

## Efecto de extractos vegetales compuestos sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) y su parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)

Mayelis M. Barros-Barrios<sup>1</sup>, Ana María Restrepo-García<sup>2</sup>, William Narváez-Solarte<sup>3</sup>, Alberto Soto-Giraldo<sup>4</sup>

### Resumen

**Objetivo:** Evaluar el efecto de los extractos compuestos de *Murraya paniculata*, *Cocos nucifera*, *Syzygium aromaticum* y *Psidium guajava* sobre *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*.


**Alcance:** Brindar alternativas de manejo para el control de *D. citri* sin causar afectaciones a su parasitoide primario. **Metodología:** Se realizó extracción de principios activos de las especies vegetales mediante extracción Soxhlet y rotaevaporación al vacío, determinación de los compuestos volátiles mediante micro extracción en fase sólida SPME (por sus siglas en inglés) y evaluación de su efecto sobre los insectos con pruebas de olfatometría de doble elección, analizando los resultados mediante el índice de preferencia ( $IP=2T/T+C$ ), contrastado por análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Duncan.

**Resultados principales:** *D. citri* mostró preferencia por los compuestos volátiles de *M. paniculata* (IP 1,7) y no preferencia por *S. aromaticum* (IP 0,9); las evaluaciones con *C. nucifera* y *P. guajava* arrojaron un IP de 1,2 y 1 respectivamente, sin presentar diferencias significativas en la elección, sin embargo, los individuos murieron minutos después de la interacción con los extractos. Por su parte, en las evaluaciones para *T. radiata* no se detectaron diferencias significativas entre las medias de los índices de preferencia de los tratamientos ( $p>0,05$ ). **Conclusiones:** Las especies de plantas evaluadas presentaron actividad biológica atrayente, repelente e insecticida sobre *D. citri* sin afectar a su parasitoide *T. radiata*, lo que sustenta la viabilidad del desarrollo de propuestas de manejo alternativo con extractos vegetales compuestos, sugiriendo su integración en un plan de manejo de la plaga.


**Palabras clave:** control alternativo, citricultura, extractos vegetales, olfatometría, psílido asiático.

\*FR: 26 VI 2023. FA: 10 III 2024.


<sup>1</sup> Bióloga. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. mayelisbarros27799@ucaldas.edu.co.

 orcid.org/0000-0002-2634-5408 **Google Scholar**


<sup>2</sup> Ingeniera agrónoma. Candidata a doctora en Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

ana.restrepo18390@ucaldas.edu.co.  
 orcid.org/0000-0002-9596-320X **Google Scholar**

<sup>3</sup> Docente. Departamento de Salud Animal. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. wnarvaez@ucaldas.edu.co.

 orcid.org/0000-003-4698-3818 **Google Scholar**

<sup>4</sup> Docente. Departamento de Producción Agropecuaria. Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. alberto.soto@ucaldas.edu.co

 orcid.org/0000-0002-9727-8919 **Google Scholar**

### CÓMO CITAR:

Barros-Barrios, M. M., Restrepo-García A. M., Narváez-Solarte W., Soto-Giraldo A. (2024). Efecto de extractos vegetales compuestos sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) y su parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. Univ. Caldas*, 28(1), 125-138. <https://doi.org/10.17151/bccm.2024.28.1.7>



## Compound plant extracts effect on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)

### Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of extracts composed of *Murraya paniculata*, *Cocos nucifera*, *Syzygium aromaticum*, and *Psidium guajava* on *Diaphorina citri* and *Tamarixia radiata*. Scope: Provide management alternatives for the control of *D. citri* without affecting its primary parasitoid. **Methodology:** Extraction of active principles from plant species was carried out by Soxhlet extraction and vacuum rotaevaporation, determination of volatile compounds by solid phase micro extraction (SPME), and evaluation of its effect on the insects with double-choice olfactometry tests, analyzing the results using the preference index (IP=2T/T+C), contrasted by analysis of variance and comparison of means with Duncan's test. Main Results: *D. citri* showed a preference for the volatile compounds of *M. paniculata* (IP 1.7) and no preference for *S. aromaticum* (IP 0.9), the Evaluations with *C. nucifera* and *P. guajava* yielded an IP of 1.2 and 1 respectively, without presenting significant differences in the choice, however, the individuals died minutes after the interaction with the extracts. On the other hand, in the evaluations for *T. radiata*, no significant differences were detected between the means of the treatment preference indices. **Conclusions:** The evaluated species presented attractive, repellent and insecticidal biological activity on *D. citri* without affecting its parasitoid *T. radiata*. These findings support the feasibility of developing alternative management proposals with compound plant extracts, suggesting their integration into a management plan. of the plague.

**Key words:** alternative control, citriculture, plant extracts, olfactometry, Asian psyllid.

### Introducción

El cultivo de cítricos es uno de los sectores agroindustriales más importantes en Colombia. En 2019, su cadena generó 199.828 empleos directos y 299.742 empleos indirectos representados en 84.148 ha sembradas, con un total de 1,3 millones de toneladas producidas (Ministerio de Agricultura de Colombia, 2021). Entre 2011 y 2020, las exportaciones colombianas de cítricos registraron un crecimiento anual compuesto del 30%, siendo la lima thaití y la naranja los productos que mejor posicionamiento han logrado en mercados internacionales, acumulando en 2020 31,1 MUSD y 11,2 MUSD, respectivamente (PROCOLOMBIA, 2021).

