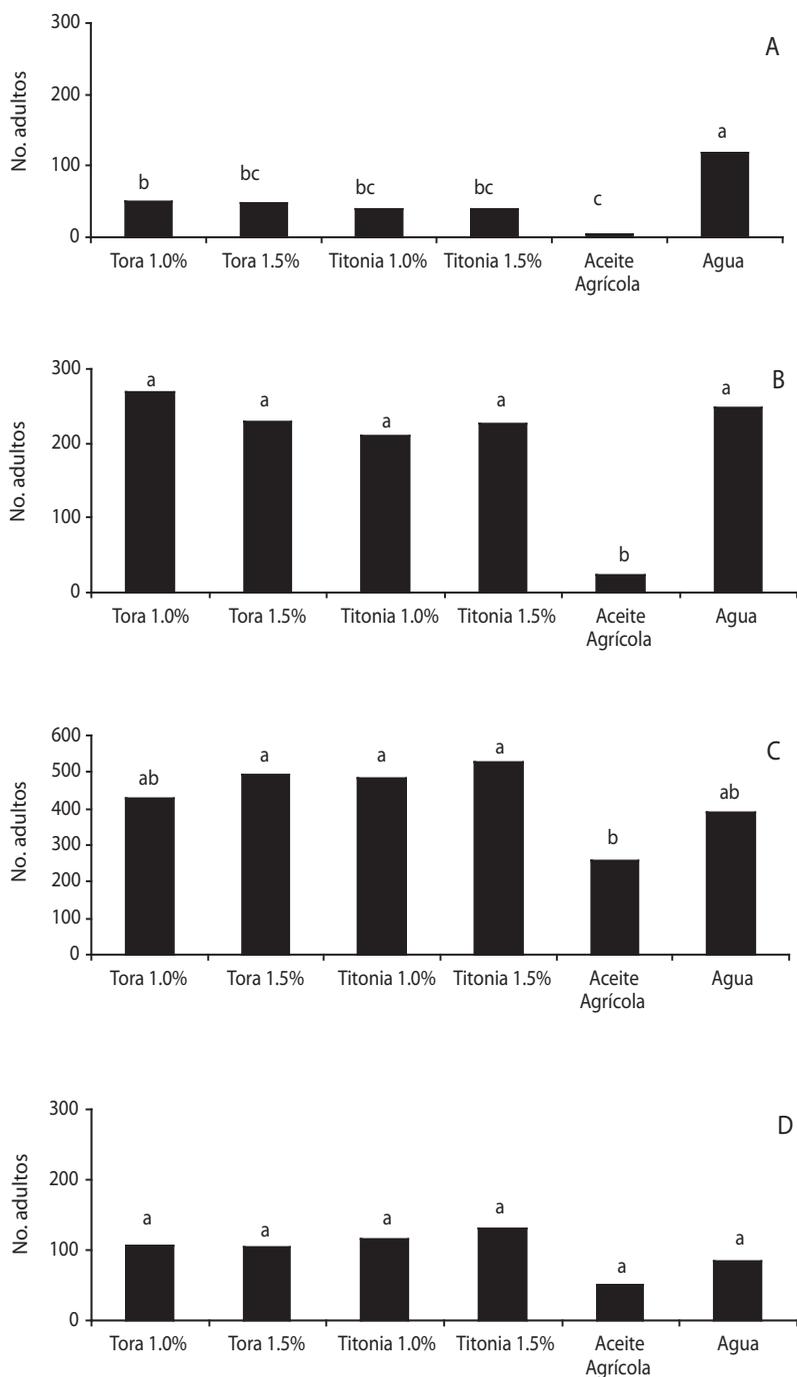


Fig. 5. Promedio de adultos de *B. tabaci* en el intervalo de 1 (A), 2 (B), 8 (C) y 15 días (D). Los promedios con una misma letra no difieren estadísticamente ($p > 0.05$).

Fig. 5. Average number of landed *B. tabaci* adults at intervals of 1 (A), 2 (B), 8 (C) and 15 days (D), in response to two concentrations of each one of *T. diversifolia* and *M. hibiscifolia* crude extracts, plus two control treatments (agricultural oil and water). Means followed by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$).

