

## CARACTERES MORFOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE *Rosa x hybrida* CONTRA *Tetranychus urticae* Koch EN INVERNADERO\*

### MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERS OF *Rosa x hybrida* AGAINST *Tetranychus urticae* Koch IN GREENHOUSE

Ricardo Javier Flores Canales<sup>1§</sup>, Rosalina Mendoza Villareal<sup>2</sup>, Jerónimo Landeros Flores<sup>2</sup>, Ernesto Cerna Chávez<sup>2</sup>, Agustín Robles Bermúdez<sup>1</sup> y Néstor Isiordia Aquino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Carretera Tepic-Compostela, km 9. Xalisco, Nayarit, México. C. P. 63770. Tel. 01 311 1453474, 2301411 y 1367377. (nitsugarobles@hotmail.com), (nisiordi@gmail.com). <sup>2</sup>Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Carretera a Zacatecas, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315. Tel. 01 844 4361736, 10002647. (rosalindamendoza@hotmail.com), (jlanflo@hotmail.com), (jabaly1@yahoo.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: ricardo\_flores\_uan@hotmail.com.

#### RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo, conocer el comportamiento poblacional del ácaro de dos manchas (*Tetranychus urticae* Koch.) en 13 cultivares de rosal y determinar la correlación que existe entre los caracteres bioquímicos (terpenos, taninos y aceites esenciales) y morfológicos (tricomas, glándulas y grosor de hoja), aunado a poblaciones del ácaro de dos manchas. En 13 cultivares de rosal para corte se liberó una población de 100 hembras adultas por planta; una vez establecida la población del ácaro se tomaron muestras de 2 a 7 g de masa foliar con una frecuencia semanal durante 57 días. Se hizo un análisis bioquímico de las muestras y la información resultante se sometió a análisis de varianza y comparación de medias por el método Tukey ( $p=0.05$ ). De las poblaciones de ácaros en 13 cultivares (expresados en ácaros-día-hoja) en ocho fechas de muestreo; adicionalmente se hizo un análisis de correlación y regresión múltiple de la población con las variables. El cultivar Luna<sup>®</sup> presentó mayor desarrollo poblacional con un promedio de 2 784.1 ácaros por día, seguido de Gran Gala<sup>®</sup>, Verdi<sup>®</sup>, y Vendela<sup>®</sup>, con 1 472.5, 1 307 y 1 076 ácaros por día, respectivamente. Por otro lado en los cultivares Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> y Virginia<sup>®</sup>

#### ABSTRACT

This study aimed to knowing the population behavior of the red spider mite (*Tetranychus urticae* Koch.) in 13 rose cultivars and, to determine the correlation between biochemical (terpenes, tannins and essential oils) and morphological characters (trichomes, glands and sheet thickness), coupled with populations of the red spider mite. In 13 cultivars of cutting-roses a population of 100 female adults per plant got released; once the red spider mite population was established, samples from 2 to 7 g of litter mass on a weekly basis were taken for 57 days. There was a biochemical analysis of the samples and the resulting information was submitted to an analysis of variance and means comparison by Tukey's method ( $p=0.05$ ). Populations of mites in 13 cultivars (expressed in mite-day-sheet) in eight sampling dates, was further correlation analysis and multiple regression of population variables. The Luna<sup>®</sup> cultivar had a higher population development with an average of 2 784.1 mites per day, followed by Gran Gala<sup>®</sup>, Verdi<sup>®</sup> and Vendela<sup>®</sup>, with a 1 472.5, 1 307 and 1 076 mites per day, respectively. On the other hand, in the Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> and Virginia<sup>®</sup> cultivars, a fewer quantity of

se encontró menor cantidad de ácaros con 3 77.5, 444.7 y 486.4, respectivamente. Del análisis de regresión se observó correlación negativa con los aceites esenciales y positivos en terpenos, grosor de hoja, y contenido de nitrógeno.