En general, los cítricos son susceptibles al ataque de insectos, ácaros, hongos, virus, bacterias y nematodos fitoparásitos, afectando la cantidad y calidad de las cosechas (Restrepo García y Soto Giraldo, 2017). En estos cultivos, una enfermedad de especial interés es el enverdecimiento de los cítricos o Huanglongbing (HLB), pues no tiene cura y es causada por la bacteria Candidatus *Liberibacter* spp. (CLAs), cuyo vector

principal es *Diaphorina citri* Kuwayama (“psílido asiático de los cítricos”) (Oliver *et al.*, 2020; Luis-Pantoja *et al.*, 2021; Wei *et al.*, 2021). A raíz del HLB, se han reportado pérdidas anuales del 30 al 100% de la producción, puesto que los árboles infectados deben eliminarse para evitar la diseminación de la bacteria (Cavarrubias Gutiérrez *et al.*, 2010; Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2012).

A nivel mundial, para el control del psílido asiático se han utilizado insecticidas químicos. Sin embargo, su dependencia excesiva puede generar resistencia en la plaga, costos de producción antieconómicos, contaminación ambiental, pérdida de biodiversidad local, riesgo para la salud humana y bioacumulación en los frutos (Bale *et al.*, 2008; Grafton-Cardwell *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2018). Ante esto, se hace necesario explorar nuevas alternativas que prioricen la seguridad ambiental y la del consumidor, como organismos depredadores, parasitoides, hongos entomopatógenos, bioinsecticidas y extractos vegetales.

Los extractos vegetales son una alternativa al manejo del vector del HLB, debido a que las plantas tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios, entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos y fenoles; compuestos nitrogenados como alcaloides y compuestos azufrados, relacionados con diferentes mecanismos de defensa (Mesa *et al.*, 2019). Así, las sustancias químicas presentes en las especies *Murraya paniculata* (Mp), *Cocos nucifera* (Cn), *Syzygium aromaticum* (Sa) y *Psidium guajava* (Pg) han sido ampliamente empleadas para el control de patógenos en humanos (Sato *et al.*, 2010; Figueira *et al.*, 2013; Mittal *et al.*, 2014; Deepa y Kashmira, 2023) y han demostrado propiedades atrayentes, repelentes o insecticidas en diversas investigaciones agrícolas (Cázares Alonso *et al.*, 2014; Departamento de Insectos Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, 2015; Badgujar *et al.*, 2017; Pimentel-Farias *et al.*, 2018). Diferentes investigaciones como las realizadas por Fancelli *et al.*, (2018) y Yan *et al.*, (2020) han mostrado cómo el comportamiento de *D. citri* es alterado por compuestos volátiles o fragmentos de plantas como *M. paniculata*, *Citrus sinensis* y *P. guajava*; así mismo, Ramírez-Godoy *et al.*, (2018) sugirieron el uso de aceite de coco como atrayente de la plaga, reseñando la aplicabilidad que esto puede tener en su control. Sin embargo, ningún trabajo ha evaluado conjuntamente el efecto de los compuestos vegetales sobre *D. citri* y su parasitoide, factor que resulta de importancia si no se quieren afectar dinámicas de control natural a las poblaciones del vector. Adicionalmente, hasta el momento no se han realizado estudios de repelencia de *D. citri* en Colombia, por lo que en la presente investigación se buscó evaluar el efecto de extractos vegetales sobre *D. citri* y su parasitoide (*Tamarixia radiata*); brindando con ello estrategias de control alternativo en el país.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Laboratorio de Procesos Agroindustriales (latitud 5,055571; longitud -75,492752) y en la Granja Montelindo (latitud 5,075097, longitud -75,672948) de la Universidad de Caldas.

### Cría de artrópodos (*D. citri* y *T. radiata*).

Siguiendo la metodología propuesta por el Departamento de Insectos Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (2015) con algunas modificaciones: se dispuso de tres zonas de producción (planta, plaga y parasitoide) en condiciones controladas ( $T^{\circ}$ :  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , HR:  $80 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) con insectos provenientes de la zona, la cual está declarada como libre de la enfermedad del HLB.

### Extracción de compuestos vegetales.

Para la obtención de los extractos compuestos se siguió la metodología propuesta por Sanabria Galindo *et al.*, (1983), con algunas modificaciones: se seleccionaron 360 g de cada especie vegetal, tomando hojas de *M. paniculata* (*Mp*) y *P. guajava* (*Pg*), pulpa de *C. nucifera* (*Cn*) e inflorescencia seca de *S. aromaticum* (*Sa*). Dicho material fue congelado en fresco por 24 horas a una temperatura de  $-9^{\circ}\text{C}$  y posteriormente triturado, con el fin de obtener la mayor cantidad de compuestos volátiles. La técnica de extracción empleada fue el reflujo en Soxhlet, usando como solvente etanol al 96% en cantidad suficiente para cubrir el material vegetal (aprox. 1100 ml). Se utilizó como solvente etanol por su capacidad para extraer compuestos con una amplia gama de polaridades y facilitar la detección de metabolitos secundarios, generalmente aquellos relacionados con actividades biológicas (Carvajal Rojas *et al.*, 2009). Posteriormente, el extracto obtenido se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró e implementó la técnica de rotaevaporación al vacío para retirar el solvente y obtener un extracto puro. Finalmente, los extractos fueron depositados en tubos falcón de 50ml, cubiertos con papel aluminio y parafilm y se preservaron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su evaluación.

### Cromatografía de gases- espectrómetro de masas (GC-MS).

Se utilizó la técnica de micro extracción en fase sólida (MEFS) para realizar el análisis de los compuestos volátiles. Se tomaron 0,5  $\mu\text{l}$  de muestra de cada extracto en un vial de cromatografía y se expusieron directamente a una fibra DVB/CAR/PDMS durante 20 minutos. Una vez expuestos los viales, estos se calentaron a  $25^{\circ}\text{C}$  para favorecer la liberación de compuestos volátiles. Posteriormente, se llevó a cabo la desorción en el puerto de inyección durante 5 minutos. Para la separación de los compuestos

se utilizó una columna Zebron ZB-5 de (30 m, Di 0.25  $\mu\text{m}$ , 0.25 mm), con un flujo de columna de 1.37 ml/min, usando Helio como gas de arrastre. La rampa de temperatura se programó con una temperatura inicial de 40 °C, manteniéndose en un tiempo de 1 min, luego se aumentó la temperatura a 15 °C/min hasta llegar a 280 °C. La interfaz se manejó a 290 °C y la fuente de iones a 300 °C. El análisis se realizó a modo *scan*, con un rango de masas de 60 a 400 m/z (Schmidt y Podmore, 2015).