CUADRO 1
 Tamizaje fitoquímico realizado al follaje de *T. diversifolia*

TABLE 1
 Phytochemical screening of *T. diversifolia* foliage

Extracto	Prueba	Metabolito	Resultados	
			SH	H
Éter etílico	Liebermann-Buchard	Triterpenos y esteroides	+++	-
	Formación cristales	Ácidos grasos	/	+
Alcohólico	FeCl ₃	Taninos catéquicos	+++	/
	Fehling	Compuestos reductores	++	/
	Liebermann-Buchard	Triterpenos y esteroides	/	+++
Acuoso	Fehling	Compuestos reductores	+++	++
	Espuma persistente	Saponinas	-	++
	FeCl ₃	Taninos catéquicos	+++	+

SH=Sin hidrolizar; H= Hidrolizado; (/)=No se realizó esta prueba; Presencia cuantiosa = (+++), notable= (++) , leve= (+) y nula= (-).

se detectó la presencia tanto de compuestos reductores como polifenólicos en los extractos alcohólico y acuoso, así como de ácidos grasos en el extracto etéreo, y de saponinas y taninos condensados en el acuoso.

Asimismo, el análisis de las fracciones promisorias reveló la presencia de triterpenos y esteroides en la de hexano; de lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides, glicósidos cardiotónicos y cumarinas en la de diclorometano; y de compuestos polifenólicos (flavonoides y taninos), lactonas sesquiterpénicas y saponinas en la fracción de metanol (Cuadro 3).

Por su parte, el tamizado de *M. hibiscifolia* reveló la presencia de triterpenos y esteroides en los extractos etéreo y alcohólico, así como de compuestos reductores y polifenólicos en los extractos alcohólico y acuoso, y de saponinas en el acuoso (Cuadro 2). Además, en la fracción de metanol se detectaron compuestos polifenólicos (taninos), lactonas sesquiterpénicas y saponinas (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

En los extractos crudos del follaje de *T. diversifolia* y de *M. hibiscifolia* hay principios

químicos que causan fagodisuasión en los adultos de *B. tabaci*, lo cual corrobora los hallazgos de Aguiar *et al.* (2003) para la primera especie. Hay abundante información acerca de la capacidad de este insecto para responder a este tipo de sustancias, la cual ha sido compilada por Hilje & Mora (2006). Es posible que los adultos de *B. tabaci* discriminen al frotar el follaje de la planta con la punta del labio, donde poseen setas sensoriales pequeñas, cuya ultraestructura sugiere que son quimiorreceptores, o químicos y mecánicos a la vez, es decir, mecano-quimiorreceptores (Walker & Gordh 1989).

La fagodisuasión detectada se sustenta en que hubo mucho menos adultos en las plantas tratadas con ciertas dosis de ambos extractos crudos, asemejándose a lo ocurrido con el aceite agrícola, que actúa como un fagodisuasivo táctil, supuestamente (Larew & Locke 1990) y cuyo efecto sobre *B. tabaci* ha sido ampliamente demostrado (Hilje & Mora 2006). Además, su mortalidad fue casi despreciable, en contraste con la causada por el endosulfán, insecticida de eficacia comprobada contra dicho insecto (Hilje & Mora 2006); en este último tratamiento, tarde o temprano los adultos depositados

CUADRO 2
Tamizaje fitoquímico realizado al follaje de *M. hibiscifolia*

TABLE 2
Phytochemical screening of M. hibiscifolia foliage

Extracto	Prueba	Metabolito	Resultados	
			SH	H
Éter etílico	Liebermann-Buchard	Triterpenos y esteroides	-	++
	Shinoda	Agliconas de flavonoides	+	/
	FeCl ₃	Taninos catéquicos	+++	/
Alcohólico	Fehling	Compuestos reductores	+++	/
	Liebermann-Buchard	Triterpenos y esteroides	/	++
	Fehling	Compuestos Reductores	+++	++
Acuoso	Espuma persistente	Saponinas	++	++
	FeCl ₃	Taninos catéquicos	+++	-

SH=Sin hidrolizar; H= Hidrolizado; (/)=No se realizó esta prueba; Presencia cuantiosa = (+++), notable= (++) , leve= (+) y nula= (-).