**Palabras clave:** antibiosis, antixenosis, aceites esenciales, resistencia vegetal, trofobiosis.

## INTRODUCCIÓN

El ácaro de dos manchas (*Tetranychus urticae* Koch.), es una plaga polífaga, considerada como la principal plaga del rosal en invernadero. Cuando no se lleva a cabo un manejo adecuado de esta plaga baja la calidad y producción de la flor (Bolland *et al.*, 1998). Los miembros de la familia *Tetranychidae* son una plaga que se presenta en una gran diversidad de plantas que le ocasionan daños severos como la disminución del vigor del árbol y el manchado, así como la caída de las hojas provocado por la alimentación del ácaro (Kheradpir *et al.*, 2007).

En estado de adulto presenta dos manchas bien definidas, su coloración es más pálida y las manchas son casi perfectas (Marcic, 2007). Sadrás *et al.* (1998) indican que *T. urticae* se alimenta principalmente del mesófilo, lo cual reduce significativamente la resistencia estomática y la tasa respiratoria, además trae por consecuencia severas afectaciones en la tasa de absorción energética de la planta, con los consecuentes daños a la planta por la alimentación directa, ya que reduce el área de actividad fotosintética y causa abscisión en la hoja (Gorman *et al.*, 2001). Landeros *et al.* (2004) mencionan que cinco ácaros por hoja son suficientes para reducir el rendimiento y calidad de las rosas del siguiente corte. Con el paso del tiempo, el uso irracional de agroquímicos presenta desventajas, tales como la destrucción de la fauna silvestre y la inducción de resistencia a la mayoría de los productos utilizados (Cerna *et al.*, 2005).

El control de *T. urticae* en ornamentales y en la mayoría de los cultivos, se realiza casi exclusivamente con agroquímicos; sin embargo, el mayor problema que se enfrenta con el control químico de este ácaro, es su rápida habilidad para desarrollar resistencia después de pocas generaciones (Stumpf *et al.*, 2001; Stumpf y Nauen, 2002; Aguilar *et al.*, 2011). Se han utilizado exitosamente diversos ácaros depredadores para su combate, como lo son: *Phytoseilus persimilis* y *Neoseilus californicus* (Zhang, 2003; Pedigo y Rice, 2006).

mites was found, 3 77.5, 444.7 and 486.4, respectively. In the regression analysis, a negative correlation with the essential oils was observed and a positive one in the terpenes, leaf thickness and nitrogen content.

**Key words:** antibiosis, antixenosis, essential oils, plant resistance, trophobiosis.

## INTRODUCTION

The red spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) is a polyphagous pest, considered the main pest of roses in greenhouses. When proper management is not performed, the quality of the flower production diminishes (Bolland *et al.*, 1998). The members *Tetranychidae* family members are a pest that occurs in a wide variety of plants that cause several damage such as low tree vigor, staining, as well as leaf dropping caused by the mite's feeding (Kheradpir *et al.*, 2007).

In adult state it has two well-defined spots, its color is paler and the spots are almost perfect (Marcic, 2007). Sadrás *et al.* (1998) indicated that, *T. urticae* feeds mainly on the mesophyll, which significantly reduces the stomatal resistance and respiratory rate, it also has as a consequence, severe effects on the rate of energy absorption of the plant, with consequent damage to the plant itself by direct feeding, reducing the area of photosynthetic activity and causing abscission in the leaf (Gorman *et al.*, 2001). Landeros *et al.* (2004) mentioned that five mites per leaf are quite enough to reduce the yield and quality of the roses in the next cutting. Over time, the irrational use of agrochemicals has disadvantages, such as the destruction of wildlife and the induction of resistance to most of the products used (Cerna *et al.*, 2005).

*T. urticae* control for the ornamental and most of the crops is done almost exclusively with chemicals, but the biggest problem facing the chemical control of this mite is its ability to develop resistance rapidly after just a few generations (Stumpf *et al.*, 2001; Stumpf and Nauen, 2002; Aguilar *et al.*, 2011). Several predatory mites have been successfully used, such as: *Phytoseilus persimilis* and *Neoseilus californicus* (Zhang, 2003; Pedigo and Rice, 2006).

Botanical pesticides provide mite control at low costs, and with a reduced risk to human health and the environment as well, its recommendation as a tetranychid control strategy has increased (Gencsoyly, 2007). An important aspect

Los plaguicidas botánicos proporcionan un control del ácaro a un bajo costo, y con un reducido riesgo para la salud humana y el medio ambiente, su recomendación como una estrategia de control de tetránquidos se ha incrementado (Gencsoylu, 2007). Un aspecto importante en el manejo del ácaro es la búsqueda de plantas con características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que reduzcan el grado de daño al cultivo. En el caso del tomate se conocen inhibidores bioquímicos de proteínas y enzimas oxidativas (Duffey *et al.*, 1996).

