

# ACTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DEL EXTRACTO DE *Capsicum chinense* Jacq CONTRA *Bemisia tabaci* Genn

Luis Enrique Castillo-Sánchez<sup>1\*</sup>; Juan José Jiménez-Osornio<sup>2</sup>;  
María América Delgado-Herrera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Tizimín. km 3.5 Carretera final aeropuerto Cupul a Tizimín. Tizimín, Yucatán, MÉXICO.  
Correo-e: hymenopterales@hotmail.com (\*Autor para correspondencia)

<sup>2</sup>Departamento de Manejo y Conservación de Recursos Naturales Tropicales,  
Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán.  
A. P. 4-116 Col. Itzinná, Mérida, Yucatán, MÉXICO. C. P. 97100.

<sup>3</sup>Laboratorio de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán.  
Mérida, Yucatán, MÉXICO. C. P. 97150.

## RESUMEN

En los últimos 30 años, los extractos de plantas se han utilizado contra diversas especies de insectos fitófagos y han cobrado importancia como alternativas para el control de insectos plaga porque no afectan el ambiente y son amigables con enemigos naturales de insectos fitófagos. En este estudio se evaluó el efecto insecticida y repelente del extracto de chile habanero (*Capsicum chinense*) sobre adultos de *Bemisia tabaci*. Se realizaron bioensayos de repelencia y mortalidad en frascos de 150 ml de volumen con diversas concentraciones de los capsaicinoides extraídos del chile habanero variedad criolla naranja. El diseño experimental fue completamente al azar en arreglo factorial 8 x 7 (factor tiempo y factor concentraciones de extractos) en el bioensayo de mortalidad, y en el bioensayo de repelencia el arreglo factorial fue de 8 x 8 (factor tiempo y factor concentraciones de extractos) con cuatro repeticiones para cada tratamiento. Las concentraciones del 30 y 40 % de extracto tuvieron mayor efecto de mortalidad con respecto a los demás. En cuanto a la repelencia, las concentraciones >30 % de extracto presentan mayor repelencia con respecto a las demás concentraciones. En cuanto al factor tiempo, los resultados indican que *C. chinense* presenta efecto repelente desde la primera hora de exposición hacia *B. tabaci*.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** Bioensayos, chile habanero, insecticida orgánico, repelencia.

## THE *in vitro* BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Capsicum chinense* Jacq EXTRACT AGAINST *Bemisia tabaci* Genn

## ABSTRACT

Over the last 30 years, plant extracts have been used against several phytophagous insect species, gaining importance as alternatives for pest control, because they do not affect the environment and are friendly to phytophagous insects' natural enemies. In the present work, the insecticidal and repellent effects of *C. chinense* extract against *B. tabaci* adults were appraised. Repellency and mortality bioassays were performed using a flask (150 mm) with different concentrations of capsaicinoids extracted from habanero peppers (*Capsicum chinense*), local orange variety. A random experimental design was used with an 8 X 7 factorial arrangement for the mortality bioassay, and an 8 x 8 factorial arrangement for the repellency effect, with four replications per treatment. Concentrations of 30 and 40 % of the extract showed a higher mortality effect than others. Concerning the repellency, treatments >30 % of extract showed a higher repellency compared to other treatments. The results showed that *C. chinense* has a repellent effect during the first hour of exposure against *B. tabaci*.

**ADDITIONAL KEYWORDS:** Bioassays, habanero pepper, organic insecticide, repellency.

## INTRODUCCIÓN

La plaga de mayor importancia económica del cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) (Soria *et al.*, 2003). Ocasiona pérdidas de producción que pueden alcanzar hasta el 90 % (Ruiz y Medina, 2001). Además de causar daños directos por su alimentación, dicha especie actúa como vector de virus (Bielza *et al.*, 2000). De acuerdo con el paquete tecnológico para el chile habanero presentado por Soria *et al.* (2003), se recomienda la aplicación de insecticidas sintéticos del grupo de los carbamatos, organofosforados y neonicotinoides para el control de insectos plaga. Sin embargo, estos insecticidas causan problemas de contaminación ambiental, peligro de intoxicación en personas, riesgo de residuos tóxicos al consumidor, desarrollo de resistencia en los insectos plaga y muerte en enemigos naturales de plagas (Iannacone y Lamas, 2003; Viglianco *et al.*, 2006). Adicionalmente, *B. tabaci* posee alto potencial reproductivo, con elevada fecundidad y ciclo de vida corto, por lo cual es muy difícil controlarla en áreas de cultivos hortícolas (Bethke *et al.*, 1991).

Para atender esta problemática, se considera necesaria la búsqueda de alternativas de control, con menos riesgos para el ambiente, la salud humana y de mayor eficacia contra los insectos-plaga. Tal es el caso de sustancias derivadas del metabolismo secundario de las plantas (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007; Salvadores *et al.*, 2007).

En las últimas tres décadas, los extractos de plantas han sido usados contra diversas especies de insectos fitófagos (Clemente *et al.*, 2003), porque no afectan el ambiente y son menos dañinos con los enemigos naturales de insectos plaga (Iannacone y Lamas, 2003; Aggarwal y Brar, 2006). Se ha encontrado que los insectos no crean resistencia a los extractos de plantas debido a que son una mezcla de metabolitos secundarios (Valladares *et al.*, 2003).

Alrededor de 2000 especies vegetales tienen potencial de manejo para el control de insectos plaga. Las familias que destacan son Euphorbiaceae, Asteraceae, Labiatae, Fabaceae, Compositae y Solanaceae (Jermy, 1990). En general, los metabolitos secundarios se pueden clasificar en insecticidas, aquellos que causan la muerte de los insectos, y los insectistáticos, que se refieren a la inhibición del desarrollo y comportamiento de los insectos. Por ejemplo, los repelentes, que ahuyentan a los insectos de sus plantas hospederas (Celis *et al.*, 2008).

En la revisión de Castillo *et al.* (2010), se presentan los compuestos y la actividad biológica de varias especies de tres familias: Annonaceae, Solanaceae y Meliaceae. En especial, en la familia Solanaceae se han obtenido extractos (polvos, acuosos y pastas) que poseen efecto insecticida y repelente sobre diversas especies de insectos (Pascual-Villalobos, 1998; Mareggiani, 2001).

Las especies del género *Capsicum* sintetizan capsaicnoides, de los cuales, la capsaicina y la dihidrocapsaicina

## INTRODUCTION

The whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) is the most economically important pest of the habanero pepper crop (*Capsicum chinense* Jacq.) (Soria *et al.*, 2003). This pest causes production losses that can reach up to 90 % (Ruiz and Medina, 2001). It causes direct damage due its feeding habits; in addition, this species acts as virus vector (Bielza *et al.*, 2000). According to the technological package for habanero pepper presented by Soria *et al.* (2003), it is recommended to use synthetic insecticides (carbamates, organophosphates and neonicotinoids) to control pest insects. However, these pesticides cause environmental problems, risk of poisoning in people, risk of toxic residues when being consumed, pest insects resistances development and the death of insects' natural enemies (Iannacone and Lamas, 2003; Viglianco *et al.*, 2006). In addition, *B. tabaci* has high reproductive potential, with high fertility and short life cycle, so in horticulture crop areas it is very difficult to control this pest (Bethke *et al.*, 1991).

To address this problem, it is necessary to seek for control alternatives, with less risk for the environment, human health, and greater efficiency against pest insects. That is the case of substances derived from the plant secondary metabolism (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007; Salvadores *et al.*, 2007).

In the last three decades, plant extracts have been used against several phytophagous insect species (Clemente *et al.*, 2003) gaining importance as alternatives for pest control, because they do not affect the environment and are friendly to phytophagous insects' natural enemies (Iannacone and Lamas, 2003; Aggarwal and Brar, 2006). It has been discovered that insects do not create plant extract resistance because this extract is a mixture of secondary metabolites (Valladares *et al.*, 2003).

