

# REPELENCIA, MORTALIDAD Y OVIPOSICIÓN DE *Trialeurodes vaporariorum* (West.) CON ALCALOIDES DE *Erythrina americana* Mill.

## REPELLENCE, MORTALITY AND OVIPOSITION OF *Trialeurodes vaporariorum* (West.) WITH ALKALOIDS OF *Erythrina americana* Mill.

José L. Díaz-Núñez<sup>1</sup>, Ramón M. Soto-Hernández<sup>2</sup>, Cesar Rodríguez-Hernández<sup>3</sup>, Ruben San Miguel-Chávez<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Botánica. <sup>3</sup>Entomología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (alucard\_d\_n@hotmail.com), (msoto@colpos.colpos.mex), (crhernan@colpos.mx).

### RESUMEN

*Trialeurodes vaporariorum* (West.) es un fitófago que causa problemas en plantas de importancia económica y se controla, a manera de alternativa, con la aplicación de extractos vegetales, como los de *Erythrina americana* Mill. cuyas semillas contienen alcaloides. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad del extracto en metanol, fracciones y alcaloides de este material, aplicados sobre foliolos de frijol, en la repelencia, mortalidad y oviposición de adultos de *T. vaporariorum*. La repelencia se registró al contar el número de insectos posados en foliolos de frijol de 20 d de edad, bañados con los tratamientos, a las 3, 24, 48 y 72 h; y la mortalidad e inhibición de oviposición mediante el número insectos muertos y el número de huevos en plantas de frijol, de 20 d de edad, asperjadas con los tratamientos, a las 24 h. Los resultados se analizaron con ANDEVA y prueba de Tukey, o mediante, Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, y se realizó Probit. El extracto de metanol con un intervalo de 0.22 a 1.28 mg mL<sup>-1</sup> causó 50% de repelencia y mortalidad, pero no impidió oviposición; alcaloides libres en un intervalo de 0.05 a 1.75 mg mL<sup>-1</sup> produjeron 50% de repelencia y mortalidad, pero se requiere una concentración más alta para inhibir oviposición; y alcaloides liberados en un intervalo de 0.72 a 1.06 mg mL<sup>-1</sup> originaron 50% de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición. Los alcaloides β-eritroidina y erisodina en repelencia y mortalidad mostraron la misma actividad que los alcaloides libres y liberados, y en inhibición de oviposición β-eritroidina estimuló la oviposición y erisodina la inhibió 70%. El extracto en metanol y fracciones, y los alcaloides β-eritroidina y erisodina produjeron repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición en plantas de frijol; por lo tanto, se pueden usar en la protección de cultivos.

**Palabras clave:** mosca blanca, extracto de metanol, alcaloides libres, alcaloides liberados, β-eritroidina y erisodina.

\* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

Recibido: febrero, 2018. Aprobado: julio, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 53: 1071-1083. 2019.

### ABSTRACT

*Trialeurodes vaporariorum* (West.), or greenhouse whitefly, is a phytophagous insect that causes economically important damage to plants. It is controlled, alternatively, with plant extracts such as those of *Erythrina americana* Mill., whose seeds contain alkaloids. The objective of this study was to evaluate the activity of the methanol extract, fractions and alkaloids of this material applied on bean leaflets on repellence, mortality and oviposition of *T. vaporariorum* adults. Repellence was quantified on 20-day-old bean leaflets submerged in the treatments as the number of insects on the leaflets after 3, 24, 48 and 72 h. Mortality and inhibition of oviposition was determined at 24 h by the number of dead insects and the number of eggs on 20-day-old bean plants sprayed with the treatments. The results were analyzed with ANOVA and the Tukey test, or the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney U, and Probit was carried out. The methanol extract at a concentration of 0.22 to 1.28 mg mL<sup>-1</sup> caused 50% repellence and mortality but did not impede oviposition. The liberated alkaloids at concentrations of 0.05 to 1.75 mg mL<sup>-1</sup> produced 50% repellence and mortality, but a higher concentration is required to inhibit oviposition. Liberated alkaloids at concentrations of 0.72 to 1.06 mg mL<sup>-1</sup> caused 50% repellence, mortality and inhibition of oviposition. The alkaloids β-erythroidine and erysodine, in terms of repellence and mortality, showed the same activity as the free and liberated alkaloids. β-erythroidine stimulated oviposition and erysodine inhibited it by 70%. The methanol extract and fractions, as well as the alkaloids β-erythroidine and erysodine produced repellence, mortality and inhibited oviposition on bean plants. Therefore, they can be used for crop protection.

**Key words:** White fly, methanol extract, free alkaloids, liberated alkaloids, β-erythroidine and erysodine.

## INTRODUCCIÓN

**L**a mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum* (West.), es un fitófago que limita la producción de plantas con importancia económica como: fresa, frijol, papa, chile y tomate (Suarez *et al.*, 2015; Scotta *et al.*, 2014); debido a que es un vector de virus (Ferreres *et al.*, 2016) y excreta una substancia azucarada (mielecilla) que favorece el crecimiento de hongos fitopatógenos (McKee y Zalom, 2009). El control del fitófago se realiza con aplicación de insecticidas organosintéticos, pero ha desarrollado resistencia (Ortega *et al.*, 1998); además estos compuestos perjudican el ambiente y la salud humana (Devine y Furlong, 2007). Por este motivo se buscan alternativas y una de ellas es el uso de productos naturales de plantas que tienen función específica y selectiva, en varios casos inhiben la alimentación y oviposición, regulan el crecimiento y repelen al insecto plaga (Vázquez-Luna *et al.*, 2007; Miresmailli e Isman, 2014). Entre las plantas con productos naturales vegetales potenciales está *Erythrina americana* Mill., un árbol de la región centro y sur de México (García-Mateos *et al.*, 2001), de la cual se obtienen extractos orgánicos, fracciones y alcaloides de la semilla que presentan efecto antimicrobiano y nematicida (García-Mateos *et al.*, 2000), inhiben *in vitro* el crecimiento de hongos fitopatógenos (Ibarra *et al.*, 2009) y su toxicidad se ha evaluado en insectos como larvas de mosquitos (García-Mateos *et al.*, 2004). Pero no hay investigaciones del efecto en insectos plaga de cultivos agrícolas como la mosca blanca.

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad del extracto en metanol, los alcaloides libres y liberados (fracciones de alcaloides obtenidos después de realizar el esquema de extracción de alcaloides desde el extracto crudo en metanol) y los alcaloides  $\beta$ -eritroidina y erisodina de la semilla de *E. americana*, aplicados sobre foliolos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la repelencia, mortalidad y oviposición de adultos de *T. vaporariorum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar y tiempo de trabajo

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica del postgrado en Botánica, en el Área de Productos Naturales del postgrado en Entomología y Acarología, y en los invernaderos

## INTRODUCTION

**T**he whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (West.), is a phytophagous insect that limits production of economically important crops such as strawberries, beans, potatoes, chili and tomatoes (Suarez *et al.*, 2015; Scotta *et al.*, 2014) because it is a vector of virus (Fereres *et al.*, 2016) and excretes a sweet substance (honeydew) that favors growth of phytopathogenic fungi (McKee and Zalom, 2009). It is controlled with applications of organo-synthetic insecticides, but it has developed resistance (Ortega *et al.*, 1998). Moreover, these compounds harm the environment and human health (Devine and Furlong, 2007). For this reason, alternatives are sought. One of these is the use of natural products made from plants that have specific and selective function. In several cases, they inhibit feeding and oviposition, regulate growth and repel the insect pest (Vázquez-Luna *et al.*, 2007; Miresmailli and Isman, 2014). Among the plants that contain natural substances with potential use in natural control is *Erythrina americana* Mill., a tree native to the central and southern regions of Mexico (García-Mateos *et al.*, 2001). From the seed, organic extracts, fractions and alkaloids that have antimicrobial and nematicide effects can be obtained (García-Mateos *et al.*, 2000). These substances inhibit growth of phytopathogenic fungi *in vitro* (Ibarra *et al.*, 2009) and their toxicity has been evaluated against insects such as mosquito larvae (García-Mateos *et al.*, 2004). However, there are no studies of their effect on crop insect pests, such as the whitefly.