Los mecanismos de defensa químicos que las plantas han desarrollado, tienen un gran potencial en utilizar métodos más racionales para el control de plagas y dentro de los mecanismos morfológicos están los tricomas glandulares implicados en la defensa contra ácaros (Murray *et al.*, 1999). Van Schie and Haring (2007), mencionan que las planta de tomate *Solanum lycopersicum*, producen y emiten una gran variedad de compuestos orgánicos volátiles, presentes en sus tricomas, los cuales consisten principalmente de terpenos. El objetivo de este trabajo fue identificar cultivares de rosal tolerantes al ácaro de dos manchas, como una posible fuente genética de resistencia y determinar el comportamiento poblacional de *T. urticae*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en 2007 bajo condiciones de invernadero, con infraestructura ubicada en el Departamento de Parasitología Agrícola (DPA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México. El material vegetativo consistió de 13 cultivares de rosal que se plantaron en bolsas de plástico de 5 L, mezclada a relación de 2:1 con tierra y perlita y una fórmula de fertilización (nitrato de calcio 0.08 g L<sup>-1</sup> de agua, nitrato de potasio 0.4 g L<sup>-1</sup>, nitrato de amonio 0.35 g L<sup>-1</sup>, quelato de hierro 0.03 g L<sup>-1</sup>, ácido fosfórico 0.06 ml L<sup>-1</sup> y ácido nítrico 0.08 ml L<sup>-1</sup>), al material fertilizado se le añadió el fungicida PCNB<sup>®</sup>, 45% 600 g de ingrediente activo (IA) L<sup>-1</sup>, (Agroquímicos Versa S. A de C. V, México) posteriormente con el fin de homogenizar los tratamientos se realizaron análisis de micro y macronutrientes, conductividad eléctrica y pH a los sustrato utilizados. La frecuencia de la aplicación de nutrimentos fue cada cuatro días por la técnica de incorporación fue manual localizada.

Con la finalidad de contar con poblaciones suficientes de *T. urticae*, se recolectaron ácaros provenientes de diferentes cultivos de la región y se establecieron sobre plantas de

in the management of mite is the search for plants with morphological, physiological and biochemical features that would help to reduce the level of damage in the crop. For tomato, biochemical inhibitors of proteins and enzymes are well-known (Duffey *et al.*, 1996).

The chemical defense mechanisms that the plants have developed have a great potential to use more rational methods for controlling pests and there are within the morphological mechanisms, glandular trichomes involved in the defense against mites (Murray *et al.*, 1999). Van Schie and Haring (2007) mentioned that, tomato plant *Solanum lycopersicum*, produce and broadcast a variety of volatile organic compounds present in their trichomes, consisting mainly of terpenes. The aim of this study was to identify rose cultivars tolerant to the red spider mite, as a possible genetic source of resistance and, to determine the behavior of *T. urticae* population.

## MATERIALS AND METHODS

This research was conducted in 2007 under greenhouse conditions, with facilities located in the Department of Agricultural Parasitology (DAP) of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) in Saltillo, Coahuila, Mexico. The plant material consisted of 13 rose cultivars that were planted in 5 L plastic bags, mixed at 2:1 ratio with soil and perlite and a fertilizer formula (calcium nitrate 0.08 g L<sup>-1</sup> of water, nitrate potassium 0.4 g L<sup>-1</sup>, 0.35 g L<sup>-1</sup> ammonium nitrate, 0.03 g L<sup>-1</sup> iron chelate, 0.06 ml L<sup>-1</sup> phosphoric acid and 0.08 ml L<sup>-1</sup> nitric acid), to the fertilized material fungicide PCNB<sup>®</sup> 45% was added, 600 g of active ingredient (AI) L<sup>-1</sup> (Agroquímicos Versa, S. A. de C.V., Mexico) later and in order to standardize all the treatments, micro and macronutrients analysis were performed, electrical conductivity and pH to the used substrate. The frequency of application of nutrients was made very days.