### Olfatometría de doble elección.

En el desarrollo de los bioensayos se siguió la metodología propuesta por Silva *et al.*, (2021), con algunas modificaciones: se dispuso de un olfatómetro tipo “Y” de vidrio (3 cm de diámetro, brazo principal de 14 cm de largo, brazos laterales de 12 cm de largo y ángulo de 80° entre los brazos laterales), provisto de una fuente de aire (ajustado a 0,7 L/min para cada brazo lateral), un humidificador y un purificador. Con ayuda de un aspirador entomológico se capturaron los especímenes de *D. citri* y *T. radiata* de la cría establecida en la Granja Montelindo y se mantuvieron en ayuno por  $10 \pm 2$  horas; posteriormente, los insectos fueron introducidos de manera individual con ayuda de un pincel y se esperó la respuesta durante un máximo de 10 min. Se consideró que los insectos habían hecho una elección cuando cruzaban una línea trazada a los 3 cm del punto de bifurcación del tubo en Y; los insectos que no eligieron un brazo lateral dentro de los 10 min se registraron como no respuesta, cada insecto se evaluó una sola vez. Para evitar sesgos de posición, la fuente de olor se cambió después de cada repetición, y al finalizar cada prueba se lavaban con etanol al 70% y jabón neutro el tubo “Y” y sus adaptadores.

**Bioensayo 1. Pruebas de preferencia:** En un brazo del olfatómetro se dispuso un trozo de papel filtro Whatman N° 1 con una gota del extracto compuesto (aprox. 10 $\mu\text{l}$ ), y en el otro brazo un trozo sin aplicación (control). El bioensayo se realizó bajo un diseño experimental completamente aleatorizado en modelo factorial 2x4: 2 especies de artrópodos (*D. citri*, *T. radiata*) y 4 extractos compuestos (*M. paniculata*, *C. nucifera* L., *S. aromaticum*, *P. guajava*).

**Bioensayo 2. Contraste de preferencia:** En cada uno de los brazos se dispuso un trozo de papel filtro Whatman N° 1 con una gota de un extracto compuesto (aprox. 10 $\mu\text{l}$ ), lo anterior bajo un diseño experimental completamente aleatorizado en modelo factorial 2x6: 2 especies de artrópodos (*D. citri*, *T. radiata*) y 6 combinaciones de extractos compuestos (Mp-Pg, Mp-Cn, Mp-Sa, Pg-Cn, Pg-Sa, Cn- Sa).

Para los tratamientos de cada bioensayo se realizaron cinco repeticiones con cinco individuos por repetición, en cada repetición se cambiaron los trozos de papel filtro Whatman N° 1 y se introdujo una nueva gota del extracto. Los resultados fueron analizados calculando el índice de preferencia (IP) propuesto por Kogan y Goeden

(1970) y Lin et al. (1990), tomando para el análisis la proporción entre los porcentajes de preferencia de los insectos –ya sea por los tratamientos o por el control– mediante la siguiente fórmula:  $IP = 2T/T+C$ ; donde T son los extractos y C el control (u otro extracto para el caso del bioensayo 2). El valor de IP varía entre 0 y 2, donde 1 indica que no hay preferencia por ningún tratamiento, >1 indica preferencia por el extracto compuesto y <1 preferencia por el control (u otro extracto, para el caso del bioensayo 2). Los datos de IP se sometieron a comprobación del supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, posteriormente a análisis de varianza con significancia 0,05 y una comparación de medidas con la prueba de Duncan (0,05). Estos análisis se realizaron en el programa SPSS® Versión 20.

## Resultados y discusión

El rendimiento de extracto para las cuatro especies vegetales evaluadas osciló entre 8% y 25%, presentando *C. nucifera* y *S. aromaticum* los más altos valores. En el análisis fitoquímico detallado y perfil cromatográfico se obtuvieron 30 compuestos volátiles en el extracto de *M. paniculata*, 39 en el de *C. nucifera*, 16 en *S. aromaticum* y 33 en el extracto de *P. guajava*; la mayoría pertenecientes a la familia de los terpenos (mono y sesquiterpenoides). En este trabajo se presentan los compuestos volátiles que han sido evaluados, causando un efecto repelente, atrayente o tóxico en insectos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cantidad, rendimiento y composición de los extractos vegetales evaluados

	<i>M. paniculata</i>	<i>C. nucifera</i>	<i>S. aromaticum</i>	<i>P. guajava</i>
Extracto obtenido (mL)	30	90	90	45
Rendimiento del extracto (%)	8,33	25	25	12,5
Compuesto volátil	Área en cromatografía (%)			
$\alpha$ Calacoreno				0,13
$\alpha$ Pineno		0,09		
$\alpha$ Cubeno	2,42			
$\beta$ Myrceno	0,28			0,51
$\beta$ Ocimeno		0,01		0,22
2- Bornanone	5,03			9,5
Muuroleno	2,09			
Copaeno	4,54			
(1R,3aS,8aS)-7-Isopropil-1,4-dimetil-1,2,3,3a,6,8a-hexahidroazuleno	1,21			