Therefore, the objective of this study was to evaluate the activity of methanol extract, free and liberated alkaloids (alkaloid fractions obtained after extraction of alkaloids from the raw methanol extract), and the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine from *E. americana* seeds applied on bean leaflets (*Phaseolus vulgaris* L.) in terms of repellence, mortality and oviposition of *T. vaporariorum* adults.

## MATERIALS AND METHODS

### Study site and duration

The study was conducted in the phytochemical laboratory of the graduate program in Botany in the Area of Natural Products of the graduate program in Entomology and Acarology, and in

generales de cristal del Colegio de Postgrados (CP), Campus Montecillo, Texcoco, estado de México, México. De abril 2016 a agosto 2017.

### Obtención de extracto, fracciones y alcaloides de la semilla de *E. americana*

Muestras de semilla de *E. americana* se recolectaron (Jardines de Ciudad Universitaria en la Ciudad de México), se molieron y procesaron para obtener, a través de una extracción en Soxhlet, el extracto en metanol (García-Mateos *et al.*, 2000). De este extracto se obtuvo la fracción de alcaloides libres y la de alcaloides liberados al realizar hidrólisis ácida (García-Mateos *et al.*, 2004). Estas fracciones se separaron por cromatografía en columna y en capa fina, y los alcaloides mayoritarios presentes en ellas se identificaron por espectroscopía de resonancia magnética nuclear y cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (Ibarra *et al.*, 2011).

### Soluciones de prueba

Del extracto y las fracciones se prepararon soluciones madres de  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  con  $0.08 \mu\text{L mL}^{-1}$  de monolaurato de polioxietilen sorbitano (Tween 20) y se usó 1 mL para hacer diluciones sucesivas hasta llegar a la concentración de  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ . Para los alcaloides  $\beta$ -eritroidina y erisodina se usó la concentración de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  para hacer disoluciones con Tween 20.

### Adquisición de adultos de mosca blanca

De una colonia de 1 año de edad establecida en el CP, se obtuvieron adultos de 3 a 6 d sin sexar y mantuvieron en pipetas Pasteur por 2 h en condiciones de inanición.

### Experimentos en *T. vaporariorum*

#### Evaluación de repelencia

Cuatro foliolos de frijol de 20 d de edad, variedad Canario 107 se bañaron por 5 s con 10 mL de los tratamientos del extracto en metanol y fracciones, a la concentración de 100 a  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ , y agua con Tween ( $0.08 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) y agua destilada (testigos negativos). Estos se acoplaron a goteros con agua, para colocarse en vasos transparentes de 1 L que se taparon con Tergalina (tela que permite la ventilación e impide que la mosca escape). A través de un orificio lateral de 5 mm en los vasos, se introdujeron 20 adultos de mosca blanca. El experimento se montó de manera aleatoria en una superficie plana. A las 3 h (88% o más de *T. vaporariorum* en los testigos), comenzó el conteo de mosca blanca posada en cada foliollo y se continuó a las 24, 48 y 72 h. La repelencia de cada repetición se calculó con la fórmula:

the general glass greenhouses of the Colegio de Postgrados (CP), Campus Montecillo, Texcoco, state of Mexico, Mexico, from April 2016 to August 2017.

### Preparation of the extract, fractions and alkaloids from seeds of *E. americana*

Samples of *E. americana* seeds were collected (in the Gardens of Ciudad Universitaria in Mexico City), ground and processed to obtain the methanol extract by extraction in Soxhlet (García-Mateos *et al.*, 2000). From this extract, the fraction of free alkaloids and that of liberated alkaloids by acid hydrolysis (García-Mateos *et al.*, 2004) were obtained. These fractions were separated by column and fine-layer chromatography. The majority alkaloids present in these fractions were identified by nuclear magnetic resonance spectroscopy and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (Ibarra *et al.*, 2011).

### Test solutions

With the extract and fractions,  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  mother solutions were prepared with  $0.08 \mu\text{L mL}^{-1}$  polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20); 1 mL was used to make the successive dilutions to a concentration of  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ . For the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine, a concentration of  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  was dissolved with Tween 20.

### Acquisition of whitefly adults

From a one-year-old colony established in CP, 3- to 6-day old adults were obtained. Without sexing, they were kept in Pasteur pipettes for 2 h in conditions of starvation.

### Experiments with *Trialeurodes vaporariorum*

#### Evaluation of repellence

Four leaflets from 20-d-old bean plants (variety Canario 107) were submerged for 5 s in 10 mL of the treatments of methanol extract and fractions at the concentration of 100 to  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$ , water with Tween ( $0.08 \mu\text{L mL}^{-1}$ ), and distilled water (negative controls). These treatments were put into eye droppers with water and placed in transparent 1 L recipients, which were covered with Tergaline (a cloth that allows ventilation but prevents flies from escaping). Through a 5 mm hole on the side of the recipients, 20 adult whiteflies were introduced. The experiment was set up randomly on a plane surface. Three hours later (88% or more *T. vaporariorum* in the controls), counting of whiteflies on each leaflet began and continued at 24, 48 and 72 h. Repellence of each replication was calculated with the formula:

$$\text{Repelencia} = (20 - \text{Nº de insectos posados}) \div 20) \times 100$$

Con esta fórmula se obtuvieron los promedios de repelencia de cada tratamiento, que se analizaron estadísticamente y se les realizó regresión con la concentración evaluada.

#### Evaluación de mortalidad e inhibición de oviposición

Cuatro plantas de frijol de 20 d de edad variedad Canario 107, se asperjaron con 30 mL de los tratamientos del extracto en metanol y fracciones, en la concentración de 100 a 0.0001 mg mL<sup>-1</sup>, agua con Tween (0.08 μL mL<sup>-1</sup>) y agua destilada (testigos negativos). De las plantas se seleccionó un folíolo y se le acopló una bolsa de Tergalina, para introducir 20 adultos de mosca blanca y en contacto directo con los tratamientos. A las 24 h se contó el número de insectos muertos con un microscopio estereoscópico para obtener la mortalidad, y el número de huevos, en una superficie del envés del folíolo de 1 cm<sup>2</sup>. La inhibición oviposición de cada repetición se calculó con la fórmula:

$$\text{Inhibición de oviposición} = (\text{H.A.-H.R.}) \div \text{H.A.} \times 100$$

donde, H.A. es el número de huevos promedio del testigo de agua destilada, y H.T. es el número de huevos de las repeticiones.

El promedio de inhibición de oviposición y mortalidad de cada tratamiento se obtuvieron, para hacer análisis estadísticos y regresiones con la concentración.