About 2,000 plant species have management potential to control pest insects. Euphorbiaceae, Asteraceae, Labiatae, Fabaceae, Solanaceae and Compositae are the main families (Jermy, 1990). In general, secondary metabolites can be insecticides classified into those that cause the death of insects, and the insectistatics, which refer to the inhibition of the development and behavior of the insects. For example, repellents that repel the insects from their host plants (Celis *et al.*, 2008).

In the review of Castillo *et al.* (2010), we can observe the compounds and biological activity of several species of three families: Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae. Extracts (powders, aqueous and pulp) were obtained, in particular, from the Solanaceae family, which have insecticidal and repellent effect against various insect species (Pascual-Villalobos, 1998; Mareggiani, 2001).

*Capsicum* species synthesize capsaicinoids of which capsaicin and dihydrocapsaicin provoke up to 90 % of the pungency in peppers (López, 2003; Cázares *et al.*, 2005). In recent years, it has been shown that capsaicinoids show

son responsables hasta del 90 % de la pungencia en los chiles (López, 2003; Cázares *et al.*, 2005). En los últimos años se ha demostrado que los capsaicinoides presentan actividad biológica contra insectos, como el efecto tóxico sobre *Myzus persicae* (Sulzer) (Edelson *et al.*, 2002) y efecto antialimentario sobre *Earias insulana* (Boisduval) (Weissenberg *et al.*, 1986). Actualmente, en los Estados Unidos de América, existen patentes de insecticidas y agentes de control que contienen capsaicinoides (Eich, 2008). Además, se han introducido como repelentes para el manejo de plagas en la agricultura y se utilizan como sinergistas con insecticidas sintéticos (Liu y Lin, 2003).

Los capsaicinoides se sintetizan y acumulan en el tejido de la placenta adyacente a las semillas (Ben Chaim *et al.*, 2006), y su contenido depende del genotipo, la madurez del fruto y de las condiciones de cultivo (Zewdie y Bosland, 2000).

En este trabajo se evaluó, bajo condiciones *in vitro*, la actividad biológica del extracto de capsaicinoides del fruto del chile habanero variedad criolla naranja, en plántulas de la misma especie, contra la mosca blanca, con la finalidad de determinar su actividad insecticida y repelente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colecta de insectos

Los adultos de *B. tabaci* utilizados en los bioensayos se obtuvieron del cultivo de chile habanero variedad criolla naranja establecido en bolsas negras, en el invernadero del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CCBA), de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). A cada bolsa se le agregó composta con proporción 3:1 de tierra roja y estiércol de borrego; después del trasplante, no se utilizó ningún fertilizante químico y se aplicó por única vez un acaricida (Ingrediente activo, abamectina; dosis, 50-70 cm<sup>3</sup>·hl), para controlar la presencia de ácaros rojos (*Tetranychus urticae* Koch).

Dos semanas después del trasplante, se infestó la plantación con adultos de mosca blanca colectados en plantaciones de chile habanero, cercanas a la localidad de X'matkuil. Mes y medio después de la infestación, se inició la colecta de adultos de moscas para realizar los bioensayos. Se colectaron 320 adultos de mosca blanca cuando se realizó el bioensayo de repelencia, y para el bioensayo de mortalidad se utilizaron 280 adultos. Estos insectos se colectaron el día que fue evaluada cada actividad biológica.

### Material vegetativo

Los experimentos fueron realizados con extractos obtenidos de frutos de chile habanero colectados semanalmente en plantas cultivadas en condiciones de invernadero. La colecta de frutos de chile habanero se realizó cuando éstos alcanzaron la madurez fisiológica. El muestreo fue sistemático (cinco de oros) recolectando 1 kg de chile habanero que fue suficiente para realizar la investi-

biological activity against insects such as: the toxic effect against *Myzus persicae* (Sulzer) (Edelson *et al.*, 2002) and the antifeedant effect against *Earias insulana* (Boisduval) (Weissenberg *et al.*, 1986). In the present, in the United States, there are patents for insecticides and control agents containing capsaicinoids (Eich, 2008). In addition, they have been introduced as repellents for pest management in agriculture and used as synthetic insecticides synergists (Liu and Lin, 2003).

Capsaicinoids synthesize and accumulate in the tissue of the placenta adjacent to the seeds (Ben Chaim *et al.*, 2006) and their content depends on genotype, fruit maturity and growing conditions (Zewdie and Bosland, 2000).

This work evaluated, under *in vitro* conditions, the biological activity of the capsaicinoids extract of the habanero pepper fruit, local orange variety, in seedlings of the same species, against the whitefly, in order to determine its insecticidal and repellent activity.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection of insects

*B. tabaci* adults used in bioassays were obtained from the habanero pepper crop, local orange variety placed in black plastic bags in the greenhouse at the Biological and Agricultural Sciences Campus at the University of Yucatan. Red soil and sheep manure was added (ratio 3:1) to each bag. No chemical fertilizer was used after transplanting, and only once an acaricide (active ingredient, abamectin; sode 50-70 cm<sup>3</sup>·hl) was applied to control the presence of red mites (*Tetranychus urticae* Koch).

Two weeks after transplanting, the plantation was infested with whitefly adults collected from habanero pepper plantations, near to X'matkuil. The collection of whitefly adults started one month and a half after the infestation began to perform bioassays. A total of 320 whitefly adults were collected when the repellency bioassay was conducted, and 280 whitefly adults when the mortality bioassay was performed. These insects were collected the day that each biological activity was assessed.

### Plant material

Experiments were conducted using extracts obtained from habanero pepper fruits collected weekly from plants grown under greenhouse conditions. The collection of habanero pepper fruits was performed when fruits showed physiological maturity. Sampling was systematic (the four cardinal points and the center were taken as sampling areas) collecting 1 kg habanero pepper; this was enough to do the research (Morón and Terrón, 1988). The samples collected were placed in paper bags, previously tagged with sampling data (date, time, collecting site).

### Obtaining capsaicinoids for HPLC Analysis

At the laboratory, fruits were washed with a solution (1:1) of distilled water and Extran® (cleaning product for la-

gación (Morón y Terrón, 1988). Las muestras colectadas se depositaron en bolsas de papel estraza previamente etiquetadas con los datos de muestreo (fecha, hora, sitio de colecta).

### Obtención de los capsaicinoides para análisis de HPLC

En el laboratorio, los frutos se lavaron con una solución 1:1 de agua destilada y Extran® (producto de limpieza para laboratorios) para eliminar cualquier materia extraña que estuviera presente. Posteriormente, los frutos enteros de chile habanero se secaron en una liofilizadora a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por un lapso de 24 horas.

Una vez secos, los frutos (850 g) se molieron con una picadora marca Moulinex, modelo DPA137, procurando que el tamaño de la partícula fuera homogénea, utilizando un tamiz con el número de malla de 2 mm de abertura. Finalmente, la muestra molida (790 g) se almacenó en frascos de plástico previamente etiquetados con los datos del muestreo, y fue conservada en refrigeración ( $4\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Para extraer los capsaicinoides se siguió el método descrito por Collins *et al.* (1995). Se pesó 1 g de la muestra molida y se colocó en un matraz volumétrico de 50 ml. Posteriormente, se añadieron 10 ml de acetonitrilo, se selló el matraz con papel parafilm para evitar la evaporación del acetonitrilo, y se colocó en baño María modelo LAB LINE a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante cuatro horas, con agitación constante. Transcurrido ese tiempo la muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró el sobrenadante con papel Whatman No. 1 de 125 mm de diámetro. Se realizó un segundo filtrado utilizando filtros millipore de  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  de poro y 25 mm de diámetro. El filtrado final se aforó a 10 ml con acetonitrilo, después fue colocado en un vial ámbar y se almacenó en refrigeración hasta su análisis. La extracción se realizó por duplicado.