(1R,7S,E)-7-Isopropil-4,10-dimetilenocyclodec-5-enol				0,55
1R,9R,E)-4,11,11-Trimetil-8-metilenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	0,2			
(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetrametilbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	5,05			
(E)-4,8-Dimetilnona-1,3,7-triene			0,27	
1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimetil-, (E)-				0,26
1,7-Octadieno, 2,5-bis-(cis)-(2,2-dimetil-3-carboxycyclopropil)-	0,08		0,26	
1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetrametil-, [1aR-(1a $\alpha$ ,4 $\beta$ ,4a $\beta$ ,7a $\alpha$ ,7a $\beta$ ,7b $\alpha$ )]-	2,37			
Aromandendreno	2,17	0,32		
Benzoato de Bencilo		0,13	0,15	0,03
Cariofileno	20,25	5,41		7,34
Oxido de Cariofileno	0,3		0,82	0,33
Cubanol		0,12		
Limoneno	9,37		1,12	7,71
Humuleno	6,47	1,34	4,49	1,13
Linalool		0,76		1,76
Fenol,2-methoxi-3-(2-propenil)-	9,13		15,35	

Con respecto a las pruebas de olfatometría, en las evaluaciones de preferencia, *D. citri* tuvo mayor atracción por *M. paniculata* (IP= 1,7) en comparación con *C. nucifera*, *P. guajava* y *S. aromaticum* (P< 0.05) (Figura 1). El efecto atrayente por *M. paniculata* podría estar relacionado por algunos volátiles como  $\alpha$  Cubebeno, copaeno y cariofileno, que han sido reportados como posibles atrayentes del insecto barrenador *Xyleborus glabratus* en estudios anteriores (Niogret *et al.*, 2011). Estos resultados se asemejan a los de Fancelli *et al.*, (2018), quienes en ensayos conductuales reportaron que las hembras de *D. citri* pasaron más tiempo en los brazos que contenían volátiles de *M. paniculata* en comparación con los brazos de control. Así mismo, Gross *et al.*, (2022) reportaron, en pruebas de campo, que *D. citri* presentó una fuerte atracción por *M. paniculata*, implementadas como cultivo trampa a lo largo de un perímetro en plantaciones de cítricos, reduciendo la incidencia de HLB en los cítricos cercanos en un 43%. Además, Killiny *et al*

(2021) proponen utilizar específicamente dos especies de *Murraya* (*M. koenigii* y *M. paniculata*) como posibles cultivos trampa contra dicho hemíptero. Los anteriores estudios sugirieron que los compuestos volátiles que caracterizan estos cultivos trampa podrían desempeñar un papel clave en la atracción de *D. citri*.

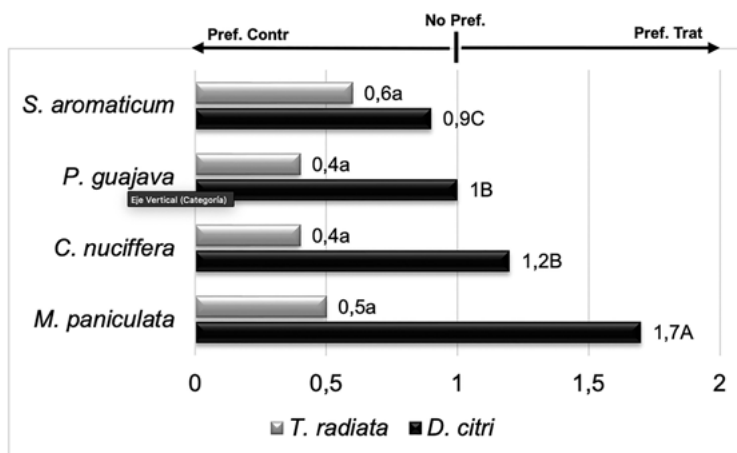
Por su parte, los extractos de *C. nucifera* y *P. guajava* arrojaron un IP de 1,2 y 1 respectivamente, indicando que no hay diferencias significativas entre los tratamientos (*i. e.* los especímenes de *D. citri* no tienen preferencia por ninguno de los dos,  $p > 0.05$ ) (Figura 1). Resultados similares a los obtenidos por Fancelli *et al.*, (2018), quienes mencionan que *P. guajava* no presentó diferencias significativas ( $P = 0,291$ ) en cuanto al número de entradas en los brazos tratados del olfatómetro con el compuesto volátil versus control. Sin embargo, Yan *et al.*, (2020) reportaron que en un 49% de sus experimentos, los de fragmentos de ramas de *P. guajava* tuvieron un efecto repelente sobre *D. citri*, citando el tratamiento como estadísticamente significativo. Esta diferencia entre estudios puede deberse a lo indicado por Barman y Zeng (2014), la respuesta de los psílidos está relacionada con las concentraciones de extracto de hojas de *P. guajava*.

Por otro lado, hubo variaciones en el comportamiento de los insectos al entrar en contacto con las sustancias volátiles. En cuanto a *C. nucifera*, a los tres o cuatro minutos de exposición, los especímenes de *D. citri* se mostraban aturdidos, abrían sus alas y saltaban de manera diferente, muriendo después de 20 minutos de exposición; lo que pudo haberlo ocasionado los volátiles cubenol, humuleno y limoneno, los cuales han sido caracterizados como tóxicos residuales o de manera retardada en insectos (Hollingsworth, 2005; Owolabi *et al.*, 2013; Benelli *et al.*, 2018). Así mismo, Usha Rani *et al.*, (2011), quienes encontraron que los extractos crudos de *C. nucifera* fueron altamente efectivos para ofrecer protección a largo plazo en ensayos de toxicidad residual contra las plagas del producto almacenado. Por su parte, los especímenes expuestos a los volátiles de *P. guajava* no mostraban diferencia en su comportamiento, sin embargo, los individuos que elegían el tratamiento salían rápidamente del lateral del olfatómetro y morían al transcurrir aproximadamente quince minutos después de la evaluación. Otros autores, como Silva *et al.* (2016), evaluaron aceites esenciales de cinco cultivares diferentes de *P. guajava* y los resultados mostraron que todos los materiales de guayaba probados tenían al menos alguna repelencia sobre el psílido.