#### Evaluación comparativa de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición

Con los métodos anteriores de repelencia, mortalidad y oviposición se montó un experimento comparativo en el cual se usaron las disoluciones de 1 mg mL<sup>-1</sup> del extracto, las fracciones y los alcaloides β-eritroidina y erisodina, junto con los testigos negativos y un testigo positivo, que fue un extracto de tabaco obtenido por el método descrito por Estrada y Pamachagua *et al.* (2007), el cual se preparó de la misma manera que las disoluciones.

#### Análisis estadístico

Respecto a la normalidad (test de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (test de Bartlett) de los resultados de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición, se realizó estadística paramétrica (ANDEVA y prueba de Tukey) o no paramétrica (Kruskal Wallis y prueba de U de Mann-Whitney). El Análisis Probit se hizo con la repelencia y mortalidad corregida con la

$$\text{Repellence} = (20 - \text{Num. of insects on leaflet}) \div 20) \times 100$$

With this formula, repellence averages of each treatment were obtained and analyzed statistically; regression was carried out with the evaluated concentration.

#### Evaluation of mortality and inhibition of oviposition

Four 20-d-old bean plants, variety Canario 107, were sprayed with 30 mL of the treatments of methanol extract and fractions in concentrations of 100 to 0.0001 mg mL<sup>-1</sup>, water with Tween (0.08 μL mL<sup>-1</sup>) and distilled water (negative controls). One leaflet of each plant was selected and coupled to a Tergaline bag to maintain 20 adult whiteflies introduced into the bag in direct contact with the treatments. After 24 h, the number of dead insects were counted with a stereoscopic microscope, and the number of eggs was counted on 1 cm<sup>2</sup> of the underside of the leaflet. Inhibition of oviposition of each replication was calculated with the formula:

$$\text{Inhibition of oviposition} = (\text{H.A.-H.R.}) \div \text{H.A.} \times 100$$

where, H.A. is the average number of eggs in the distilled water control, and H.T. is the average number of eggs in the treatment replications.

The average inhibition of oviposition and of mortality of each treatment were obtained to enable statistical analysis and regressions with the concentration.

#### Comparative evaluation of repellence, mortality and inhibition of oviposition

With the methods of quantifying repellence, mortality and oviposition described above, a comparative experiment was set up in which the dissolutions of 1 mg mL<sup>-1</sup> of the extract, fractions and β-erythroidine and erysodine were used. Together with the negative controls, one positive control was used consisting of a tobacco extract obtained by the method described by Estrada and Pamachagua *et al.* (2007) and prepared in the same way as the dissolutions.

#### Statistical analysis

Regarding normalcy (Shapiro-Wilk test) and variance homogeneity (Bartlett test) of the results of repellence, mortality and inhibition of oviposition, parametric statistics (ANOVA and the Tukey test) or non-parametric (Kruskal Wallis and Mann-Whitney U test) was performed. The Probit Analysis

ecuación de Abbott (1925) y el testigo de agua, para registrar la Concentración de Repelencia media ( $CR_{50}$ ) y la Concentración Letal media ( $CL_{50}$ ). En la inhibición de oviposición no se realizó corrección, para registrar la Concentración de Inhibición de Oviposición Media ( $CIO_{50}$ ). En el análisis estadístico se usaron los programas IBM SPSS Statistics 22.0 y R Statistics 3.3.1. ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto en metanol se obtuvo un rendimiento de 21 g para alcaloides libres y de 2.0 g para alcaloides liberados. De las fracciones se logró aislar 1659 mg del alcaloide  $\beta$ -eritroidina y 315 mg de erisodina cuya identidad se confirmó por resonancia magnética nuclear y cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (Soto-Hernández *et al.*, 2012).

### Repelencia de *Trialeurodes vaporariorum*

La repelencia que generó el extracto en metanol se muestra en Cuadro 1, la de alcaloides libres en el Cuadro 2 y la de liberados en el Cuadro 3. Del extracto la repelencia menor fue 7.5% a la concentración de  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 24 h, y la repelencia mayor fue 90% a la concentración de  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 72 h. En alcaloides libres la repelencia más baja fue 13.7% a la concentración de  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 3 h, y la más alta fue 100%, a las 48 h y 72 h, con las concentraciones de 100 y  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ . Para los alcaloides liberados la repelencia menor fue 8.7% a la concentración de  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 3 h, y la repelencia mayor fue 100% a la concentración de  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 24 h. La actividad de repelencia aumentó con los días, se mantuvo por 72 h y los porcentajes fueron diferentes entre cada concentración, excepto los resultados de alcaloides libres donde la concentración  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  fue igual a la de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  a las 72 h.

El extracto en metanol tuvo una  $CR_{50}$  de 0.66 a  $0.78 \text{ mg mL}^{-1}$ , la de alcaloides libres fue 0.062 a  $0.90 \text{ mg mL}^{-1}$  y la de liberados de 0.48 a  $0.66 \text{ mg mL}^{-1}$ . Los intervalos de las  $CR_{50}$  se traslanan, lo cual indica que tienen una misma efectividad, y con un intervalo de 0.05 a  $1.76 \text{ mg mL}^{-1}$  generan 50% de repelencia durante 72 h.

Del extracto en metanol y fracciones de alcaloides de la semilla de *E. americana* la repelencia probablemente se produjo porque actuaron como un recubrimiento

was performed with repellence and mortality corrected with the Abbott equation (1925) and the water control, to register the median Repellence Concentration ( $RC_{50}$ ) and median Lethal Concentration ( $LC_{50}$ ). In oviposition inhibition correction was not carried out, in order to register Median Oviposition Inhibition concentration ( $OIC_{50}$ ). For the statistical analyses, IBM SPSS Statistics 22.0 and R Statistics 3.3.1. ( $p \leq 0.05$ ) were used.

## RESULTS AND DISCUSSION

The methanol extract yielded 21 g of free alkaloids and 2.0 g of liberated alkaloids. With the fractions, 1659 mg of the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and 315 mg erysodine were isolated; their identity was confirmed by nuclear magnetic resonance and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (Soto-Hernández *et al.*, 2012).

### *Trialeurodes vaporariorum* repellence

Table 1 shows the repellence caused by the methanol extract, Table 2 that of free alkaloids and Table 3 that of liberated alkaloids. The lowest repellence, 7.5%, was caused by the extract concentration  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  at 24 h. The highest repellence, 90%, was produced by the  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration. The lowest repellence to free alkaloids was 13.7% at the  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration at 3 h and the highest was 100% at 48 h and 72 h with the 100 and  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  concentrations. The lowest repellence to liberated alkaloids was 8.7% at the  $0.0001 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration at 3 h, while the highest was 100% at the  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration at 24 h. Repellence increased over time; it continued for 72 h and the percentages were different among the concentrations, except for the free alkaloids, whose  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration was equal to that of  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  at 72 h.

The  $RC_{50}$  of the methanol extract was 0.66 to  $0.78 \text{ mg mL}^{-1}$ , that of free alkaloids was 0.062 to  $0.90 \text{ mg mL}^{-1}$  and that of liberated alkaloids was 0.48 a  $0.66 \text{ mg mL}^{-1}$ . The intervals of the  $RC_{50}$  overlap, indicating that they are equally effective. With an interval of 0.05 to  $1.76 \text{ mg mL}^{-1}$  they generate 50% repellence for 72 h.