### Cuantificación de los capsaicinoides en HPLC

El extracto fue diluido preparando una solución de extracto-acetonitrilo a una relación 1:10 en un volumen de 1 ml. La dilución se realizó por duplicado. Posteriormente se cuantificaron los capsaicinoides en un equipo de HPLC Perkin-Elmer serie 200 a partir de las condiciones establecidas por Collins *et al.* (1995). Se utilizó una columna fase reversa C18 y como fase móvil se empleó metanol-agua con una relación de 73:27. El tiempo de corrida fue de nueve minutos (min) a un flujo de  $1.6\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Se inyectaron  $20\text{ }\mu\text{l}$  de la muestra y la longitud de onda empleada para el análisis fue de 280 nm. Debido a la sensibilidad del equipo se realizó una sola inyección del extracto. Posteriormente, se preparó una curva de calibración empleando un estándar de Capsaicina (CAP) y Dihidrocapsaicina (DHC) 65:35, respectivamente, marca SIGMA. Las concentraciones de la curva fueron 10, 20, 30, 50, 60 y 100 ppm.

### Obtención del extracto para realizar los bioensayos

El extracto utilizado en los bioensayos se obtuvo por medio de etanol. Para realizar la extracción etanólica, se

boratories]) to remove any foreign matter. Then, the whole habanero pepper fruits were dried using a lyophilizer at  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , for a period of 24 hours.

Once fruits were dried, 850 g of them were ground with a Moulinex grinder, model DPA137, trying that the particle size was homogeneous, using a sieve with a mesh opening size of 2 mm. Finally, the ground sample (790g) was stored in plastic bottles previously tagged with sampling data, and kept under refrigeration ( $4\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). The method described by Collins *et al.* (1995) was conducted to extract the capsaicinoids. One g of the sample was weighed and placed in a 50 ml volumetric flask. Subsequently, 10 ml acetonitrile were added, and the flask was sealed with parafilm paper to prevent acetonitrile evaporation, then the flask was placed in a double boiler LAB LINE at  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , for four hours. After that, the sample was let to cool to room temperature and the supernatant was filtered using Whatman paper no. 1 of 125 mm (diameter). A second filtration was conducted using millipore filters of  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  (pore) and 25 mm (diameter). The final filtered result was diluted to 10 ml with acetonitrile, then placed in an amber vial and stored under refrigeration until analysis. Extraction was performed in duplicate.

### Quantification of capsaicinoids in HPLC

The extract was diluted preparing a solution of extract-acetonitrile at a ratio of 1:10 in a 1 ml volume. The dilution was performed in duplicate. Then, the capsaicinoids were quantified using a Perkin-Elmer Serie 200 HPLC according to the conditions by Collins *et al.* (1995). A reverse phase column C18 was used and as mobile phase we use methanol-water with a ratio of 73:27. The running time was nine minutes at a flow of  $1.6\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . A total of  $20\text{ }\mu\text{l}$  of the sample were injected and the wavelength used for the analysis was 280 nm. A single injection of the extract was conducted, due to the sensitivity of the equipment. Subsequently, a calibration curve was prepared using Capsaicin (CAP) and Dihydrocapsaicin (DHC) 65:35, respectively, SIGMA trademark. Curve concentrations were 10, 20, 30, 50, 60 and 100 ppm.

### Obtaining the extract for bioassays

The extract used in the bioassays was obtained through ethanol. To conduct the ethanol extraction, 100 g of the ground sample were weighed following the methodology proposed by Woisky and Salatino (1998), with some changes (increased rpm and more time for extraction). The 100 g of ground sample were placed in an amber glass flask, to which 266 ml of reagent grade ethanol were added with constant stirring using a stirrer LAB LINE (1200 rpm), for a week, at room temperature ( $25\text{--}28\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). The supernatant was filtered every 48 hours and the same amount of ethanol (266 ml) was added, during this period. After a week, the filtrates were concentrated using a rotary evaporator at  $45\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , to remove the ethanol and finally obtain the habanero pepper extract. The extractions for bioassays were performed in triplicate.



pesaron 100 g de la muestra molida, siguiendo la metodología propuesta por Woisky y Salatino (1998), con algunas modificaciones (incremento de rpm y mayor tiempo de extracción). Los 100 g de muestra molida se depositaron en un frasco de vidrio color ámbar, al cual se añadieron 266 ml de etanol grado reactivo y se mantuvo en agitación constante con un agitador LAB LINE (1200 rpm), por una semana, a temperatura ambiente (25-28 °C). Durante ese periodo se filtró el sobrenadante cada 48 horas y se le añadió la misma cantidad de etanol (266 ml). Una vez transcurrida la semana, los filtrados fueron concentrados mediante un rotavapor marca Büchi, a 45-50 °C, hasta eliminar el etanol y obtener finalmente el extracto de chile habanero. La extracción para los bioensayos se realizó por triplicado.

### Preparación de las concentraciones a evaluar

Las concentraciones de la extracción etanólica de *C. chinense* se prepararon de acuerdo con una relación peso/volumen (p/v) para ser utilizadas en los bioensayos. De tal manera que para preparar la concentración al 10 % se utilizaron 2 g del extracto y se aforó a 20 ml con diclorometano, el cual fue utilizado como disolvente.

### Bioensayos de mortalidad y repelencia

Se prepararon cinco soluciones a diferentes concentraciones (5, 10, 20, 30 y 40 %) para evaluar el bioensayo de mortalidad y seis soluciones (5, 10, 20, 30, 40 y 50 %) para el bioensayo de repelencia, más los dos testigos (agua destilada y diclorometano).

En ambos bioensayos se utilizaron grupos de 10 adultos de mosca blanca, mismos que se depositaron en un frasco de plástico de 150 ml, a una temperatura de 25±2 °C. Las tapas de los frascos fueron perforadas. Se depositó un pedazo de tela tricot como base del frasco, en la cual se colocó el papel filtro Whatman no. 1. Sobre el papel Whatman se aplicaron 0.3 ml de la solución evaluada de acuerdo con el tratamiento. El papel filtro se dejó reposar a temperatura ambiente 30 minutos antes de transferirlo a los frascos que contenían los insectos. A cada frasco por tratamiento se le agregó una hoja de chile habanero, como alimento para los insectos.

En los bioensayos de repelencia, para cada repetición de los tratamientos, se unieron dos frascos de 150 ml por medio de un tubo de plástico transparente de 4 cm de longitud y 6 mm de diámetro. Los frascos fueron enumerados como número 1 y 2. En el número 1 se colocaron los insectos y se le añadió una hoja con la concentración del extracto del chile habanero a evaluar. En el frasco número 2 solamente se añadió una hoja sin extracto, esto fue con el objetivo de observar la repelencia del extracto hacia los insectos.

En los bioensayos de mortalidad, antes de realizar los análisis estadísticos, se ajustaron los valores (datos) según la fórmula de Abbott corregida (Carreras *et al.*, 2009):

### Preparing the concentrations to be evaluated

Concentrations of ethanolic extractions of *C. chinense* were prepared according to the relation weight/volume (w/v) to be used in bioassays. A total of 2 g extract were used to prepare the concentration at 10 %, and it was diluted to 20 ml with dichloromethane, which was used as solvent.

### Mortality and repellency bioassays

A total of five solutions were prepared at different concentrations (5, 10, 20, 30 and 40 %) to evaluate the mortality bioassay and six solutions (5, 10, 20, 30, 40 and 50 %) for the repellency bioassay, plus two control treatments (distilled water and dichloromethane).

Groups of 10 whitefly adults were used in both bioassays; these groups were placed in a 150 ml plastic bottle at a temperature of 25±2 °C. The bottle caps were perforated. A piece of tricot fabric was used and placed at the base of the bottle, on this fabric a piece of Whatman paper no. 1 was placed. A total of 0.3 ml of solution evaluated according to the treatment was added on the Whatman paper. This filter paper was let stand at room temperature for 30 minutes before being placed in the bottles containing the insects. One habanero pepper leaf was placed in each flask as food for insects.