El extracto compuesto de *S. aromaticum* presentó un IP de 0,9 ( $p < 0.05$ ), mostrando preferencia por el control (Figura 1), lo que sugiere un efecto repelente del compuesto al psílido. Estos resultados son similares a los de Hall *et al.*, (2018), quienes evaluaron repelentes de mosquitos y aceites esenciales, incluyendo a *S. aromaticum* en *D. citri*, quien provocó reducción del insecto en condiciones controladas. Por otro lado, el clavo ha sido evaluado en otros



insectos como *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles dirus* (Hill *et al.*, 2007; Díaz, 2016). El efecto repelente debe verse influenciado por el volátil fenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl), el cual es uno de los componentes principales de *S. aromaticum* y está comprobado que en dosis bajas (1%) resulta efectivo en acciones de repelencia (Sheikh *et al.*, 2021).



**Figura 1.** Pruebas de preferencia de doble elección.

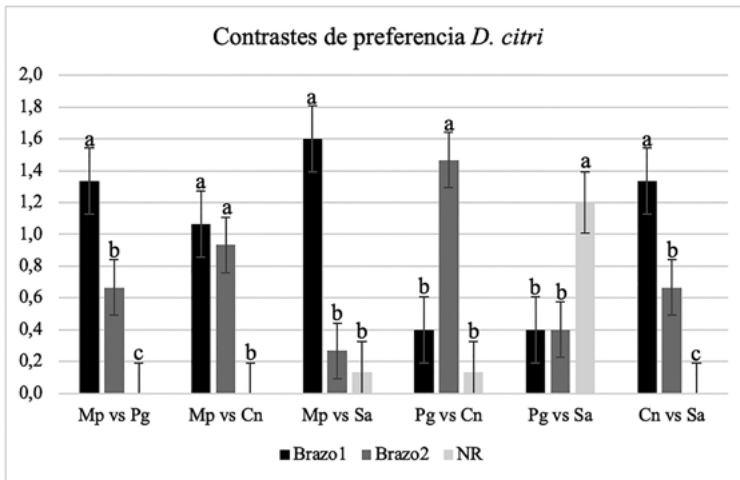
**Nota.** \**T. radiata*: medias de tratamientos seguidas por una misma letra minúscula, son estadísticamente iguales entre sí, por la prueba de Duncan ( $p > 0,05$ ). *D. citri*: medias de tratamientos seguidas por una letra mayúscula diferente, son estadísticamente diferentes entre sí, por la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ).

Con respecto al parasitoide *T. radiata*, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos por la prueba de Duncan ( $p > 0,05$ ), en todas las aplicaciones de los tratamientos el insecto prefirió el control sobre el extracto compuesto con  $IP < 1$  (Figura 1). Lo que valida la utilidad de los compuestos con preferencia o repelencia sobre *D. citri*, sin afectar esto al parasitoide.

Las evaluaciones de contrastes de preferencia mostraron que *D. citri* tuvo más afinidad por *M. paniculata* en las combinaciones Mp-Pg ( $IP=1,3$ ) y Mp-Sa ( $IP=1,6$ ) con medias de tratamientos estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ), dejando evidencia de cierta repelencia del psílido a los extractos compuestos de *P. guajava* y *S. aromaticum* (Figura 2). Diversas investigaciones han demostrado que la guayaba actúa como repelente y esto puede variar dependiendo de las dosis de extracto o de las diferentes concentraciones de volátiles (Zaka *et al.*, 2010; Barman y Zeng, 2014). Así mismo, en cultivos de cítricos han implementado el uso de plantas de *P. guajava* intercaladas,

mostrando un menor nivel de infestación por *D. citri* y, por ende, menor incidencia de HLB (Gottwald *et al.*, 2014).

Por otra parte, en la combinación Mp-Cn no hubo diferencias significativas que indicaran preferencia por alguna de las dos especies ( $p > 0,05$ ), sin embargo, en los contrastes en los que se combinó el extracto compuesto de *C. nucifera* con *P. guajava* o *S. aromaticum* (Pg-Cn o Cn-Sa), el psílido prefirió el brazo tratado con *C. nucifera*, suponiendo lo anterior una atracción del insecto por uno o varios compuestos de dicho extracto (Figura 2). Los anteriores resultados se asemejan a los obtenidos por Ramírez-Godoy *et al.*, (2018), los cuales evaluaron trampas adhesivas amarillas cebadas con atrayentes comerciales y sugirieron que las tratadas con aceite de coco pueden ser más atractivas para los psílidos que las trampas sin cebo.

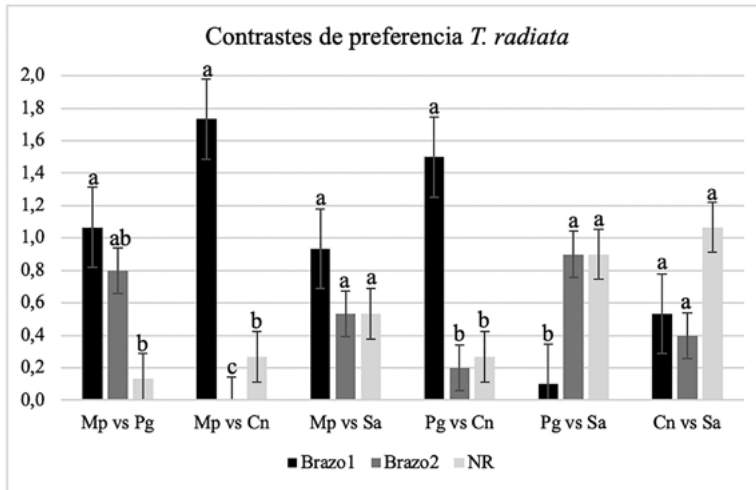


**Figura 2.** Pruebas de contraste de preferencia para *D. citri*\*

**Nota.** \*Medias de tratamientos seguidas por una letra diferente dentro de cada contraste. Son estadísticamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ) por la prueba de Duncan. Contrastes: Mp vs Pg = Brazo1 vs Brazo2; Mp vs Cn = Brazo1 vs Brazo2; Mp vs Sa = Brazo1 vs Brazo2; Pg vs Cn = Brazo1 vs Brazo2; Pg vs Sa = Brazo1 vs Brazo2; Cn vs Sa = Brazo1 vs Brazo2.