The methanol extract and alkaloid fractions from the *E. americana* seed probably produced repellence because they acted as a moderately toxic coating, which repelled for 72 h since they are non-

**Cuadro 1.** Porcentaje de repelencia y CR<sub>50</sub> de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol tratado con el extracto de metanol, a las 3, 24, 48 y 72 h.

**Table 1.** Percentage of repellence and RC50 for *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets treated with methanol extract at 3, 24, 48 and 72 h.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	Repelencia (%) ± Error estándar			
	3	24	48	72 h
100	81.2±6.2a	83.7±2.3a	85.0±2.0a	90.0±2.0a
10	68.7±1.2b	68.7±1.2b	72.5±1.4b	76.2±1.2b
1	57.5±1.4b	58.7±2.3c	61.2±2.3b	63.7±1.2c
0.1	43.7±2.3c	45.0±2.0d	47.5±3.2c	52.5±3.2cd
0.01	32.2±4.3c	32.5±2.5e	36.2±3.1c	41.2±2.3d
0.001	20.0±2.0c	21.2±2.3f	22.5±3.2d	25.0±3.0e
0.0001	10.0±2.0de	7.5±1.4g	11.2±1.4de	12.5±2.4f
Agua con Tween	8.7±1.2de	3.7±1.2g	3.7±2.3e	5.0±2.0f
Agua	5.0±2.8e	6.2±2.3g	2.5±2.5e	5.0±2.3f
*CR <sub>50</sub>	0.76	0.66	0.78	0.68
Intervalo	(0.26-1.25)	(0.25-1.06)	(0.27-1.28)	(0.24-1.12)

Las letras representan diferencias significativas entre promedios de porcentajes de repelencia de cada concentración (ANDEVA, p≤0.05; Tukey, p≤0.05). \*Resultados de análisis Probit de porcentajes de repelencia corregida (Z, p≤0.05) ♦ Different letters indicate significant differences between repellence percentages of each concentration (ANOVA, p≤0.05; Tukey, p≤0.05). \*Results of the Probit analysis of corrected repellence percentages (Z, p≤0.05).

**Cuadro 2.** Porcentaje de repelencia y CR<sub>50</sub> de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol tratado con alcaloides libres, a las 3, 24, 48 y 72 h.

**Table 2.** Repellence percentage and RC50 of *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets treated with free alkaloids, at 3, 24, 48 and 72 h.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	Repelencia (%) ± Error estándar			
	3	24	48	72 h
100	(93.7±1.2) 34.3a	(95.0±0.0) 34.5a	(100.0±0.0) 34.5a	(100.0±0.0) 32.5a
10	(85.0±2.0) 30.6a	(87.5±1.4) 30.5b	(93.7±1.2) 30.5b	(100.0±0.0) 32.5a
1	(67.5±1.4) 26.5b	(67.5±1.4) 25.5c	(75.0±2.0) 25.7c	(81.2±1.2) 26.5b
0.1	(57.5±1.4) 22.5c	(62.5±3.2) 23.5c	(68.7±3.1) 23.2c	(71.2±2.3) 22.5c
0.01	(43.7±2.3) 18.5d	(47.0±1.4) 18.5d	(51.2±1.2) 18.5d	(53.7±2.3) 18.2d
0.001	(30.0±2.0) 14.5e	(35.0±2.09) 14.5e	(37.5±2.5) 14.5e	(40.0±3.5) 14.7e
0.0001	(13.7±2.3) 9.0f	(17.5±1.4) 10.5f	(21.2±2.3) 10.5f	(26.2±2.3) 10.5f
Agua con Tween	(10.0±0.0) 6.5fg	(8.7±1.2) 6.2g	(3.7±1.6) 5.0g	(3.7±2.3) 32.5g
Agua	(7.5±1.4) 4.0g	(2.5±1.4) 2.7g	(2.5±1.4) 4.0g	(3.7±2.3) 32.5 g
*CR <sub>50</sub>	0.62	0.66	0.72	0.90
Intervalo	(0.06-1.18)	(0.07-1.25)	(0.07-1.37)	(0.05-1.76)

Las letras representan diferencias entre intervalos de porcentajes de repelencia de cada concentración (Kruskal Wallis, p≤0.05; U de Mann-Whitney, p≤0.05). \*Resultados de análisis Probit de porcentajes de repelencia corregida (Z, p≤0.05) ♦ Different letters indicate differences between intervals of repellence percentages of the concentrations (Kruskal Wallis, p≤0.05; Mann-Whitney U, p≤0.05).

\*Results of the Probit analysis of corrected repellence percentages (Z, p≤0.05).

de toxicidad moderada, el cual generó repelencia durante 72 h, al ser moléculas no volátiles que impidieron algún tipo de interacción entre la mosca blanca y el foliolos de frijol. Este efecto es similar al encontrado en la inhibición del crecimiento *in vitro* de hongos

volatile molecules that impeded interaction between the whitefly and the bean leaflet. A similar effect was found in the inhibition of *in vitro* growth of phytopathogenic fungi (Ibarra *et al.*, 2009). An effect that contrasts that of terpenes and phenols (Muñiz-

**Cuadro 3.** Porcentaje y CR<sub>50</sub> de repelencia de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol tratado con alcaloides liberados, a las 3, 24, 48 y 72 h.**Table 3.** Repellence percentages and RC50 of *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets treated with liberated alkaloids, at 3, 24, 48 and 72 h.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	Repelencia (%) ± Error estándar			
	○3	□24	□48	□72 h
100	90.0±2.0a	(100±0.0) 34.5a	(100±0.0) 34.5 <sup>a</sup>	(100±0.0) 34.5a
10	76.2±1.4b	(80.0±2.0) 30.5b	(82.5±1.4) 30.5b	(85.0±2.0) 30.5b
1	63.7±1.4c	(65.0±2.0) 26.5c	(67.5±1.4) 26.5c	(70.0±2.0) 26.4c
0.1	46.2±3.4d	(48.7±3.7) 22.3d	(51.2±4.2) 22.5d	(55.5±3.5) 22.4d
0.01	35.0±4.5d	(33.7±2.3) 18.3e	(37.5±2.5) 18.7d	(40.0±3.5) 18.7d
0.001	21.2±3.4e	(20.0±4.5) 14.0f	(22.2±3.2) 14.4e	(26.2±2.3) 14.5e
0.0001	8.7±1.2f	(10.0±1.0) 10.0g	(11.2±1.2) 9.5f	(13.7±1.2) 10.2f
Agua con Tween	8.7±1.2f	(6.2±1.2) 5.1h	(7.5±1.4) 6.0fg	(6.2±1.2) 5.0g
Agua	7.5±2.4f	(6.2±1.2) 5.1h	(5.0±2.0) 4.1g	(5.0±2.0) 4.2g
*CR <sub>50</sub>	0.66	0.48	0.55	0.61
Intervalo	(0.23-1.09)	(0.18-0.79)	(0.20-0.90)	(0.21-1.02)

Las letras representan diferencias significativas y diferencias entre promedios de porcentajes ( $\circ\Box$ ANDEVA,  $p \leq 0.05$ ; Tukey,  $p \leq 0.05$ ) e intervalos de porcentajes (Kruskal Wallis,  $p \leq 0.05$ ; U de Mann-Whitney,  $p \leq 0.05$ ) de repelencia de cada concentración. \*Resultados del Probit de porcentajes de repelencia corregida ( $Z$ ,  $p \leq 0.05$ ). ♦ Different letters indicate differences between intervals of repellence percentages of the concentrations (Kruskal Wallis,  $p \leq 0.05$ ; Mann-Whitney U,  $p \leq 0.05$ ). \*Results of the Probit analysis of corrected repellence percentages ( $Z$ ,  $p \leq 0.05$ ).

fitopatógenos (Ibarra *et al.*, 2009); un efecto contrasante se observa por terpenos y fenoles (Muñiz-Reyes *et al.*, 2016, Camarillo *et al.* 2009), los cuales son moléculas que producen repelencia, al saturar los quimiorreceptores olfativos del insecto plaga.