Two flasks of 150 ml were connected using a transparent plastic tube (4 cm length, 6 mm diameter), for each repetition treatment in the case of repellency bioassays. A number was assigned to the flask (1 and 2). Insects were placed in flask number 1, as well as, one leaf with the concentration of the habanero pepper. One leaf without extract was placed in flask number 2, with the aim of observing repellency of the extract against insects.

Values were adjusted (data) according to the Abbott's formula (Carreras *et al.*, 2009) before the statistical analyzes were conducted, in the case of mortality bioassays:

$$\% \text{ Corrected mortality} = \left[ \frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right] \times 100, \text{ where}$$

Mt = mortality in treatment and

Mta = mortality in control treatment.

Repellency index was determined with the formula used by Salvadores *et al.* (2007), in the case of the repellency bioassays:

G= percentage of insects in the treatment and,

P= percentage of insects in the control treatment

$$\text{Repellency index} = \frac{2G}{G+P}, \text{ where}$$

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \left[ \frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right] \times 100, \text{ donde}$$

mt= es la mortalidad en el tratamiento y

mta= es la mortalidad en el tratamiento testigo.

En los bioensayos de repelencia se determinó el índice de repelencia con la fórmula utilizada por Salvadores *et al.* (2007):

$$\text{Índice de repelencia} = \frac{2G}{G+P}, \text{ donde}$$

G= es el porcentaje de insectos en el tratamiento y

P= es el porcentaje de insectos en el testigo

El índice de repelencia, se clasifica como neutro si el índice es igual a uno, atrayente si es mayor a uno y repelente si es menor a uno.

### Diseño experimental para los bioensayos

El diseño experimental fue completamente aleatorio en arreglo factorial ocho por siete en el bioensayo de mortalidad; mientras que el bioensayo de repelencia tuvo un arreglo factorial ocho por ocho, con cuatro repeticiones para cada tratamiento.

En ambos bioensayos, el factor A fue el tiempo de evaluación, con ocho niveles ( $A_1 = 1$  h,  $A_2 = 2$  h,  $A_3 = 3$  h,  $A_4 = 4$  h,  $A_5 = 5$  h,  $A_6 = 6$  h,  $A_7 = 7$  h,  $A_8 = 8$  h). El factor B fueron las concentraciones y los testigos, con siete niveles para el bioensayo de mortalidad ( $B_1 = 5\%$ ,  $B_2 = 10\%$ ,  $B_3 = 20\%$ ,  $B_4 = 30\%$ ,  $B_5 = 40\%$ ,  $B_6 = \text{Control}$  y  $B_7 = \text{Diclorometano}$ ). En el bioensayo de repelencia, el factor B estuvo conformado de ocho niveles ( $B_1 = 5\%$ ,  $B_2 = 10\%$ ,  $B_3 = 20\%$ ,  $B_4 = 30\%$ ,  $B_5 = 40\%$ ,  $B_6 = 50\%$ ,  $B_7 = \text{Control}$  y  $B_8 = \text{Diclorometano}$ ).

Para analizar los resultados de mortalidad y repelencia se empleó un análisis de varianza multivariado con base en permutaciones (Anderson, 2001), para determinar diferencias entre cada factor, así como la posible interacción entre ambos factores. Los datos se transformaron para reducir la diferencia de escalas entre ellas ( $\ln x + 1$ ). Se utilizó la medida de disimilitud de Bray-Curtis para la prueba estadística y se calcularon todos los valores de P con 9999 permutaciones con  $\alpha = 0.05$ . Se seleccionó el análisis PERMANOVA, porque los datos obtenidos en los bioensayos no cumplían con el supuesto de normalidad y de homogeneidad de varianzas.

Para detectar los niveles que fueron diferentes en cada uno de los factores (concentraciones y tiempo), se utilizaron intervalos de confianza de Bonferroni al 95 % para los bioensayos de mortalidad, y para los bioensayos

Repellency index is classified as neutral if the index is equal to one, attractive if it is higher than 1 and repellent if it is less than one.

### Experimental design for bioassays

A random experimental design with an 8 x 7 factorial arrangement was used for mortality bioassay, while the repellency bioassay had an 8 x 8 factorial arrangement with four replications for each treatment.

Factor A was the assessment time, with eight levels ( $A_1 = 1$  h,  $A_2 = 2$  h,  $A_3 = 3$  h,  $A_4 = 4$  h,  $A_5 = 5$  h,  $A_6 = 6$  h,  $A_7 = 7$  h,  $A_8 = 8$  h) in both bioassays. Factor B were the concentrations and control treatments, with seven levels ( $B_1 = 5\%$ ,  $B_2 = 10\%$ ,  $B_3 = 20\%$ ,  $B_4 = 30\%$ ,  $B_5 = 40\%$ ,  $B_6 = \text{Control}$  and  $B_7 = \text{Dichloromethane}$ ) in the case of the mortality bioassay. Factor B was comprised of eight levels ( $B_1 = 5\%$ ,  $B_2 = 10\%$ ,  $B_3 = 20\%$ ,  $B_4 = 30\%$ ,  $B_5 = 40\%$ ,  $B_6 = 50\%$ ,  $B_7 = \text{Control}$  and  $B_8 = \text{Dichloromethane}$ ) in the case of the repellency bioassay.

A multivariate analysis of variance was conducted based on permutations (Anderson, 2001) to analyze the results of mortality and repellency with the purpose of determining the differences between each factor and the possible interaction between the two factors. Data was transformed to reduce the difference in scale between them ( $\ln x + 1$ ). The Bray-Curtis similarity measure was used for the statistical test and all P values with 9999 permutations with  $\alpha = 0.05$  were calculated. The PERMANOVA analysis was selected because the data obtained in bioassays did not meet the assumption of normality and homogeneity of variances.

Bonferroni confidence intervals at 95 % were used for mortality bioassays, and the standard error for repellency bioassays to detect the levels that were different in each factor (concentrations and time). The Probit analysis was conducted to determine the lethal concentration to kill 50 % of the individuals ( $CL_{50}$ ) and the lethal time required to kill 50 % of the individuals ( $TL_{50}$ ) (López-Pérez *et al.*, 2007). The PERMANOVA software (Anderson, 2005) was used to perform the multivariate analysis. The Bonferroni analysis and the Probit analysis were obtained using the software STATGRAPHICS Plus 5.1.

## RESULTS

### Ethanol extract yield and HPLC analysis

A total of  $21.98 \pm 1$  g of extract was obtained from 100 g of ground sample of habanero pepper used for ethanol extraction; thus, we obtained 22 % of yield in the extract of *C. chinense*. The High Performance Liquid Chromatography analysis (HPLC) showed the total concentration of capsaicinoids of the lyophilized whole fruit (LWF). Also total concentration of capsaicin and dihydrocapsaicin were obtained. Therefore, a capsaicin standard (CAP) and Dihydrocapsaicin (DHC) 65:35 were used, respectively, SIGMA

de repelencia se graficó el error estándar. Además se realizó el análisis Probit para determinar la concentración letal para matar al 50 % de los individuos ( $CL_{50}$ ) y el tiempo letal necesario para observar la mortalidad del 50 % de los individuos ( $TL_{50}$ ) (López-Pérez *et al.*, 2007). Para el análisis multivariado se utilizó el software PERMANOVA (Anderson, 2005). El análisis de Bonferroni y el análisis Probit se obtuvieron por medio del software STATGRAPHICS Plus 5.1.