In order to have a sufficient population of *T. urticae*, mites from different crops were collected in the region and settled on bean plants *Phaseolus lunata* of the cultivar Lima in a growth chamber at 25 ± 2 °C, Biotronnete<sup>®</sup>, 60-70% relative humidity (RH) and photoperiod of 12:12 h.

When the rose plants reached a height of 50 to 60 cm and enough foliage, the fertilization was suspended; a week later, at a rate of 100 females *T. urticae* per plant was infested

frijol *Phaseolus lunata* del cultivar Lima en una cámara bioclimática Biotronnete® a  $25 \pm 2$  °C, 60-70% humedad relativa (HR) y fotoperiodo de 12:12 h.

Cuando las plantas de rosal alcanzaron una altura de 50 a 60 cm y follaje suficiente se suspendió la fertilización, una semana posterior se infestó de manera uniforme a razón de 100 hembras de *T. urticae* por planta en cada uno de los 13 cultivares de rosal. A partir de la infestación se realizaron muestreos semanales. Cada muestreo fue al azar con tres observaciones por planta, que consistió del recuento de los ácaros en una hoja pentafoliada. Los muestreos poblacionales de ácaros se realizaron durante un periodo de 57 días en los estratos (superior, medio e inferior), con tres repeticiones, que reflejó un total de 117 observaciones por fecha. Los resultados de los muestreos se realizaron mediante un diseño completamente al azar.

### Cuantificación de terpenos

La cuantificación de terpenos se hizo con la técnica de extracción soxhlet con hexano (Cruz *et al.*, 1973; Brown, 1994; Muñoz *et al.*, 2001). Se colocaron 2 g de muestra del estrato medio de la planta (hojas de rosal frescas en fracciones muy pequeñas), del estrato medio de la planta. En un dedal de extracción del procesador soxhlet, al cual se le añadió previamente 250 mL de hexano por muestra y con un tiempo de exposición de 5 h. Los terpenos se extrajeron del hexano mediante el secado en estufa y por diferencia de peso se obtuvo la cantidad de terpenos expresada en porcentaje.

### Aceites esenciales

La obtención de aceites esenciales se desarrolló por hidrodestilación, para ello se colocaron 7 g de muestra tomadas del estrato medio de la planta de rosal de cada una de las variedades, hidrodestilando por 60 min de donde se midió el volumen de aceite obtenido conforme a la metodología de World Health Organization (1998), el resultado se expresó en mL de aceite obtenido por 100 g.

### Extracción de taninos

Se utilizó el método de extracción acuosa para la cuantificación de taninos (Lastra *et al.*, 2000), se pesaron 250 mg de muestra seca de hojas de rosal, y en un tubo tapón de 20 mL, se añadieron 10 mL de la mezcla de solvente acetona-agua (70:30). Se mantuvieron las muestras a 4 °C

uniformly in each of the 13 cultivars of rose. Since the infestation, samplings were performed weekly. Each sample was randomized with three observations per plant, which consisted of counting mites on a leaf. The mite population samplings were conducted over a period of 57 days in the strata (upper, middle and bottom), with three replicates, which reflected a total of 117 observations per day. The results of the samplings were conducted in a completely randomized design.

### Quantification of terpenes

The quantification of terpenes was done with the Soxhlet with hexane extraction technique (Cruz *et al.*, 1973; Brown, 1994; Muñoz *et al.*, 2001). Two grams of the sample from the middle of the plant were placed (fresh rose leaves in very small fractions) from the middle stratum of the plant. In a small proportion of the soxhlet extraction processor, at which 250 mL of hexane per sample was previously added and with an exposure time of 5 h. The terpenes were extracted from the hexane through an oven-drying process and, by weight-difference the amount of terpenes expressed in percentage was obtained.

### Essential oils

The essential oils were obtained by hydrodistillation, for this purpose 7 g of the sample taken from the middle layer of the rose plant of each of the varieties, hydrodistilling for 60 min, measuring the volume of oil obtained according to the World Health Organization methodology (1998), the result was expressed as mL of oil obtained per 100 g.