### Mortalidad e inhibición de oviposición de *Trialeurodes vaporariorum*

La mortalidad que causaron el extracto en metanol y fracciones, junto con la CL<sub>50</sub> se presentan en el Cuadro 4. El extracto en metanol con la concentración de 0.1 a 100 mg mL<sup>-1</sup> generó de 37.5 a 77.5% de mortalidad, los alcaloides libres de 46.2 a 97.5% y los liberados de 37.5 a 97.5%.

El Cuadro 5 muestra los resultados de inhibición de oviposición y CIO<sub>50</sub> del extracto en metanol y fracciones. El extracto en metanol tuvo porcentajes de inhibición bajos y estimuló la oviposición con la concentración de 100 mg mL<sup>-1</sup>. La fracción de alcaloides libres a la concentración de 0.1 a 100 mg mL<sup>-1</sup> inhibió de la oviposición, de 33.3 a 91.6% mientras que en la de alcaloides liberados (de 55.8 a 89.8%) se observó una estimulación de ésta a la concentración de 0.1 mg mL<sup>-1</sup>.

Reyes *et al.*, 2016; Camarillo *et al.* 2009), which are molecules that repel by saturating the olfactory chemoreceptors of the insect pest.

### Mortality and inhibition of oviposition of *Trialeurodes vaporariorum*

Mortality caused by the methanol extract and fractions, together with the LC50, is presented in Table 4. The methanol extract at the concentration of 0.1 to 100 mg mL<sup>-1</sup> caused 37.5 to 77.5% mortality, while the free and liberated alkaloids caused 46.2 to 97.5% and 37.5 to 97.5% mortality.

Table 5 shows the results of oviposition inhibition and OIC50 of the methanol extract and fractions. The methanol extract had low percentages of inhibition and stimulated oviposition at the concentration of 100 mg mL<sup>-1</sup>. The fraction of free alkaloids at a concentration of 0.1 a 100 mg mL<sup>-1</sup> inhibited oviposition by 33.3 to 91.6%, while liberated alkaloids (55.8 to 89.8%) stimulated oviposition at the concentration of 0.1 mg mL<sup>-1</sup>.

The LC<sub>50</sub> intervals of the methanol extract (0.22 a 1.06 mg mL<sup>-1</sup>), free alkaloids (0.16 a 0.81 mg mL<sup>-1</sup>) and liberated alkaloids (0.14 a 0.074 mg

**Cuadro 4.** Porcentaje de mortalidad y CL<sub>50</sub> de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol tratado con el extracto de metanol y fracciones, a las 24 h.**Table 4.** Percentage of mortality and LC<sub>50</sub> of *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets treated with methanol extract and fractions at 24 h.

Concentración mg mL <sup>-1</sup>	Extracto en metanol	Mortalidad (%) ± Error estándar	
		Alcaloides libres	Alcaloides liberados
100	(77.5±1.4) 22.5a	(97.5±1.4) 22.5a	(97.5±1.4) 22.5a
10	(62.5±1.4) 18.5b	(78.75±1.2) 18.5b	(77.5±1.4) 18.5b
1	(47.5±3.2) 14.2c	(56.2±2.3) 14.2c	(53.7±2.3) 14.5c
0.1	(37.5±1.4) 10.7c	(46.2±2.3) 10.7c	(37.5±4.3) 10.5d
Agua con Tween	(6.2±2.3) 5.5d	(10.0±0.0) 6.00d	(10.0±0.0) 5.5e
Agua	(2.5±1.4) 3.5d	(5.0±2.0) 3.00d	(7.5±1.4) 3.5e
*CL <sub>50</sub>	0.64	0.49	0.44
Intervalo	(0.22-1.06)	(0.16-0.81)	(0.14-0.74)

Las letras representan diferencias entre intervalos de porcentajes de cada concentración (Kruskal Wallis, p≤0.05; U de Mann-Whitney, p≤0.05). \*Resultados del Probit de porcentajes de mortalidad corregida (Z, p≤0.05) ♦ Different letters indicate differences between intervals percentages of the concentrations (Kruskal Wallis, p≤0.05; Mann-Whitney U, p≤0.05). \*Results of the Probit analysis of corrected mortality percentages (Z, p≤0.05).

**Cuadro 5.** Porcentaje de inhibición de oviposición y CIO<sub>50</sub> de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol tratado con el extracto de metanol y fracciones, a las 24 h.**Table 5.** Percentage of inhibition of oviposition and OIC<sub>50</sub> of the *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets treated with methanol extract and fractions 24 h.

Concentración (mg mL <sup>-1</sup> )	Extracto de metanol	Inhibición de oviposición (%) ± Error estándar	
		Alcaloides libres	Alcaloides liberados
100	(-57.5±4.2) 2.5e	(91.6±3.4) 22.5a	(89.8±1.9) 22.5a
10	(17.5±2.5) 21.5a	○(37.5±4.4) 14.0b	(62.6±5.8) 17.2b
1	(10.0±4.0) 16.7b	(33.3±14.0) 13.5bc	(55.8±1.9) 15.7b
0.1	(5.0±2.3) 13.5bc	○(33.3±11.7) 11.5bc	○(-2.04±0.0) 3.0d
Agua con Tween	(2.5±2.5) 11.5cd	(27.08±3.9) 10.0c	(16.6±10.5) 9.0c
Agua	(0) 9.5d	(0) 3.5d	(0) 7.5c
*CL <sub>50</sub>	N. C.	2.37	1.11
Intervalo		(1.96-2.79)	(0.71-1.50)

Las letras representan diferencias entre intervalos de porcentajes de inhibición de oviposición de cada concentración (Kruskal Wallis, p≤0.05; U de Mann-Whitney, p≤0.05). \*Resultados del Probit de porcentajes de inhibición de oviposición (Z, p≤0.05). ○Resultados que no se tomaron en cuenta para Probit. N.C. No se pudo calcular. Valor negativo indica estimulación de oviposición ♦ Different letters indicate differences between intervals of oviposition inhibition percentages of the concentrations (Kruskal Wallis, p≤0.05; Mann-Whitney U, p≤0.05). \*Results of the Probit analysis of corrected oviposition inhibition percentages (Z, p≤0.05). \*Results not considered for Probit. N.C. not calculated. A negative value indicates that oviposition was stimulated.

Los intervalos de CL<sub>50</sub> del extracto en metanol de 0.22 a 1.06 mg mL<sup>-1</sup>, los de alcaloides libres de 0.16 a 0.81 mg mL<sup>-1</sup> y liberados de 0.14 a 0.074 mg mL<sup>-1</sup> se traslaparon, esto indica una efectividad similar, y a una concentración de 0.14 a 1.06 mg mL<sup>-1</sup> produjeron 50% de mortalidad a las 24 h. Esta situación no se observó con los valores de intervalo de CIO<sub>50</sub> de alcaloides libres de 1.96 a 2.79 mg mL<sup>-1</sup> y liberados

mL<sup>-1</sup>) overlapped indicating similar effectiveness. At a concentration of 0.14 to 1.06 mg mL<sup>-1</sup> they produced 50% mortality at 24 h. This situation was not observed with the values of OIC<sub>50</sub> intervals of free (1.96 a 2.79 mg mL<sup>-1</sup>) and liberated (0.71 a 1.50 mg mL<sup>-1</sup>) alkaloids; thus, they were not equally effective.

de 0.71 a 1.50 mg mL<sup>-1</sup>, lo cual indica que no presentaron la misma efectividad.