CUADRO 3
Análisis de metabolitos presentes en los extractos promisorios de T. diversifolia y M. hibiscifolia

TABLE 3
Analysis of metabolites present in the promising extracts of T. diversifolia and M. hibiscifolia

	Revelamiento fitoquímico (reacciones en tubo)			
	Hexano (<i>T. diversifolia</i>)	Diclorometano (<i>T. diversifolia</i>)	Metanol (<i>T. diversifolia</i>)	Metanol (<i>M. hibiscifolia</i>)
Flavonoides				
Shinoda	-	-	+	-
FeCl ₃ 10%	-	-	+++	+++
Cardiotónicos				
Baljet	-	+	+	+
Kedde	-	+	+	+
Liebermann-Burchard	+++	+++	-	-
Taninos y fenoles				
FeCl ₃ 10%	-	-	+++	+++
Saponinas				
Prueba de espuma	-	-	++	++
Triterpenos y/o esteroides				
Liebermann-Burchard	+++	+++	-	-
Quinonas				
Börntrager	-	-	-	-
Lactonas sesquiterpénicas				
Baljet	-	+	+	+

Presencia cuantiosa (+++), notable (++) , leve (+) y nula (-).

en la jaula entraron en contacto con la planta tratada con el endosulfán, resultando muertos.

Sin embargo, estos resultados no se reflejaron de manera clara al evaluarse las particiones o fracciones de cada especie vegetal. Para *T. diversifolia* se detectó fagodisuasión con las fracciones de hexano, diclorometano y metanol, y para *M. hibiscifolia* solamente con la de metanol. Pero aún en estos casos las tendencias no fueron tan constantes y definidas. Esto quizás podría explicarse por la sinergia necesaria entre varios de sus componentes para que se exprese la fagodisuasión, como lo han sugerido otras investigaciones (Flores *et al.* 2008). Al respecto, Warthen & Morgan (1990) indican que cuando los compuestos puros se estudian de manera individual, a la misma concentración en que aparecen en las plantas, son menos activos que en la planta en sí, pero cuando se combinan puede haber un efecto multiplicativo, que produce una disuasión comparable al efecto causado por la planta misma.

Fue por esta razón que para los experimentos de escogencia irrestricta, los cuales se asemejan más a las condiciones de producción de tomate en ambientes protegidos, no se eligió ninguna de las fracciones, sino los extractos crudos de ambas especies. Sin embargo, no se cumplieron las expectativas, pues su efecto no superó las 48h, lo que revela la baja persistencia de los principios fagodisuasivos presentes en los extractos, sobre todo bajo las altas temperaturas que comúnmente se alcanzan en los invernaderos, a veces de 38-40°C.

Acerca de la identidad de dichos principios fagodisuasivos, en ambas especies vegetales el extracto con mayor actividad fue el de metanol, por lo que los metabolitos secundarios pertenecen a las mismas familias químicas.

Se corroboraron los hallazgos de otros autores, como la presencia en *T. diversifolia* de ácidos grasos en el extracto etéreo (Moronkola *et al.* 2006), y de saponinas y taninos condensados en el extracto acuoso (Tona *et al.* 1998), al igual que de la hispidulina, que es un flavonoide (Baruah *et al.* 1994). Además, hubo lactonas sesquiterpénicas en abundancia. También, en la fracción de diclorometano se detectó el

espatulenol, que es un sesquiterpeno presente *Artemisia herba-alba* y *A. monosperma* (Asteraceae) con fuerte actividad insecticida (85% de mortalidad) sobre *B. tabaci* (Mahmoud & Soliman 2007). Dichos autores también identificaron varios terpenos y sesquiterpenos en aceites esenciales extraídos de *Artemisia herba-alba* y *A. monosperma* y que, evaluados en condiciones de laboratorio sobre *B. tabaci*, demostraron causar un efecto disuasivo sobre este insecto.

Por su parte, para *M. hibiscifolia* se confirmó la presencia de lactonas sesquiterpénicas en el extracto de diclorometano y metanol (Müller *et al.* 2004), así como de tres triterpenos (acetato de β -amirina, palmitato de β -amirina y ácido caurenico) en el extracto de hexano (Calvo 1984).

Además, tanto *T. diversifolia* como *M. hibiscifolia* poseen taninos, cuyo efecto tóxico sobre los adultos de *B. tabaci* fue demostrado por Cavalcante *et al.* (2006). Dichos autores determinaron que de cuatro especies de plantas evaluadas (*Prosopis juliflora*, *Myracrodruon urundeuva*, *Leucaena leucocephala* y *Mimosa caesalpiniiifolia*), las que causaron mayor mortalidad fueron aquellas con mayor concentración de taninos. Estas son sustancias cuantitativas, por actuar como reductores digestivos, con un efecto proporcional a su concentración (Strong *et al.* 1984); reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de insectos, al inactivar las enzimas digestivas y generar un complejo de tanino-proteína de difícil digestión (Mello & Silva-Filho 2002).