### Extraction of tannins

The aqueous extraction method of for the quantification of tannins was used (Lastra *et al.*, 2000), weighed 250 mg of dry sample of rose's leaves, and in a tube plug of 20 mL, was added 10 mL of the mixture of solvent acetone-water (70:30). The samples were kept at 4 °C for 24 h and centrifuged. For the quantification a standard curve of tannic acid at 50 mg L<sup>-1</sup> was prepared and dilutions were performed 2, 4, 6 and 8 mg L<sup>-1</sup> and diluted at 10 mL with distilled water. Finally, the volume of the biological material was dissolved in 1 mL of Folin and 1 mL of NaOH, mixing it and taking readings expressed in the spectrophotometer at 670 nm of wavelength. We obtained the concentration of tannins in mg per 100 mg of sample.

por 24 h y se centrifugó. Para su cuantificación se preparó una curva estándar a partir de ácido tánico a 50 mg L<sup>-1</sup> y se realizaron diluciones de 2, 4, 6 y 8 mg L<sup>-1</sup> y se aforó a 10 mL con agua destilada. Por último, el volumen del material biológico se disolvió en 1 mL del reactivo de Folin y 1 mL de NaOH, se mezcló y se tomaron las lecturas expresadas en el espectrofotómetro a 670 nm de longitud de onda. Se obtuvo la concentración de taninos en mg por 100 mg de muestra.

El contenido de nitrógeno se determinó por el método macro Kjeldahl, colocando 1 g de muestra seca de rosal con 30 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 g de muestra selénica en el matraz de 250 mL de capacidad; se colocó en la parrilla de digestión a temperatura no menor de 100 °C y la muestra se retiró hasta que el líquido se tornó al color verde claro. Se dejaron reposar las muestras a temperatura ambiente para posteriormente añadir 300 mL de agua destilada, y después se agregaron 110 mL de NaOH al 45% y gránulos de zinc. A continuación se procedió a destilar, se agregó al matraz la mezcla que contiene 50 mL de ácido bórico al 2% y 5 mL de un indicador, terminada la destilación se procedió a titular las muestras con ácido sulfúrico al 0.01, para finalmente ajustar el porcentaje de nitrógeno.

### Análisis morfológicos

Los parámetros morfológicos se realizaron en hojas tomadas del estrato medio, utilizando para ello un microscopio estereoscópico, donde se realizaron conteos de tricomas y glándulas por cm<sup>2</sup> de hoja y el grosor de hoja se obtuvo en milímetros.

### Análisis de datos

Los resultados obtenidos de las variables utilizadas (ácaros día hoja, terpenos, taninos, aceites esenciales nitrógeno, tricomas, número de glándulas y grosor de hoja), se analizaron mediante un análisis de varianza completamente al azar, así como una comparación de medias por el método Tukey ( $p \leq 0.05$ ), en los 13 cultivares, finalmente se compararon todas las variables mediante una correlación múltiple, también de manera individual para ver el efecto de las variables sobre la población del ácaro. Para todos los análisis se utilizó el paquete estadístico SAS versión 11.0

The nitrogen content was determined by the macro Kjeldahl method, placing 1 g of dry sample of the rose with 30 mL of concentrated sulfuric acid and 5 g of selenic sample in the 250 mL flask; placing it on the grid for digestion at a temperature not lower than 100 °C and, the sample was not removed until the liquid became light-green color. The samples were allowed to stand at room temperature and subsequently adding 300 mL of distilled water and then added 110 mL of NaOH 45% and zinc granules. After this we preceded to distillate, adding to the flask the mixture containing 50 mL at 2% boric acid and 5 mL of an indicator, after the distillation we preceded to label the samples with sulfuric acid at 0.01, to finally adjust the percentage of nitrogen.

### Morphological analysis

The morphological parameters were performed on leaves taken from the middle level, using a stereoscopic microscope, counting the number of trichomes and glands per cm<sup>2</sup> of the leaf and, the thickness was obtained in millimeters.