## RESULTADOS

### Rendimiento del extracto etanólico y análisis de HPLC

En 100 g de muestra molida de chile habanero que se utilizó para la extracción etanólica, se obtuvo un total de  $21.98 \pm 1$  g de extracto, por lo tanto se logró 22 % de rendimiento en el extracto de *C. chinense*. En el análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se identificó la concentración total de capsaicinoides del fruto entero liofilizado (FEL). También se obtuvo la concentración total de la capsaicina y la dihidrocapsaína. Para ello, se utilizó un estándar de Capsaicina (CAP) y Dihidrocapsaína (DHC) 65:35 respectivamente, marca SIGMA. Los resultados generados se presentan en el Cuadro 1. Posteriormente los resultados se analizaron de acuerdo con los dos factores (concentración del extracto y tiempo) en ambos tipos de bioensayos (mortalidad y repelencia).

### Bioensayos de mortalidad

Los bioensayos de mortalidad para el factor concentraciones (PERMANOVA,  $F = 3.6$ , g.l. = 6,  $P < 0.05$ ) y el factor tiempo (PERMANOVA,  $F = 10.2$ , g.l. = 7,  $P < 0.05$ ) mos-

trademark. The results obtained are shown in Table 1. Subsequently, the results were analyzed according to the two factors (extract concentration and time) in both bioassays (mortality and repellency).

### Mortality bioassays

Mortality bioassays for the factor concentrations (PERMANOVA,  $F = 3.6$ , g.l. = 6,  $P < 0.05$ ) and the factor time (PERMANOVA,  $F = 10.2$ , g.l. = 7,  $P < 0.05$ ) showed significant differences; however, the interaction between both factors showed no difference at a confidence level of 95 % (PERMANOVA,  $F = 0.6$ , g.l. = 42,  $P > 0.05$ ). All concentrations assessed provoked the death of *B. tabaci*.

Figure 1 shows that there are two different groups of concentrations, highlighting the concentrations of 30 and 40 % of extract of *C. chinense*, since these concentrations provoked the death of more than 50 % of the individuals of *B. tabaci*. The median lethal concentration ( $LC_{50}$ ) of the extract of *C. chinense* obtained by the Probit analysis (figure 2) was 29.40 % (I.C. 95 % = 25.28-35.07) ( $P < 0.01$ ,  $R^2 = 85.06$ ,  $x^2 = 39.64$ ). Figure 3 shows that the last three hours show significant mortality in *B. tabaci* population.

A Probit analysis was conducted to obtain the median lethal time ( $TL_{50}$ ) of the concentration (30 %) that provoked greater mortality and to determine the time required to kill 50 % of the *B. tabaci* population (Figure 4). The result was 7.31 hours (I.C. 95 % = 7.12-7.53) ( $P < 0.01$ ,  $R^2 = 97.87$ ,  $x^2 = 665.48$ ).

### Repellency bioassays

Significant differences at a confidence level of 95 % were obtained from the repellency bioassays for the fac-

CUADRO 1. Concentración de capsaicinoides en el fruto de chile habanero.

Muestra/ Sample	Capsaicina / Capsaicin (mg·kg <sup>-1</sup> )	Dihidrocapsaína / dihydrocapsaicin (mg·kg <sup>-1</sup> )	Capsaicinoides totales / Total capsaicinoids (mg·kg <sup>-1</sup> )	Unidades Scoville / Scoville Units
FEL <sup>z</sup> / LWF <sup>z</sup>	679.4	514.1	1193.6	17,903.5

<sup>z</sup>FEL: Fruto Entero Liofilizado / <sup>z</sup>LWF: Lyophilized whole fruit

traron diferencia significativa; sin embargo, la interacción entre ambos factores no mostraron diferencia a un nivel de confianza del 95 % (PERMANOVA,  $F = 0.6$ , g.l. = 42,  $P > 0.05$ ). Todas las concentraciones evaluadas causaron mortalidad de *B. tabaci*.

En la Figura 1 se observa que existen dos grupos diferenciados de concentraciones, destacando las concentraciones que poseen 30 y 40 % de extracto de *C. chinense*, ya que mataron más del 50 % de los individuos de *B. tabaci*. La concentración letal media ( $CL_{50}$ ) del extracto de *C. chinense* por medio del análisis Probit (Figura 2) fue de 29.40 % (I.C. 95 % = 25.28-35.07) ( $P < 0.01$ ,  $R^2 = 85.06$ ,  $x^2 = 39.64$ ). En la Figura 3, se muestra que las tres últimas horas presentan mortalidad significativa sobre *B. tabaci*.

Se realizó un análisis Probit, para obtener el tiempo letal medio ( $TL_{50}$ ) de la concentración (30 %) que causó mayor mortalidad y para determinar el tiempo necesario

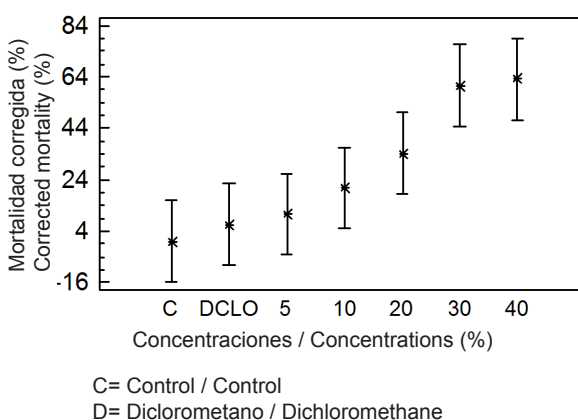


FIGURA 1. Mortalidad de *B. tabaci* sometido a diferentes concentraciones del extracto de *C. chinense*.

FIGURE 1. *B. tabaci* submitted to different concentrations of the extract of *C. chinense*.

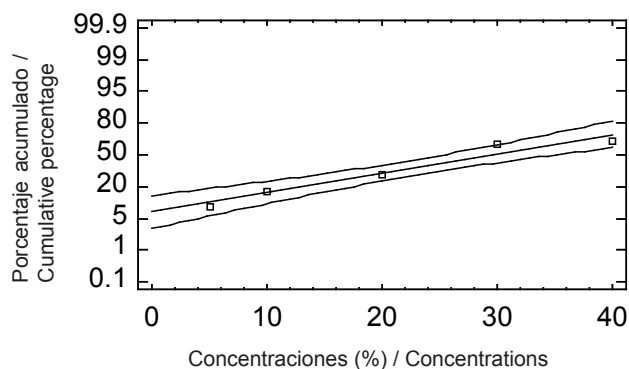


FIGURA 2. Análisis Probit para la concentración  $CL_{50}$  del extracto etanólico de *C. chinense*.

FIGURE 2. Probit analysis to obtain the  $CL_{50}$  concentration of the ethanol extract of *C. chinense*.

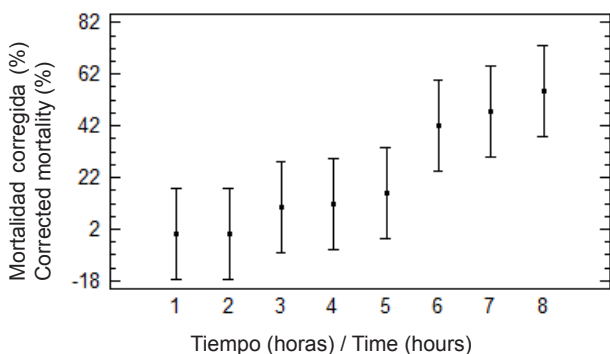


FIGURA 3. Mortalidad de *B. tabaci* con diferentes concentraciones de extracto etanólico de *C. chinense* en un intervalo de tiempo de ocho horas.

FIGURE 3. Mortality of *B. tabaci* with different concentrations of ethanol extract of *C. chinense* in a time interval of 8 hours.

para matar al 50 % de la población de *B. tabaci* (Figura 4). El resultado fue de 7.31 horas (I.C. 95 % = 7.12-7.53) ( $P < 0.01$ ,  $R^2 = 97.87$ ,  $\chi^2 = 665.48$ ).