En realidad, los metabolitos secundarios encontrados en mayor proporción en *T. diversifolia* y *M. hibiscifolia* corresponden a las lactonas sesquiterpénicas, que son principios amargos, los cuales quizás sean percibidos como tales por los receptores del insecto (Walker & Gordh 1989), y podría explicar el efecto fagodisuasivo observado. Por su parte, las saponinas, que están presentes en ambas especies, pueden reducir la oviposición en las hembras de *B. tabaci*, como lo determinaron Bouchelta *et al.* (2005) al analizar las saponinas presentes en el chile dulce

(*Capsicum frutescens*) dichas sustancias actúan inhibiendo el desarrollo del insecto.

En síntesis, está pendiente aún la identificación y caracterización de los principios fagodisuasivos específicos presentes en ambas especies vegetales y, una vez hecho esto, convendría evaluarlos solos y en combinaciones, para determinar la importancia de la sinergia, con miras al desarrollo de un producto comercial. De lograrse esto eventualmente, una ventaja con ambas especies es su disponibilidad, pues son plantas silvestres que quizás podrían domesticarse con facilidad, y de las que se podrían aprovechar otras características ventajosas, especialmente desde el punto de vista farmacológico.

Por ejemplo, *T. diversifolia* es originaria de Mesoamérica (Obafemi *et al.* 2006, Ogun-dare 2007) y se distribuye desde México hasta Costa Rica. Se encuentra en sitios abiertos, a elevaciones intermedias, con clima de húmedo a muy húmedo (Holdridge & Poveda 1975). Además de sus propiedades medicinales para el tratamiento de la diarrea, fiebre, hematomas, hepatitis, malaria y diabetes (Gu *et al.* 2002, Miura *et al.* 2002), así como antiproliferativas (Ziémons *et al.* 2007), tiene valor como abono verde, dados los altos contenidos foliares de nitrógeno, fósforo, calcio y potasio, por lo que tiene gran potencial en sistemas agroforestales (Kass 1999, Jorge 2005, Phan Thi & Merckx 2005); esto explica que se utilice ampliamente en Asia y África, en barbechos mejorados.

Por su parte, *M. hibiscifolia* también es nativa de Mesoamérica y se distribuye desde Guatemala hasta Costa Rica (Müller *et al.* 2004). Es común en bosques, orillas de caminos y pastizales, a elevaciones intermedias, con clima de húmedo a muy húmedo (Holdridge y Poveda 1975). Las lactonas sesquiterpénicas que contiene poseen actividad antiinflamatoria (Müller *et al.* 2004).

No obstante el valor medicinal de ambas especies, para el eventual desarrollo de un producto semi-rústico o industrial, los productos candidatos oportunamente deberían evaluarse en cuanto a sus efectos sobre las personas y la fauna silvestre y, de superarse estas etapas, convertirse en una opción que podría incorporar

valor agregado a un recurso poco utilizado de la abundante biodiversidad tropical.

AGRADECIMIENTOS

A Arturo Ramírez (CATIE), por su apoyo en los experimentos de invernadero. A las autoridades del Departamento de Agricultura y Agroforestería del CATIE y de la Escuela de Química de la UNA, por permitir la realización de los experimentos en sus instalaciones.