La mortalidad causada por el extracto en metanol y fracciones de alcaloides de semilla de *E. americana*, probablemente se debió a un efecto similar al de insecticidas neonicotinoides, los cuales actúan como agonistas o antagonistas, o ambos, de receptores de acetil colina de tipo nicotínico (Devine y Furlong, 2007). En esta acción se interrumpe la transmisión nerviosa, altera el sistema muscular y causa la muerte del insecto (Rauch y Nauen, 2003).

Respecto a la actividad de estimular o inhibir la oviposición es probable que se originó también por la actividad de los alcaloides de actuar como un recubrimiento de toxicidad moderada (Ibarra *et al.*, 2009).

### Resultados del análisis comparativo

Los resultados del análisis comparativo de repelencia del extracto en metanol, alcaloides libres, alcaloides liberados,  $\beta$ -eritroidina y erisodina, en el intervalo de 3 a 72 h, se presentan en el Cuadro 6. El porcentaje más bajo de repelencia lo tuvo el extracto en metanol, 43.7% a las 48 h. La repelencia más alta la mostró el alcaloide  $\beta$ -eritrodina, 86.2% a las 3 h. El extracto, las fracciones,  $\beta$ -eritroidina y erisodina, en el intervalo de 3 a 72 h, tuvieron porcentajes de repelencia menores que el extracto de tabaco, pero los porcentajes del testigo positivo fueron similares ( $p>0.05$ ) a los de alcaloides libres,  $\beta$ -eritroidina y erisodina a las 3 h, y a los alcaloides libres y  $\beta$ -eritrodina a las 24 h. La persistencia se perdió a las 48 y 72 h.

**Cuadro 6.** Porcentaje de repelencia de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol del análisis comparativo, a las 3, 24, 48 y 72 h.  
**Table 6.** Repellence percentage *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflet, comparative analysis at 3, 24, 48 and 72 h.

Tratamientos (1 mg mL <sup>-1</sup> )	□3	Repelencia (%) ± Error estándar		
		□24	○48	□72 h
Extracto en metanol	(55.0±2.0) 10.6d	52.5±4.3c	(43.7±6.5) 10.5d	(53.7±6.2) 10.8e
Alcaloides libres	(78.7±1.2) 22.6ab	76.2±1.2ab	(73.7±1.2) 21.3b	(76.2±2.3) 23.7b
Alcaloides liberados	(70.0±4.5) 17.2c	72.5±3.2b	(67.5±1.4) 16.2c	(65.0±2.0) 15.0d
$\beta$ -eritrodina	(86.2±8.0) 24.2ab	77.5±4.3ab	(75.0±3.5) 22.5b	(76.2±1.2) 23.6b
Erisodina	(78.7±1.2) 22.3ab	71.2±1.2b	(75.0±4.0) 21.8b	(71.2±3.1) 19.7c
Extracto de tabaco	(87.5±6.6) 25.8a	87.5±1.2a	(91.2±1.2) 30.5a	(90.0±3.5) 30.0a
Agua con Tween	(6.2±1.2) 5.0e	7.5±1.4d	(6.2±1.2) 4.8e	(8.7±1.2) 5.8f
Agua	(7.5±1.4) 4.0e	7.5±2.5d	(5.0±2.0) 4.1e	(2.5±2.5) 3.1f

Las letras representan diferencias significativas y diferencias entre promedios de porcentajes (○ANOVA,  $p\leq 0.05$ ; Tukey,  $p\leq 0.05$ ) e intervalos de porcentajes de repelencia de los tratamientos (□Kruskal Wallis,  $p\leq 0.05$ ; U de Mann-Whitney,  $p\leq 0.05$ ) ♦ Different letters indicate significant differences and differences between average repellence percentages (○ANOVA,  $p\leq 0.05$ ; Tukey,  $p\leq 0.05$ ) and intervals of repellence percentages of the treatments (□Kruskal Wallis,  $p\leq 0.05$ ; Mann-Whitney U,  $p\leq 0.05$ ).

The mortality caused by the methanol extract and alkaloid fractions from *E. americana* seeds was likely due to an effect similar to that of neonicotinoid insecticides, which act as agonists or antagonists, or both, of acetylcholine receptors of nicotinic type (Devine and Furlong, 2007). This action interrupts nerve transmission, alters the muscular system, and causes the insect's death (Rauch and Nauen, 2003).

Regarding the stimulation or inhibition of oviposition, it is probable that it also originates in the activity of the alkaloids acting as moderately toxic coating (Ibarra *et al.*, 2009).

### Results of the comparative analysis

The results of the comparative analysis of the methanol extract, free alkaloids, and the liberated alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erisodine, in the interval of 3 to 72 h, are presented in Table 6. The methanol extract had lowest percentage of repellence, 43.7%, at 48 h. The alkaloid  $\beta$ -erythroidine had the highest repellence, 86.2%, at 3 h. The extract, the fractions,  $\beta$ -erythroidine and erisodine, in the interval of 3 to 72 h had lower repellence percentages than the tobacco extract, but the percentages of the positive control were similar ( $p>0.05$ ) to those of the free alkaloids,  $\beta$ -erythroidine and erisodine, at 3 h, and to the free alkaloids and  $\beta$ -erythroidine at 24 h. Persistence was lost at 48 and 72 h.

Table 7 shows the results of mortality and inhibition of oviposition of the comparative analysis of the methanol extract, free alkaloids, and

En el Cuadro 7 se muestran los resultados de mortalidad e inhibición de oviposición del análisis comparativo del extracto en metanol, alcaloides libres, alcaloides liberados,  $\beta$ -eritroidina y erisodina. La menor mortalidad la produjo el extracto en metanol 32.5% y la mayor fue la de  $\beta$ -eritroidina con 56.2%, valores menores a los del extracto de tabaco con 86.2% de mortalidad. En la prueba de inhibición de oviposición, la erisodina produjo 70%, valor mayor al del testigo positivo (40%), mientras que el extracto en metanol, fracciones y  $\beta$ -eritrodina, estimularon oviposición.

El incremento de repelencia y mortalidad del extracto en metanol, los alcaloides  $\beta$ -eritrodina y erisodina, se debió probablemente a un incremento de toxicidad relacionado con la pureza de estos (García-Mateos *et al.*, 2004). El extracto en metanol, fracciones y los alcaloides  $\beta$ -eritrodina y erisodina tuvieron una toxicidad moderada en mosca blanca, con la concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup>; similar a la que de diferentes seres vivos (García-Mateos *et al.*, 2000) y fue insuficiente para inhibir oviposición (Ortega *et al.*, 1998), con la excepción de erisodina.