### Bioensayos de repelencia

En los bioensayos de repelencia se obtuvieron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95 % para el factor concentraciones (PERMANOVA,  $F = 3.1$ , g.l. = 6,  $P < 0.05$ ) y el factor tiempo (PERMANOVA,  $F = 5.9$ , g.l. = 7,  $P < 0.05$ ), así como la interacción entre ambos factores (PERMANOVA,  $F = 2.6$ , g.l. = 42,  $P < 0.05$ ).

El índice de repelencia (I. R.) mostró que todos los tratamientos con extracto presentaron efecto repelente, siendo las concentraciones de 40 y 50 % las de mayor efecto, en cambio el menor efecto repelente lo presenta el tratamiento testigo cuyo valor es 1.0 (Cuadro 2, Figura 5).

En los bioensayos de repelencia, a partir de la hora uno se observa el efecto de repelencia (50 %) con respecto a las horas siguientes (Figura 6).

CUADRO 2. Índice de repelencia para *Bemisia tabaci* con extractos de *Capsicum chinense* a diferentes concentraciones.

TABLE 2. Repellency index for *Bemisia tabaci* with extracts of *Capsicum chinense* at different concentrations.

Tratamiento Treatment	Porcentaje de repelencia Repellency percentage	Índice de repelencia Repellency index
C <sup>y</sup>	10	1.0
DCLO	12.5	0.98
5 %	57.5	0.64 <sup>z</sup>
10 %	62.5	0.59 <sup>z</sup>
20 %	82.5	0.33 <sup>z</sup>
30 %	87.5	0.24 <sup>z</sup>
40 %	95.0	0.11 <sup>z</sup>
50 %	95	0.11 <sup>z</sup>

<sup>y</sup>Repelente de acuerdo a los criterios de Salvadores et al., 2007. <sup>y</sup>C: Control; D: Diclorometano. / <sup>z</sup> Repellency according to the criteria of Salvadores et al., 2007. <sup>y</sup>C: Control; D: Dichloromethane.

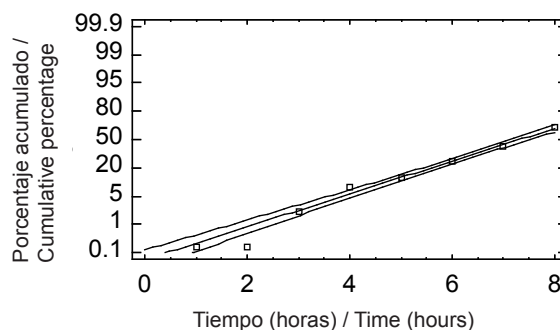


FIGURA 4. Análisis Probit para la determinación del tiempo letal  $_{50}$  del extracto etanólico de *C. chinense*.

FIGURE 4. Probit analysis to determine the lethal time  $_{50}$  of the ethanol extract of *C. chinense*.

tor concentrations (PERMANOVA,  $F = 3.1$ , g.l. = 6,  $P < 0.05$ ) and the factor time (PERMANOVA,  $F = 5.9$ , g.l. = 7,  $P < 0.05$ ), as well as, the interaction between both factors (PERMANOVA,  $F = 2.6$ , g.l. = 42,  $P < 0.05$ ).

The repellency index (R. I.) showed that all extract treatments showed a repellent effect, the concentrations of 40 and 50 % had the greatest effect; on the other hand the control treatment, whose value is 1.0, had the least effect (Table 2, Figure 5).

Repellency bioassays show that after the first hour, the repellency effect (50 %) can be seen with respect to the next hours (Figure 6).

## DISCUSSION

### Mortality and repellency bioassays for the factor extract concentration

Concentrations of 30 and 40 % of the extract of the *C. chinense* fruit showed significant differences with respect to the rest of the concentrations evaluated in mortality bioas-



## DISCUSIÓN

### Bioensayos de mortalidad y repelencia para el factor concentración de extracto

En los bioensayos de mortalidad, las concentraciones con 30 y 40 % del extracto del fruto de *C. chinense* presentaron diferencias significativas con respecto al resto de las concentraciones evaluadas. Esto concuerda con lo reportado por Lagunes (1994). Solamente dos concentraciones (30 y 40 %) se pueden considerar como prometedoras al mostrar una mortalidad superior al 40 %. Las concentraciones restantes presentaron menos del 35 % de mortalidad (Figura 1). Estos resultados se pueden comparar con lo reportado con otras especies del género *Capsicum*. Por ejemplo, *C. frutescens* (Gakuru y Foua, 1996) extraído con éter de petróleo y *C. annuum* (Madhumathy *et al.*, 2007) extraído con etanol, los cuales también poseen efecto insecticida mayor del 40 % sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) y *Culex quinquefasciatus* (Say), respectivamente, aunque con concentraciones del extracto menores al 2 %. Lo anterior, también concuerda con las investigaciones realizados por Bouchelta *et al.* (2005) quienes encontraron que los alcaloides de *C. frutescens* afectan la supervivencia de los adultos de *B. tabaci* de 35 a 59 %. Por su parte, Choi *et al.* (2003) señalan que los adultos de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) son más sensibles a los capsaicinoides que las ninfas.

El análisis Probit para la medición de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) de *C. chinense* arrojó que es necesario 29.40 % p/v del extracto para matar al 50 % de la población de *B. tabaci* (Figura 2). Se podría considerar que esta concentración es elevada para ser utilizada de manera práctica por los agricultores. Sin embargo, de acuerdo con el tiempo letal medio ( $TL_{50}$ ) obtenido del extracto (7.31 h) (Figura 4), existe la posibilidad de utilizarse, debido al efecto rápido que posee, aunque sería recomendable que se evaluara en condiciones de campo para establecer una dosis exacta y ser considerada como una alternativa real para el control de *B. tabaci*.

En los bioensayos de repelencia, los resultados indican que todas las concentraciones del extracto de *C. chinense* poseen efecto repelente sobre *B. tabaci*, con más del 50 % sobre los individuos evaluados. Todas las concentraciones con extracto mostraron diferencias significativas con respecto a los tratamientos control (Figura 5). Destacan las concentraciones del 40 y 50 % por su mayor efecto repelente ( $IR=0.11$ ), contrario a la concentración del 5 % que obtuvo un valor más cercano al 1.0 ( $IR=0.64$ ) (Cuadro 2). Los datos que se generaron son similares con los obtenidos por Procopio *et al.* (2003) y Salvadores *et al.* (2007), quienes evaluaron a *C. frutescens* y *C. annuum* sobre *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). En el primer caso repelieron menos del 50 % de los individuos evaluados y en el segundo caso se reportó un índice de repelencia de ( $IR=0.57$ ). Si bien los resultados obtenidos por Procopio *et al.* (2003) y Salvadores *et al.* (2007) no son iguales o coincidentes totalmente con los resultados registrados en la presente investigación, debido a que las es-

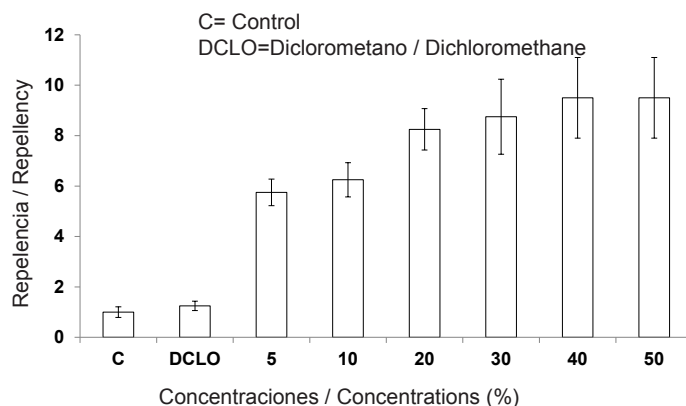


FIGURA 5. Repelencia de *B. tabaci* con el extracto de *C. chinense* a diferentes concentraciones.

FIGURE 5. *B. tabaci* repellency against the extract *C. chinense* at different concentrations.