Los contrastes de preferencia realizados para *T. radiata* presentaron diferencias significativas en las combinaciones Mp-Cn, Pg-Cn ( $p < 0,05$ ) (Figura 3), suponiendo cierta repelencia del parasitoide a los compuestos volátiles de *C. nucifera*. Los anteriores resultados sugieren que trampas adhesivas amarillas tratadas con dicho extracto compuesto no serían atractivas para el controlador primario de *D. citri*. Otros estudios han reportado que las hembras de *T. radiata* se sienten atraídas por

las plantas de cítricos que han estado expuestas a los volátiles de *P. guajava* (Ling *et al.*, 2022), condición que puede ser favorecida por la presencia del compuesto  $\beta$ -Ocimeno, el cual ha presentado efecto atrayente para los enemigos naturales de herbívoros (Zhong *et al.*, 2019). Sugiriendo, además, que las aplicaciones de dicho extracto compuesto dirigidas al follaje podrían disminuir la incidencia del vector y aumentar la presencia del parasitoides en las plantaciones.



**Figura 3.** Pruebas de contraste de preferencia para *T. radiata*\*

**Nota.** \*Medias de tratamientos seguidas por una letra diferente dentro de cada contraste. Son estadísticamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ) por la prueba de Duncan. Contrastes: Mp vs Pg = Brazo1 vs Brazo2; Mp vs Cn= Brazo1 vs Brazo2; Mp vs Sa: = Brazo1 vs Brazo2; Pg vs Cn= Brazo1 vs Brazo2; Pg vs Sa= Brazo1 vs Brazo2; Cn vs Sa = Brazo1 vs Brazo2.

*D. citri* es un problema de prioridad fitosanitaria a nivel mundial por lo que los esfuerzos de investigadores radican en aportar alternativas ecológicas y sustentables para su control, como es el caso del uso de compuestos volátiles de plantas (Santos Silva *et al.*, 2023). Los extractos compuestos evaluados en la presente investigación también podrían ser una opción para utilizarlos como método de control de la plaga a nivel mundial, demostrando que no causan afectación a su parasitoides primario *T. radiata*. Sin embargo, se hacen necesarias posteriores evaluaciones sobre concentraciones y formas de aplicación en campo involucrando también el uso de trampas de monitoreo, puesto que se ha comprobado que la combinación de compuestos volátiles con una trampa adhesiva amarilla ha aumentado la atracción de *D. citri* (Coutinho-Abreu *et al.*, 2014a; Coutinho-Abreu *et al.*, 2014b).

## Conclusión

Los resultados de la presente investigación ponen de manifiesto los efectos atrayentes y repelentes de *M. paniculata*, *C. nucifera*, *P. guajava*, y *S. aromaticum* sobre *D. citri*, sin tener efectos negativos sobre el parasitoide *T. radiata*. Consecuentemente, estas especies vegetales resultan promisorias en el desarrollo de estrategias de control alternativo, sin embargo, se hacen necesarias posteriores evaluaciones que involucren dosis y formas de aplicación en campo.

## Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas, al Sistema General de Regalías (SGR) y al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por el financiamiento de la investigación, al docente Luis Fernando Mejía por el apoyo y la asesoría en la obtención de extractos, al personal analista del Laboratorio de Investigación en Cromatografía y Técnicas Afines (GICTA) por el procesamiento de muestras para el análisis de compuestos volátiles.

## Referencias

- Badgajar, R. H., Mendki, P. S. y Kotkar H. M. (2017). Management of *Plutella xylostella* using *Cinnamomum zeylanicum* and *Syzygium aromaticum* extracts and their major secondary metabolites. *Biopesticides International*, 13(2), 113-126.
- Bale, J. S., Van Lenteren, J. C. y Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 363(1492), 761-776. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2182>
- Barman, J. C. y Zeng, X. (2014). Effect of Guava Leaf Extract on Citrus Attractiveness to Asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama. *Pakistan Journal of Zoology*, 46(4), 1117-1124.
- Benelli, G., Govindarajan, M., Rajeswary, M., Vasecharan, B., Alyahya, S. A., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M. y Maggi, F. (2018). Insecticidal activity of camphene, zerumbone and -humulene from *Cheilocostus speciosus* rhizome essential oil against the Old-World bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Ecotoxicology and environmental Safety*, 148, 781-786.
- Carvajal Rojas, L., Hata Uribe, Y., Sierra Martínez, N. y Rueda Niño, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukovff). *Revista Colombiana Forestal*, 12(1), 161-170.
- Cavarrubias Gutiérrez, I., Mora Aguilera, G., Salcedo Baca, D., Depaolis, F. J. R., Hinojosa, R., Mora Flores, J. S., Cíntora González, C. L., Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2010). *Evaluación del impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Cázares Alonso, N. P., Verde Star, M. J., López Arroyo, J. I. y Almeyda León, I. H. (2014). Evaluación de diferentes extractos vegetales contra el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 40(1), 67-73.
- Chen, X. D., Gill, T. A., Ashfaq, M., Pelz-Stelinski, K. S. y Stelinski, L. L. (2018). Resistance to commonly used insecticides in Asian citrus psyllid: Stability and relationship to gene expression. *Journal of Applied Entomology*, 142(10), 967-977. <https://doi.org/10.1111/jen.12561>
- Coutinho-Abreu, I. V., Forster, L., Guda, T., Ray, A. (2014b). Odorants for Surveillance and Control of the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*). *PLoS One*, 9(10), e109236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109236>
- Coutinho-Abreu, I. V., Mcinally, S., Forster, L., Luck, R. y Ray, A. (2014a). Odor coding in a disease-transmitting herbivorous insect, the Asian citrus psyllid. *Chemical Senses*, 39(6), 539-549.
- Deepa J. y Kashmira J. G. (2023). A Brief Review on *Murraya paniculata* (Orange Jasmine): pharmacognosy, phytochemistry and ethnomedicinal uses. *Journal of Pharmacopuncture*, 26(1), 10-17. <https://doi.org/10.3831/KPI.2023.26.1.10>.
- Departamento de Insectos Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. (2015). *Manual de reproducción masiva de Tamarixia radiata, principal parasitoide del psílido asiático de los cítricos, vector del HLB*. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria y Unidad de Promoción y Vinculación-Senasica. <https://docslib.org/doc/1442836/manual-de-tamarixia-radiata>.
- Díaz, J. H. (2016). Chemical and plant-based insect repellents: Efficacy, safety, and toxicity. *Wilderness Environmental Medicine*, 27(1), 153-163. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2015.11.007>
- Fancelli, M., Borges, M., Laumann, R. A., Pickett, J. A., Birkett, A. y Blassoli-Moraes, M. C. (2018). Attractiveness of Host Plant Volatile Extracts to the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri*, is Reduced by Terpenoids from the Non-Host Cashew. *Journal of Chemical Ecology*, 44, 397-405. <https://doi.org/10.1007/s10886-018-0937-1>
- Figueira, C. N. T., Dos Santos, R. M., Campesatto, E. A., Lúcio, M., De Araújo, E. C. y De Assis Bastos M. L. (2013). Biological