### Relación de resultados

De los resultados de repelencia, mortalidad, e inhibición de oviposición se deduce que el extracto en metanol en una concentración de 0.22 a 1.06 mg mL<sup>-1</sup> generó 50% de repelencia y mortalidad a las 24 h,

liberated alkaloids,  $\beta$ -erythroidine and erysodine. The methanol extract produced the lowest mortality, 32.5%, while  $\beta$ -erythroidine produced the highest, 56.2%. These values were lower than those produced by the tobacco extract, 86.2%. In the test of oviposition inhibition erysodine produced 70%, which was higher than that of the positive control (40%), while the methanol extract, fractions and  $\beta$ -erythroidine stimulated oviposition.

The increase in repellence and mortality caused by the methanol extract, the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine is probably due to an increase in toxicity related to their purity (García-Mateos *et al.*, 2004). The methanol extract, fractions and the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine exerted moderate toxicity on the whitefly with the concentration of 1 mg mL<sup>-1</sup>, similar to that on different living beings (García-Mateos *et al.*, 2000) and was not enough to inhibit oviposition (Ortega *et al.*, 1998), except for erysodine.

### Summary of results

The results of the trials in terms of repellence, mortality and inhibition of oviposition point that the methanol extract at a concentration of 0.22 to 1.06 mg mL<sup>-1</sup> generated 50% repellence and mortality at 24 h, but it did not impair oviposition. The free alkaloids in the interval of 0.05 to 1.76 mg mL<sup>-1</sup> produced 50% repellence at 24 h, but a higher concentration is

**Cuadro 7.** Porcentaje de mortalidad e inhibición de oviposición de mosca blanca *T. vaporariorum* sobre foliolos de frijol del análisis comparativo, a las 24 h.

**Table 7.** Percentages of mortality and inhibition of oviposition of *Trialeurodes vaporariorum* whitefly on bean leaflets, comparative analysis at 24 h.

Tratamientos (1 mg mL <sup>-1</sup> )	Mortalidad (%) ± Error estándar	Inhibición de oviposición (%) ± Error estándar
	□24 h	□24 h
Extracto en metanol	(32.5±5.20) 14.0d	(-25.7±19.2) 9.7d
Alcaloides libres	(43.7±7.4) 18.8bc	(-42.8±20.5c) 7.0d
Alcaloides liberados	(42.5±9.2) 16.8bcd	(-20.0±7.3) 10.1d
$\beta$ -eritrodina	(56.2±7.18) 23.2b	(-28.5±17.6) 10.1d
Erisodina	(46.50±9.4) 19.5bc	(71.4±9.8) 29.5a
Extracto de tabaco	(86.2±3.2) 30.5a	(40.0±14.2) 24.7b
Agua com Tween	(5.0±2.0) 4.5e	(34.2±8.7) 24.2b
Aqua	(5.0±2.0) 4.5e	(0) 16.5c

Las letras representan diferencias significativas entre intervalos de porcentajes de mortalidad e inhibición de oviposición de los tratamientos (□Kruskal Wallis, p≤0.05; U de Mann-Whitney, p≤0.05) ♦ Different letters indicate significant differences between intervals of percentages of mortality and inhibition of oviposition of the treatments (□Kruskal Wallis, p≤0.05; Mann-Whitney U, p≤0.05).

pero no impidió oviposición. Los alcaloides libres en el intervalo de 0.05 a 1.76 mg mL<sup>-1</sup> produjeron 50% de repelencia y mortalidad a las 24 h, pero se necesita una concentración mayor para impedir oviposición. Los alcaloides liberados en el intervalo de concentración de 0.71 a 1.09 mg mL<sup>-1</sup> tuvieron 50% de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición a las 24 h por lo que fue el tratamiento más eficiente. Al comparar los intervalos de concentración de los extractos con los de otros productos y sustancias usados en mosca blanca, estos son menos tóxicos que insecticidas neonicotinoides, los cuales en el intervalo de 0.00086 a 0.136 mg mL<sup>-1</sup> de concentración generan 50% de mortalidad e inhibición de oviposición a las 24 h (Rauch y Nauen, 2003). Sin embargo, tienen un efecto menor en relación con productos de nim, los cuales en el intervalo de concentración 0.13 a 1.14 mg mL<sup>-1</sup> producen 100% de repelencia y mortalidad y 50% de inhibición de oviposición a las 24 h (Muñiz-Reyes *et al.*, 2016). Además hay una actividad mejor o igual a la del aceite esencial de *Tagetes filifolia* o a la del trans-anetol (compuesto mayoritario en este aceite) con los que se obtiene un 50% de repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición en concentraciones de 0.36 a 16.26 mg mL<sup>-1</sup> a las 24 h (Camarillo *et al.*, 2009).

En el análisis comparativo en repelencia y mortalidad, los alcaloides  $\beta$ -eritroidina y erisodina no tuvieron un efecto significativamente diferente al de las fracciones, pero sí al del extracto en metanol. En inhibición de oviposición, excepto erisodina que la impidió, un 70% la estimularon con la concentración de 0.1 mg mL<sup>-1</sup>. Esto se puede deber al microambiente de la prueba de mortalidad e inhibición de oviposición que produjo estrés en el foliolito y la mosca blanca o por las concentraciones bajas que no impidieron la oviposición del insecto plaga (Ortega *et al.*, 1998). El agua con Tween, no interfirió en las pruebas de repelencia y mortalidad, pero inhibió la oviposición de 2.5 a 34.2%. Esto se puede explicar por la actividad surfactante o tensoactiva de la sustancia que alteró la superficie cerosa del foliolito y lo convirtió en un lugar no apto para dejar huevos; este efecto se incrementó al combinarse con erisodina. El extracto en metanol a 100 mg mL<sup>-1</sup>, alcaloides libres a 0.1 mg mL<sup>-1</sup> y los tratamientos del análisis comparativo de 1 mg mL<sup>-1</sup> produjeron la actividad contraria, un ambiente adecuado para oviposición.

El extracto en metanol, que produjo solo repelencia y mortalidad, puede ser una opción en la protección de

needed to inhibit oviposition. The liberated alkaloids in the concentration interval of 0.71 to 1.09 mg mL<sup>-1</sup> caused 50% repellence, mortality and oviposition inhibition at 24 h, and thus, this treatment was the most efficient. Comparing the concentration intervals of the extract with other products and substances used against the whitefly, the extract is less toxic than neonicotinoid insecticides, which caused 50% mortality and oviposition inhibition at a concentration interval of 0.00086 a 0.136 mg mL<sup>-1</sup> at 24 h (Rauch and Nauen, 2003). They have, however, a lower effect than neem products, which at a concentration interval of 0.13 to 1.14 mg mL<sup>-1</sup> produce 100% repellence and mortality and 50% oviposition inhibition at 24 h (Muñiz-Reyes *et al.*, 2016). Moreover, the activity of the extracts is better or equal to that of *Tagetes filifolia* essential oil or that of its majority compound, trans-anetol, with which 50% repellence, mortality and oviposition inhibition is obtained at concentrations of 0.36 to 16.26 mg mL<sup>-1</sup> at 24 h (Camarillo *et al.*, 2009).