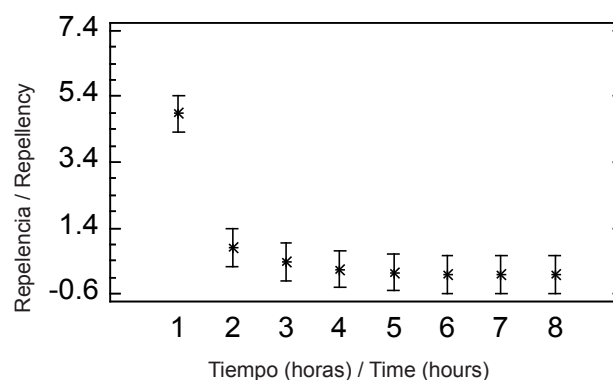


FIGURA 6. Repelencia de *B. tabaci* con diferentes concentraciones del extracto etanólico de *C. chinense* en un intervalo de tiempo de ocho horas.

FIGURE 6. *B. tabaci* repellency against different concentrations of ethanol extract of *C. chinense* in a time interval of eight hours.

says. This agrees with that reported by Lagunes (1994). Only two concentrations (30 and 40 %) may be considered as promising by showing mortality greater than 40 %. The remaining concentrations showed mortality lower than 35 % (Figure 1). These results can be compared with that reported with other species of the *Capsicum* genus. For example, *C. frutescens* (Gakuru and Foua, 1996) extracted with petroleum ether and *C. annuum* (Madhumathy *et al.*, 2007) extracted with ethanol, which also have insecticidal effect greater than 40 % against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) and *Culex quinquefasciatus* (Say), respectively, although with extract concentrations of less than 2 %. This is also consistent with the research conducted by Bouchelta *et al.* (2005) who found that alkaloids of *C. frutescens* affect the survival of adults of *B. tabaci* of 35 and 59 %. Choi *et al.* (2003) indicate that *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) adults are more sensitive to the capsaicinoids than the nymphs.

The Probit analysis for measuring the median lethal concentration ( $CL_{50}$ ) of *C. chinense* showed that 24.40 %

pecies de *Capsicum* se ensayaron en *S. zeamais* y que las plantas fueron utilizadas en forma de polvos y no de extracto acuoso, los resultados obtenidos permiten reafirmar el hecho que entre las tres especies de *Capsicum* mencionadas existe un claro efecto repelente.

### Bioensayos de mortalidad y repelencia para el factor tiempo

En los bioensayos de mortalidad, se observó que las tres últimas horas (Figura 3) presentan mayor efecto letal sobre *B. tabaci*. Por el contrario, para los bioensayos de repelencia, la primera hora presentó mayor efecto del extracto (Figura 6) sobre el tiempo total (ocho horas) a la cual estuvieron expuestos los insectos. Estos resultados sugieren que los extractos de *C. chinense* poseen mejor efectividad en corto tiempo como repelentes y no como insecticidas. Un aspecto relevante en los bioensayos de repelencia fue que en los tratamientos evaluados, más del 60 % de los adultos de mosca blanca fueron repelidos durante la primera hora, lo cual confirma el potente efecto que posee el extracto.

Este estudio reafirma el potencial que poseen los capsaicinoides como insecticidas botánicos (repelente o insecticida) y son un indicador de que pueden ser utilizados en el control de plagas. Esto puede ser importante al momento de tomar decisiones sobre el manejo de *B. tabaci*.

### Interacción entre los factores evaluados

La interacción de los factores concentración del extracto y tiempo sobre la variable mortalidad no mostró diferencia significativa debido, muy probablemente, a que la mortalidad fue muy similar en los diferentes tiempos y entre las diferentes concentraciones a las cuales fueron evaluados. En general, se observó que la mortalidad fue muy baja para todos los tratamientos, lo cual explica este resultado. Contrariamente, en la evaluación de la interacción de estos factores sobre la variable repelencia si se observó significancia estadística, por lo que se confirma su buen desempeño, como muestran los resultados desde la primera hora y a partir de la concentración del 20 %.

### CONCLUSIONES

De acuerdo con el análisis Probit, la concentración necesaria para eliminar a la mitad de la población de *B. tabaci* es de 29.4 % de p/v del extracto de capsaicinoides.

El tiempo necesario para eliminar a la mitad de la población de *B. tabaci*, de acuerdo con las concentraciones evaluadas, es de 7.3 horas. El extracto etanólico de *C. chinense* muestra resultados prometedores, principalmente como repelente durante la primera hora de exposición contra *B. tabaci* desde la concentración de 5 %.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo otorgado al M.C. Luis Enrique Castillo Sánchez para realizar estudios de Doctorado

w/v of the extract are required to kill 50 % of the *B. tabaci* population (Figure 2). It could be considered that this concentration is high to be practically used by farmers. However, according to the median lethal time ( $TL_{50}$ ) obtained from the extract (7.31 h) (Figure 4), there is the possibility of using this extract, due to its fast effect, although it would be advisable to evaluate it under field conditions to establish a precise dose and be considered as a real alternative to control *B. tabaci*.

Results in repellency bioassays show that all concentrations of the extract of *C. chinense* have repellent effect against *B. tabaci*, with more than 50 %. All extract concentrations showed significant differences with respect to the control treatment (Figure 5). Concentrations of 40 and 50 % stand out due to their greater repellent effect ( $RI=0.11$ ), contrary to the concentration of 5 % that obtained a value closer to 1.0 ( $RI=0.64$ ) (Table 2). The data generated was similar to that obtained by Procopio *et al.* (2003) and Salvadores *et al.* (2007), who evaluated *C. frutescens* and *C. annuum* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). In the first case, less than 50 % of the individuals tested were repelled and in the second case a repellency index of ( $RI=0.57$ ) was reported. Even though the results obtained by Procopio *et al.* (2003) and Salvadores *et al.* (2007) are not similar or do not completely coincide with those results recorded in the present study, because *Capsicum* species were tested on *S. zeamais* and plants were used in powder form rather than aqueous extract, the results obtained allow us to reaffirm the fact that among the three *Capsicum* species mentioned there is a clear repellent effect.

### Mortality and repellency bioassays for the factor time

Mortality bioassays showed that the last three hours (Figure 3) have greater lethal effect against *B. tabaci*. On the other hand, the repellency bioassays showed that the first hour had higher extract effect (Figure 6) on the total time (eight hours) at which the insects were exposed. These results suggest that the extracts of *C. chinense* have greater effectiveness in a short time as repellents and not as insecticides. An important aspect in repellency bioassays was that in the evaluated treatments, more than 60 % of whitefly adults were repelled during the first hour, which confirms the strong effect of the extract.

This study confirms the potential possessed by the capsaicinoids such as botanic insecticides (repellent or insecticide) and they are an indicator that can be used in pest control. This may be important when making decisions about the management of *B. tabaci*.