- activity of the Cocos nucifera L. and its profile in the treatment of diseases: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(5), 297–302.
- Gottwald, T. R., Hall, D. G., Kriss, A. B., Salinas, E. J., Parker, P. E., Beattie, G. A. C. y Nguyen, M. C. (2014). Orchard and nursery dynamics of the effect of interplanting citrus with guava for Huanglongbing, vector, and disease management. *Crop Protection*, 64, 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.014>
- Grafton-Cardwell, E. E., Stelinski, L. L. y Stansly, P. A. (2013). Biology and Management of Asian Citrus Psyllid, Vector of the Huanglongbing Pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58, 413–432. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153542>
- Gross, J., Gallinger, J. y Görg, L. M. (2022). Interactions between phloem-restricted bacterial plant pathogens, their vector insects, host plants, and natural enemies, mediated by primary and secondary plant metabolites. *Entomologia Generalis*, 42(2), 185–215. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2021/1254>
- Hall, D. G., Borovsky, D., Chauhan, K. R. y Shatters, R. G. (2018). An evaluation of mosquito repellents and essential plant oils as deterrents of Asian citrus psyllid. *Crop Protect*, 108, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.014>
- Hill, N., Lenglet, A., Arnéz, A. M. y Carneiro, I. (2007). Plant based insect repellent and insecticide treated bed nets to protect against malaria in areas of early evening biting vectors: double blind randomised placebo controlled clinical trial in the Bolivian Amazon. *British Medical Journal*, 335. <https://doi.org/10.1136/bmj.39356.574641.55>
- Hollingsworth, R. G. (2005). Limonene, a Citrus Extract, for Control of Mealybugs and Scale Insects. *Journal of Economic Entomology*, 98(3), 772–779. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.772>
- Instituto Colombiano Agropecuario. (3 de septiembre de 2012). *El HLB o Huanglongbing aún no ha llegado a Colombia*. <https://www.ica.gov.co/noticias/agricola/2012/el-hlb-o-huanglongbing-aun-no-ha-llegado-a-colombia.aspx>
- Killiny, N., Nehela, Y., George, J., Rashidi, M., Stelinski, L. L. y Lapointe, S. L. (2021). Phytoene desaturase-silenced citrus as a trap crop with multiple cues to attract *Diaphorina citri*, the vector of Huanglongbing. *Plant Science*, 308, 110930. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110930>
- Kogan, M. y Goeden, R. D. (1970). The Host-Plant Range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63(4), 1175–1280. <https://doi.org/10.1093/acesa/63.4.1175>
- Lin, H., Kogan, M. y Fischer, D. (1990). Induced Resistance in Soybean to the Mexican Bean Beetle (Coleoptera: Coccinellidae): Comparisons of Inducing Factors. *Environmental Entomology*, 19(6), 1852–1857.
- Ling, S., Rizvi, S. A., Xiong, T., Liu, J., Gu, Y., Wang, S. y Zeng, X. (2022). Volatile Signals from Guava Plants Prime Defense Signaling and Increase Jasmonate-Dependent Herbivore Resistance in Neighboring Citrus Plants. *Frontiers in plant science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.833562>
- Luis-Pantoja, M., Paredes-Tomás, C., Uneau, Y., Myrie, W., Morillon, R., Satta, E., Contaldo, N., Pacini, F. y Bertaccini, A. (2021). Identification of 'Candidatus Phytoplasma' species in "huanglongbing" infected citrus orchards in the Caribbean. *European Journal of Plant Pathology*, 160, 185–198.
- Mesa, V. A. M., Marín, P. A., Ocampo, O., Calle, J. y Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RLA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1), 23–30.
- Ministerio de Agricultura de Colombia. (2021). Cadena de cítricos indicadores e instrumentos, segundo trimestre. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Citricos/Documentos/2021-06-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Mittal, M., Gupta, N., Parashar, P., Mehra, V. y Khatri, M. (2014). Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *syzygium aromaticum*: A comprehensive review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 67–72.
- Niogret, J., Kendra, P. E., Epsky, N. D. y Heath, R. R. (2011). Comparative analysis of Terpenoid Emissions from Florida Host Trees of the Redbay Ambrosia Beetle, *Xyleborus glabratus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Florida Entomologist*, 94(4), 1010–1017. <https://doi.org/10.1653/1024.094.0439>
- Oliver, J. E., Ali, M. E., Waliullah, S., Price, J., Jacobs, J., Hoppers, A., Evans, R., Dowdy, M. y Curry, S. (2020). Huanglongbing, caused by 'Candidatus Liberibacter Asiaticus', detected in new locations across southern and Coastal Georgia. *Plant Health Progress*, 21(1), 31–35. <https://doi.org/10.1094/PHP-09-19-0064-S>
- Owolabi, M. S. Kazeem, W. Dosoky, N. y Setzer W. N. 2013. The Leaf Essential Oil Composition of *Eugenia javanica* from South West Nigeria and Insecticidal Activity against *Sitophilus zeamais*. *The African Journal of Plant Science and Biotechnology* 7(1): 86–88.
- Pimentel-Farias, A., Vieira-Teodoro, A., Dos Passos, E. M., De Sena-Filho, J. G., Dos Santos, M. C., Rabelo-Coelho, C. y Viteri-Jumbo, L. (2018). Bioactividad de aceites vegetales a *Orthezia praelonga* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Orthezidae) y selectividad a su predador *Ceraoehrysa caligata* (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista de Protección Vegetal*, 33(3).
- PROCOLOMBIA. (5 de octubre de 2021). *El buen momento de los cítricos colombianos*. <https://procolombia.co/colombiatrade/exportador/articulos/el-buen-momento-de-los-citricos-colombianos>
- Ramírez-Godoy, A., Vera-Hoyos, M. D. P., Jiménez-Beltrán, N. y Restrepo-Díaz, H. (2018). Evaluation of Yellow Sticky Traps Baited with Citrus Scents, Coconut Oil, and Commercial Lures as a Simple Tool to Monitor *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Under Tropical Dry Forest Conditions. *Journal of economic entomology*, 111(6), 2746–2754.
- Restrepo García, A. M. y Soto Giraldo, A. (2017). Control alternativo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) utilizando caldo sulfocálcico. *Boletín Científico. Centro de Historia Natural*, 21(2), 51–60. <https://doi.org/10.17151/bccm.2017.21.2.4>
- Sanabria Galindo, A., Universidad Nacional de Colombia y Departamento de Farmacia. (1983). *Análisis fitoquímico preliminar. Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae*.
- Santos Silva, M., Patr, J. M., Barbosa, C., Fancelli, M., Ribeiro Mesquita, P. R., Rodrigues, F. y Selbach Schnadelbach, A. S. (2023). Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) responses to plant-associated volatile organic compounds: A mini-review. *Crop Protection*, 169. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106242>
- Sato, R., Dang, K. M., McPherson, B. G. y Brown, A. C. (2010). Anticancer activity of guava (*Psidium guajava*) extracts. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 7(1), 43. <https://doi.org/10.2202/1553-3840.1361>
- Schmidt, K. y Podmore, I. (2015). Solid Phase Microextraction (SPME) Method Development in Analysis of Volatile Organic Compounds (VOCs) As Potential Biomarkers of Cancer. *Journal of Molecular Biomarkers and Diagnosis*, 6(6). <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9929.1000253>