The comparative analysis of repellence and mortality found that the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erisodine did not have an effect significantly different from that of the fractions but significantly different from that of the methanol extract. Except for erisodine, which inhibited oviposition, the treatments stimulated oviposition with the concentration of 0.1 mg mL<sup>-1</sup>. This may be due to the micro-environment created by the mortality and oviposition inhibition tests that produce stress in the leaflet and the whitefly, or to the low concentrations that did not impede oviposition of the insect pest (Ortega *et al.*, 1998). The water with Tween did not interfere in the repellence or mortality test, but it did inhibit oviposition 2.5 to 34.2%. This can be explained by the surfactant or tenso-active nature of the substance that altered the waxy surface of the leaflet and made it an unfit place for laying eggs. This effect increased with the combination with erisodine. The methanol extract at 100 mg mL<sup>-1</sup>, free alkaloids at 0.1 mg mL<sup>-1</sup> and the treatment of the comparative analysis at 1 mg mL<sup>-1</sup> produced the opposite, a favorable environment for oviposition.

The methanol extract, which produced repellence and mortality, may be an option for protecting crops against the whitefly. However, the fraction of liberated alkaloids is the best treatment in terms of repellence, mortality and oviposition inhibition. Erisodine should be evaluated for future use to corroborate

cultivos contra mosca blanca. Sin embargo, la fracción de alcaloides liberados es el mejor tratamiento, en la relación repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición. La erisodina se puede valorar y usar a futuro para corroborar y aprovechar la actividad de impedir oviposición. Por último, los efectos generados por el extracto en metanol, fracciones y los alcaloides  $\beta$ -eritroidina y erisodina, están relacionados con su toxicidad; por lo tanto, su concentración y uso adecuado es un punto importante que se debe considerar para que sean una herramienta útil en el control de insectos plaga de cultivos agrícolas.

## CONCLUSIONES

La repelencia y mortalidad más altas se obtuvieron con los alcaloides libres y la  $\beta$ -eritroidina. La mayor inhibición de oviposición la mostraron los alcaloides liberados y la erisodina. En la relación repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición los alcaloides libres fueron el mejor tratamiento.

El extracto en metanol y fracciones, y los alcaloides  $\beta$ -eritroidina y erisodina produjeron repelencia, mortalidad e inhibición de oviposición en plantas de frijol; por lo tanto se pueden usar en la protección de cultivos de interés económico.

## AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Laura Delia Ortega del programa de Entomología y Acarología del CP campus Montecillo, por la identificación de la especie de mosca blanca. Al M. C. Bernardo Lucas Florentino de la Facultad de Química, UNAM, por proporcionar el extracto crudo de metanol. Al M. C. Dagoberto Garza García de INIFAP, Texcoco, por brindar la variedad de frijol para realizar los ensayos y mantener la colonia. Al M.C. Antonio García Esteva por dar el suelo y espacio para la siembra de frijol; a la M.C. Petra Yáñez Jiménez por prestar el equipo para analizar la mortalidad y oviposición en los foliolos de frijol y al M.C. Ricardo Vega Muñoz por su apoyo en la certificación de la planta; todos ellos del Programa de Botánica del CP, Campus Montecillo.

## LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econom. Entomol.* 18: 265-267.  
 Camarillo, R. G., L. D. Ortega A., M. A. Serrato C., y C. Rodríguez H. 2009. Actividad biológica de *Tagetes filifolia* (Asteraceae) en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Rev. Colomb. Entomol. 35: 177-184.

and make use of its oviposition-inhibition property. Finally, the effects generated by the methanol extract, fractions and the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine are related to their toxicity, and therefore, their proper concentration and adequate use is an important point that must be considered for it to be a useful tool in the control of crop insect pests.

## CONCLUSIONS

The highest repellence and mortality were obtained with the free alkaloids and  $\beta$ -erythroidine. The released alkaloids and erysodine caused the highest oviposition inhibition. Free alkaloids were the best treatment in terms of repellence, mortality and oviposition inhibition.

The methanol extract and fractions, and the alkaloids  $\beta$ -erythroidine and erysodine produced repellence, mortality and inhibition of oviposition on bean plants. Therefore, they can be used in protection of economically important crops.

—End of the English version—

-----\*

- Devine, G. J., and M. J. Furlong. 2007. Insecticide use: contexts and ecological consequences. *Agric Human Values*. DOI 10.1007/s10460-007-9067-z.  
 Estrada, J., y R. Pamachagua. 2007. Determinación de nicotina de cigarrillos aplicando la técnica de la segunda deriva. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 73: 94-103.  
 Fereres, A., M. F. Peñaflor G. V., C. Favaro F., K. E. Azevedo X., C. Landi H., N. K. Multata P., J. M. Bento S., and J. R. Lopes S. 2016. Tomato infections by whitefly-transmitted circulative and non-circulative viruses induce contrasting changes in plant volatiles and vector behavior. *Viruses*. DOI: 10.3390/v8080225.  
 García-Mateos, R., R. M. Soto-Hernández, y M. Martínez-Vázquez. 2000. Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*. *Ciencia Ergo Sum* 7: 166-170.  
 García-Mateos, R., R. M. Soto-Hernández, and H. Vibrans. 2001. *Erythrina Americana* Miller ("Colorín", Fabaceae), a versatile resource from México: a review. *Eco. Bot.* 55: 391-400.  
 García-Mateos, R., R. Pérez-Pacheco, C. Rodríguez-Hernández, y R. M. Soto-Hernández. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 297-303.  
 Ibarra, E. E., R. Téllez M., R. M. Soto-Hernández, M. Martínez V., R. García-Mateos, y R. San Miguel-Chávez. 2009. Actividad antimicótica *in vitro* de erisovina. *Rev. Fitotec. Mex.* 32: 327-330.

- Ibarra, E. E., M. Pacheco S., R. García-Mateos, R. San Miguel-Chávez, G. Ramírez V., y R. M. Soto-Hernández. 2011. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Erythrina americana* Miller. Rev. Fitotec. Mex. 34: 241-246.
- McKee, G. J., and Zalom F. G. 2009. A model of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) population development and management on Camarosa variety strawberry plants. J. Asia Pac. Entomol. 12: 117-122.
- Miresmailli, S., and M. Isman B. 2014. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. Trends Plant Sci. 19: 29-35.
- Muñiz-Reyes, E., C. A. Ramos B., C. Rodríguez-Hernández, y L. D. Ortega-Arenas. 2016. Actividad biológica de nim en adultos de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Aleyrodidae) West. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 7: 1283-1295.
- Ortega, A. L. D., A. Lagunes T., J. C. Rodríguez M., C. Rodríguez H., R. Alatorre R., y N. M. Bárcenas O. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Homóptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. Agrociencia. 32: 249-254.
- Rauch, N., and R. Nauen. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Arch. Insect Biochem. Physiol. 54: 165-176.
- Scotta, R. R., A. E. Sánchez D. y C. Arregui M. 2014. Determinación de las pérdidas causadas por la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) en cultivos de tomate bajo invernadero. FAVE. Secc. Cienc. Agrar. 13: 29-34.
- Soto-Hernández, R. M., R. García-Mateos, R. San Miguel-Chávez, G. Kite, M. Martínez-Vázquez and A. C. Ramos-Valdivia. 2012. *Erythrina*, a potential source of chemicals from the Neotropics. In: Rasooli I (ed) *Bioactive Compounds in Phytomedicine*, Intech, Croatia. pp: 163-184.
- Suarez, G. L. F., M. A. Díaz T., D. Rodríguez C. y F. Cantor R. 2015. Medición indirecta de la tasa de consumo de adultos e inmaduros de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre fríjol. Acta Biol. Colomb. 20: 99-109.
- Vázquez-Luna, A., L. Pérez-Flores y R. Diaz-Sobac 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la salud alimentaria. Cienc. Tecnol. Aliment. 5: 306-313.