### Interaction between the factors evaluated

The interaction of the factors extract concentration and time on the mortality variable did not show significant difference probably because the mortality was similar at different times and among the different concentrations at which they were assessed. In general, it was found that mortality was low for all treatments, which explains this result. In contrast, statistical significance was observed by

en la Universidad Autónoma de Yucatán; al Departamento de Manejo y Conservación de Recursos Naturales Tropicales de la UADY por el apoyo económico a esta investigación, a través del Proyecto FMVZ-2008-0012 denominado "Evaluación de metabolitos secundarios vegetales para el control de la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) y el picudo del chile (*Anthonomus eugenii* Cano)"; a los doctores Hugo Delfín González, Humberto Esquivel Mimenza y Luis Ramírez y Avilés, por sus comentarios y sugerencias realizadas a este trabajo. Un especial agradecimiento a los QFB Ernesto Cutz y María José Góngora Alamilla por dedicar parte de su tiempo en esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- AGGARWAL, N.; BRAR, D. 2006. Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. *Journal of Pest Science* 79: 201-207. doi: 10.1007/s10340-006-0134-9
- ANDERSON, M. 2001. A new method of non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26: 32-46. doi:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x
- ANDERSON, M. 2005. PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland, New Zealand. 24 p.
- BEN-CHAIM, A.; BOROVSKY, Y.; FALISE, M.; MAZOUREK, M.; KANG, B.; PARAN, I.; JAHN, M. 2006. QTL Analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 1481-1490. doi:10.1007/s00122-006-0395-y
- BETHKE, J.; PAINE, T.; NUESSELY, G. 1991. Comparative biology, morphometrics and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84: 407-411
- BIELZA, P.; CONESA, E.; LACASA, A.; CONTRERAS, J. 2000. Modificación del método de las placas adhesivas amarillas para bioensayos de insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 26: 731-738.
- BOUCHELTA, A.; BOUGHDAD, A.; BLENZAR, A. 2005. Effets biocides des alcaloides, des saponines et des flavonoides extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 9: 259-269.
- CARRERAS, SOLÍS, B.; RODRÍGUEZ, D.; PIEDRAS, F. 2009. Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* Berliner para el control de *Heliothis virescens* Fabricius en el cultivo del tabaco en Cuba. *Fitosanidad* 13(4): 277-280.
- CASTILLO, L.; JIMÉNEZ, J.; DELGADO, M. 2010. Secondary Metabolites of the Annonaceae, Solanaceae y Meliaceae families used as biological control of insects. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12: 445-462.
- CÁZARES, S.; RAMÍREZ, P.; CASTILLO, F.; SOTO, R.; RODRÍGUEZ, M.; CHÁVEZ, J. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia* 39: 627-638.
- evaluating the interaction of these factors on the variable repellency, which is confirmed by its great performance, shown by the results from the first hour and from the concentration of 20 %.

## CONCLUSIONS

According to the Probit analysis, the concentration required to kill half of the population of *B. tabaci* is 29.4 % of w/v of the capsaicinoids extract.

The time required to kill half of the population of *B. tabaci*, according to the concentrations evaluated, is 7.3 hours. The ethanol extract of *C. chinense* show promising results, mainly as repellent during the first exposure hour against *B. tabaci* from the concentration of 5 %.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Acknowledges to CONACYT for the financial support granted to M. C. Luis Enrique Castillo Sánchez to conduct Doctoral studies at the University of Yucatan; also to the Department of Management and Conservation of Tropical Natural Resources of the University of Yucatan for the financial support to conduct this research, though the Project FMVZ-2008-0012 called "Assessment of the plant secondary metabolites for the control of whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) and the pepper weevil (*Anthonomus eugenii* Cano)"; also acknowledges to Dr. Hugo Delfín González, Dr. Humberto Esquivel Mimenza and Dr. Luis Ramírez y Avilés, for their comments and suggestions made to this work. Special acknowledges to the QFB Ernesto Cutz and María José Góngora Alamilla for taking part of their time in this study.

## End of English Version

- CELIS, A.; MENDOZA, C.; PACHÓN, M.; CARDONA, J.; DELGADO, W.; CUCA, L. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperácea. Una Revisión. *Agronomía Colombiana* 26: 97-106.
- CHOI, W.; LEE, E.; CHOI, B.; PARK, H.; AHN Y. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 96: 1479-1484. doi: http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-96.5.1479
- CLEMENTE, S.; MAREGGIANI, G.; BROUSSALIS, A.; MARTINO, V.; FERRARO, G. 2003. Insecticidal effects of Lamia-ceae species against stored products insects. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 29: 1-8.
- COLLINS, M.; WASMUND, L.; BOSLAND, P. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *Hortscience* 30: 137-139.
- EDELSON, J.; DUTIE, J.; ROBERTS, W. 2002. Toxicity of biorational insecticides activity against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pest Management Science* 58: 255-260. doi:10.1007/BF00979617
- EICH, E. 2008. Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 637 p.



- GAKURU, S.; FOUA, K. 1996. Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niebe (*Callosobruchus maculatus* Frab.) et le charancon du riz (*Sitophilus oryzae* L.). Cahiers Agricultures 5: 39-42.
- HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana 2: 119-123.
- IANNACONE, J.; LAMAS, G. 2003. Efectos toxicológicos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pinto* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. Agricultura Técnica 63: 347-360.
- JERMY, T. 1990. Prospects of antifeedant approach to pest control. A critical review. Journal of Chemical Ecology 16: 3151-3166. doi:10.1007/BF00979617
- LAGUNES, A. 1994. Extractos, polvos vegetales y minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Memoria. Colegio de Postgraduados, USAID, CONACYT, BORUCONSA. Montecillo, Texcoco, México. 31 p.
- LIU, X.; LIN, Y. 2003. Biological activity of capsaicin and its joint action with other pesticides. Chinese Journal of Pesticide Science 5:94-96. doi:cnki:ISSN:1008-7303.0.2003-02-013
- LÓPEZ, G. 2003. Chilli: La especia del Nuevo Mundo. Ciencias 69: 66-75.
- LÓPEZ-PÉREZ, E.; RODRÍGUEZ, C.; ORTEGA, L.; GARZA, R. 2007. Actividad biológica de la raíz de *Senecio salignus* contra *Zabrotes subfasciatus* en frijol almacenado. Agrociencia 41(1): 95-102.
- MADHUMATHY, A.; AIVAZI, A.; VIJAYAN, V. 2007. Larvicidal efficacy of *Capsicum annum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. Journal of Vector Borne Diseases 44: 223-226.
- MAREGGIANI, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semiquímicas de origen vegetal. Manejo Integrado de Plagas 60: 22-30.
- MORÓN, M.; TERRÓN, R. 1988. Entomología práctica: una guía para el estudio de los insectos con importancia agropecuaria, médica, forestal y ecológica de México. Instituto de Ecología, A. C. México. 504 p.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 24: 143-154.
- PROCOPIO, S.; VENDRAMIM, J.; RIBEIRO, J.; DOS SANTOS, J. 2003. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciencia e Agrotecnologia Lavras 27: 1231-1236.
- RUIZ, J.; MEDINA, J. 2001. Avances en el manejo integrado de *Bemisia tabaci* en tomate y chile en Oaxaca, México. Manejo Integrado de Plagas 59: 34-40.
- SALVADORES, Y.; SILVA, G.; TAPIA, M.; HEPP, R. 2007. Polvos de especias aromáticas para el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en trigo almacenado. Agricultura Técnica 67: 147-154.
- SORIA, M.; TUN, J.; TREJO, A.; TERÁN, R. 2003. Tecnología para la producción de hortalizas a cielo abierto en la península de Yucatán. 3ª edición. Centro de Investigaciones y Graduados Agropecuarios. Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2. SEP. Conkal, Yucatán, México. 430 p.
- VALLADARES, G.; GARBIN, L.; DEFAGO, M.; CARPINELLA, C.; PALACIOS, S. 2003. Actividad antialimentaria e insecticida de un extracto de hojas senescentes de *Melia azedarach* (Meliaceae). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 62: 53-61.
- VIGLIANCO, A.; NOVO, R.; CRAGNOLINI, C.; NASSETTA, M. 2006. Actividad biológica de extractos crudos de *Larrea divaricata* Cav. y *Capparis atamisquea* Kuntze sobre *Sitophilus oryzae* (L.). Agriscientia 23: 83-89.
- WEISSENBERG, M.; KLEIN, M.; MEISNER, J.; ASCHER, K. 1986. Larval growth inhibition of the spiny bollworm, *Earias insulana*, by some steroidal secondary plant compounds. Entomologia Experimentalis et Applicata 42: 213-217. doi:10.1007/BF00629306
- WOISKY, R.; SALATINO, A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal of Apicultural Research 37: 99-105.
- ZEWDIE, Y.; BOSLAND, P. 2000. Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annum* L. Euphytica 111: 185-190. doi:10.1023/A:1003837314929