- Sheikh, Z., Amani, A., Basseri, H. R., Moosa Kazemi, S. H., Sedaghat, M. M., Azam, K., Azizi, M. y Amirmohammadi, F. (2021). Repellent Efficacy of *Eucalyptus globulus* and *Syzygium aromaticum* Essential Oils against Malaria Vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iranian Journal of Public Health*, 50(8), 1668-1677. <https://doi.org/10.18502/ijph.v50i8.6813>
- Silva, D. B., Jiménez, A., Urbaneja, A., Pérez-Hedo, M. y Bento, J. M. S. (2021). Changes in plant responses induced by an arthropod influence the colonization behavior of a subsequent herbivore. *Pest Management Science*, 77(9), 4168-4180. <https://doi.org/10.1002/ps.6454>
- Silva, J. A. A., Hall, D. G., Gottwald, T. R., Andrade, M. S., Maldonado, W., Alessandro, R. T., Lapointe, S. L., Andrade, E. C. y Machado, M. A. (2016). Repellency of selected *Psidium guajava* cultivars to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Crop Protection*, 84, 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.02.006>
- Usha Rani, P., Venkateshwaramma, T. y Devanand, P. (2011). Bioactivities of *Cocos nucifera* L. (Arecales: Arecaceae) and *Terminalia catappa* L. (Myrtales: Combretaceae) Leaf Extracts as post-harvest grain protectants against four major stored product pests. *Journal of Pest Science* 84, 235-247. <https://doi.org/10.1007/s10340-010-0345-y>
- Wei, X., Mira, A., Yu, Q. y Gmitter, F. G. (2021). The Mechanism of Citrus Host Defense Response Repression at Early Stages of Infection by Feeding of *Diaphorina citri* Transmitting Candidatus *Liberibacter asiaticus*. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.635153>
- Yan, Z., Zhang, Q., Zhang, N., Li, W., Chang, C., Xiang, Y., Xya, C., Jiang, T., He, W., Luo, J. y Xu, Y. (2020). Repellency of forty-one aromatic plant species to the Asian citrus psyllid, vector of the bacterium associated with huanglongbing. *Ecology and Evolution*, 10(23), 12940-12948.
- Zaka, S. M., Zeng, X. N., Holford, P. y Beattie, G. A. C. (2010). Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. *Insect Science*, 17(1), 39-45. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01271.x>
- Zhong, Z. F., Zhou, X. J., Lin, J. B., Liu, X. J., Shao, J., Zhong, B. L. y Peng, T. (2019). Effects of leaf colorness, pigment contents and allelochemicals on the orientation of the Asian citrus psyllid among four Rutaceae host plants. *BMC Plant Biology*, 19(254), 1-21. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1818-7>