RESUMEN

Bemisia tabaci (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) es una plaga polífaga, cosmopolita y de gran relevancia mundial, sobre todo como vector de virus en numerosos cultivos, por lo que sería deseable un enfoque preventivo para su manejo. En tal sentido, podría recurrirse a la utilización de sustancias repelentes o disuasivas, algunas de ellas presentes en plantas tropicales, lo cual contribuiría al aprovechamiento de la rica biodiversidad mesoamericana. Por tanto, se evaluó la posible actividad fagodisuasiva sobre los adultos de *B. tabaci* de dos especies silvestres de la familia Asteraceae: titonia (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) y tora (*Montanoa hibiscifolia* Benth.). Para ello, en condiciones de invernadero se evaluaron los extractos crudos y cuatro fracciones (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol) de ambas especies, a los cuales se les hizo un análisis fitoquímico (tamizaje) el cual permitió determinar cuáles metabolitos presentes en *T. diversifolia* y *M. hibiscifolia* podrían causar fagodisuasión en *B. tabaci*. Se realizaron dos tipos de experimentos: de escogencia restringida y de escogencia irrestricta. En los primeros, cada fracción se evaluó a cuatro dosis (0.1, 0.5, 1.0 y 1.5% v/v), y se comparó con cuatro tratamientos testigo: aceite agrícola, endosulfán, un emulsificante (Citowett) y un testigo absoluto (agua). Se asperjaron plantas de tomate colocadas dentro de jaulas de manga, donde se liberaron 50 adultos de *B. tabaci*. Para determinar si existía fagodisuasión se utilizó como criterio el número de adultos posados a las 48h. Para el experimento de escogencia irrestricta se utilizaron las dos concentraciones más altas (1.0 y 1.5%) del extracto crudo de cada especie y se compararon con el aceite agrícola y agua. Los extractos crudos de titonia y tora causaron fagodisuasión, y para ambas especies la fracción de metanol fue la que más sobresalió. En conclusión, los resultados obtenidos en los bioensayos junto con los obtenidos en el análisis de los componentes químicos presentes, sugieren que los metabolitos causantes de la fagodisuasión son algunas lactonas sesquiterpénicas, compuestos polifenólicos (flavonoides y taninos) y saponinas.

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, mosca blanca, fagodisuasión, lactonas sesquiterpénicas, flavonoides, taninos, saponinas, extractos vegetales.

REFERENCIAS

- Aguiar, A., D.C. Kass, G.A. Mora & L. Hilje. 2003. Fagodisuasión de tres extractos vegetales sobre los adultos de *Bemisia tabaci*. *Man. Integr. Plagas y Agroecol.* (Costa Rica) 68: 62-70.
- Anderson, P.K. & F.J. Morales (eds.). 2005. Whitefly and whitefly-borne viruses in the tropics: building a knowledge base for global action. Publ. No. 341. CIAT, Colombia.
- Baruah, N.C., J.C. Sarma, N.C. Barua, S. Sarma & R.P. Sharma. 1994. Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and flavones from *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry* 36: 29-36.
- Bouchelta, A., A. Boughdad & A. Blenzar. 2005. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 9: 259-269.
- Cavalcante, G., A. Carrano & S. Dias. 2006. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. *Pesq. Agropec. Bras.* 41: 9-14.
- Calvo, G. 1984. Estudio fitoquímico de las hojas de la planta *Montanoa hibiscifolia* (Compositae). Tesis de Licenciatura. Escuela de Química. Universidad de Costa Rica, San Pedro, San José, Costa Rica.
- Cubillo, D. & L. Hilje. 1996. Repelentes, p. 77-83. *In* L. Hilje (ed.). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Serie Materiales de Enseñanza No. 37. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Flores, G., L. Hilje, G.A. Mora & M. Carballo. 2008. Antifeedant activity of botanical crude extracts and their fractions on *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adults: I. *Gliricidia sepium* (Fabaceae). *Rev. Biol. Trop.* 56: 2099-2113.
- Greathead A.H. 1986. Host plants, p. 17-26. *In* M.J.W. Cock (ed.). *Bemisia tabaci*-A literature survey. CAB Int. Inst. of Biol. Control, Silwood Park, UK.
- Gu, J.Q., J.J. Gills, E.J. Park, E. Mata-Greenwood, M.E. Hawthorne, F. Axelrod, P.I. Chavez, H.H. Fong, R.G. Mehta, J.M. Pezzuto & A.D. Kinghorn. 2002. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive activity. *J. Nat. Prod.* 65: 532-536.
- Hall, F.R. & J.J. Menn. 1999. *Biopesticides: Use and delivery*. Humana Press, Nueva Jersey, EEUU.
- Hilje, L. & P. Hanson. 1998. La biodiversidad tropical y el manejo integrado de plagas. *Man. Integr. Plagas* (Costa Rica) 48: 1-10.
- Hilje, L. & G.A. Mora 2006. Promissory botanical repellents/deterrents for managing two key tropical insect pests, the whitefly *Bemisia tabaci* and the mahogany shootborer *Hypsipyla grandella*, p. 379-403. *In* M. Rai & M.C. Carpinella (eds.). Naturally occurring bioactive compounds. *Advances in phytomedicine*, Vol. 3, Chapter 15. Elsevier, Amsterdam, Holland.
- Holdridge, L.R. & L. Poveda. 1975. *Árboles de Costa Rica*. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica.
- Jorge, P.S. 2005. Producción de biomasa, nutrientes y características de las raíces de especies de barbecho y la utilización de su biomasa como fuente de fósforo para el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Doctoral. Programa de Doctorado Conjunto CATIE-Universidad de Wales (Bangor). Turrialba, Costa Rica.
- Jovel, J., L. Hilje, C. Kleinn, V. Cartin & B. Valverde. 2000. Movimientos diarios de *Bemisia tabaci* en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. *Man. Integr. Plagas* (Costa Rica) 55: 49-55.
- Kass, D. 1999. Proyecto *Tithonia diversifolia*. Agroforestería en las Américas 6: 78.
- Larew, H.G. & J.C. Locke. 1990. Repellency and toxicity of a horticultural oil against whiteflies on *Chrysanthemum*. *HortScience* 25: 1406-1407.
- Mahmoud M. & M. Soliman. 2007. Phytochemical and toxicological studies of *Artemisia* L. (Compositae) essential oil against some insect pests. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 40: 128-138
- Mello, M.O. & M.C. Silva-Filho. 2002. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Braz. J. Plant Physiol.* 14: 71-81.
- Miura, T., K. Furuta, A. Yasuda, N. Iwamoto, M. Kato, E. Ishihara, T. Ishida & K. Tanigawa. 2002. Antidiabetic effect of nitobegiku in KK-Ay diabetic mice. *Amer. J. Chinese Med.* 30: 81-86.
- Moronkola, M.D., I.A. Ogunwande, T.M. Walker, W.N. Setzer & I.O. Oyewole. 2007. Identification of the main volatile compounds in the leaf and flower of

- Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. J. Nat. Med. 61: 63-66.
- Müller, S., R. Murillo, V. Castro, V. Brecht & I. Merfort. 2004. Sesquiterpene lactones from *Montanoa hibiscifolia* that inhibit the transcription factor NF-kappa B. J. Nat. Prod. 6: 622-630.
- Obafemi, C.A., T.O. Sulaimon, D.A. Akinpelu & T.A. Olugbade. 2006. Antimicrobial activity of extracts and a germacranolide type sesquiterpene lactone from *Tithonia diversifolia* leaf extract. Afr. J. Biotech. 5: 1254-1258.
- Ogundare, A.O. 2007. Antimicrobial effect of *Tithonia diversifolia* and *Jatropha gossypifolia* leaf extracts. Trends Appl. Sci. Res. 2: 145-150.
- Phan Thi, C. & R. Merckx. 2005. Improving phosphorus availability in two upland soils of Vietnam using *Tithonia diversifolia* H. Plant and Soil 269: 11-23.
- SAS Institute, 1985. SAS User Guide: Statistics, Version 6 Edition, SAS Institute Inc, Cary, Carolina del Norte, EEUU.
- Sharaipin, N., L. Machado, E. Souza, E. Valverde, E. Rocha & J.M. Lopes. 2000. Fundamentos de tecnologia de productos fitoterapéuticos. Editorial Convenio Andrés Bello, Bogotá, Colombia.
- Strong, D.R.; J.H. Lawton & T.R.E Southwood. 1984. Insects on plants: community patterns and mechanisms. Blackwell Scientific, Londres, Inglaterra.
- Tona, L., K. Kambu, N. Ngimbi, K. Cimanga & A.J. Vlietinck. 1998. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. J. Ethnopharm. 61: 57-65.
- Walker, G.P. & G. Gordh. 1989. The occurrence of apical labial sensilla in the Aleyrodidae and evidence for a contact chemosensory function. Entomol. Exp. Appl. 51: 215-224.
- Warthen, J.D. & E.D. Morgan. 1990. Insect feeding deterrents, p. 23-134. In E.D. Morgan & N.B. Mandava (eds.). CRC Handbook of Natural Pesticides, Vol. 6: Insect Attractants and Repellents. CRC Press, Boca Raton, Florida, EEUU.
- Wilson, E.O. (ed.). 1988. Biodiversity. National Academy Press Washington D.C., EEUU.
- Ziémons, E., V. Barillaro, E. Rozet, N. Wandji Mbakop, R. Lejeune, L. Angenot, L. Thunus & P. Hubert. 2007. Direct determination of tagitinin C in *Tithonia diversifolia* leaves by on-line coupling of supercritical carbon dioxide extraction to FT-IR spectroscopy by means of optical fibres. Talanta 71: 911-917.