### Data analysis

The results of the variables used (mites days leaf, terpenes, tannins, essential oils, nitrogen, trichomes, number of glands and leaf thickness) were completely randomly analyzed by an analysis of variance, and a comparison of means by Tukey's method ( $p \leq 0.05$ ) in all the 13 cultivars, finally all the variables were compared using a multiple correlation, also individually in order to see the effect of the variables on the mite population. The SAS statistical package version 11.0 was used for all the analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

The Luna cultivar had the highest mite population development with an average of 2784.1 mites day<sup>-1</sup>, followed by Gran Gala<sup>®</sup> with 1471.5, Verdi<sup>®</sup> 1307 and, Vendela<sup>®</sup> 1076. The cultivars Movie star<sup>®</sup>, Virginia<sup>®</sup> and Emma<sup>®</sup> developed fewer mites with 377.5, 444.7 and 486.4 mites, respectively. These data show a difference in the population of the cultivar Movie Star<sup>®</sup> compared to cultivars Verdi<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> and Luna<sup>®</sup> (Table 1), corresponding to 71.14, 74.39 and 86.46 percentage respectively.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cultivar Luna fue el que presentó el mayor desarrollo poblacional de ácaros con un promedio de 2784.1 ácaros día<sup>-1</sup>, seguido por Gran Gala<sup>®</sup> con 1471.5, Verdi<sup>®</sup> 1307, y Vendela<sup>®</sup> 1076. Los cultivares Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> y Virginia<sup>®</sup> fue donde se desarrollaron un menor número de ácaros con 377.5, 444.7 y 486.4 ácaros, respectivamente. Estos datos muestran una diferencia en la población del cultivar Movie Star<sup>®</sup> en comparación a los cultivares Verdi<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> y Luna<sup>®</sup>, (Cuadro 1), que corresponde al 71.14, 74.39 y 86.46 de porcentaje respectivamente.

**Cuadro 1. Medias de ácaros día hoja, terpenos, taninos, aceites esenciales, nitrógeno, tricomas, glándulas y grosor de hojas en 13 variedades de rosal.**

**Table 1. Mites day leaf means, terpenes, tannins, essential oils, nitrogen, trichomes, glands and thickness of leaves in 13 varieties of rose.**

Cultivares	Ácaros/día/ hoja Media ±DE	Terpenos hoja (%) Media ±DE	Taninos (mg/mL) Media ±DE	Aceites esenciales (mL) Media ±DE	Nitrógeno (mg g <sup>-1</sup> ) Media ±DE	Tricomas (cm <sup>2</sup> ) Media ±DE	Glándulas (cm <sup>2</sup> ) Media ±DE	Grosor de hoja (cm) Media ±DE
Véndela	1076 ±702.6	0.916 ±0.1167	0.0008 ±0.0004	0.216 ±0.025	0.61 ±0.073	1.66 ±1.15	3.33 ±2.08	0.017 ±0.001
Gran Gala	1472.5 ±722	0.773 ±0.138	6.2 ±1.51	0.549 ±0.378	0.795 ±0.327	5.33 ±0.57	3.0 ±1.73	0.019 ±0.001
Virginia	486.4 ±483.6	1.053 ±0.227	4.07 ±0.916	0.183 ±0.041	0.797 ±0.096	4.66 ±2.88	6.33 ±2.08	0.017 ±0.005
Verdi	1307 ±1807.3	0.866 ±0.161	2.81 ±2.43	0.213 ±0.011	0.824 ±0.056	1.66 ±0.57	5.66 ±4.04	0.019 ±0.005
Embassador	1052.6 ±515.8	1.216 ±0.095	4.27 ±3.02	0.153 ±0.028	0.887 ±0.218	3 ±1	1.33 ±0.57	0.018 ±0.001
Golden Star	509.8 ±353.5	1.153 ±0.249	4.04 ±3.5	0.296 ±0.271	0.886 ±0.169	3.3 ±0.57	4.66 ±2.51	0.017 ±0.001
Marco Polo	696.3 ±141.4	1.393 ±0.619	5.77 ±2.37	0.22 ±0.153	0.541 ±0.062	2 ±1.73	2.33 ±1.52	0.018 ±0.005
Movie Star	377.5 ±86.3	0.95 ±0.593	2.74 ±2.64	0.17 ±0.0145	0.593 ±0.087	4.66 ±3.51	8.66 ±0.57	0.113 ±0.092
Pekuobo	547.8 ±411.5	1.25 ±0.332	5.77 ±2.73	0.173 ±0.045	0.642 ±0.266	3 ±2	3.33 ±1.52	0.018 ±0.001
Luna	2784.1 ±1051	1.39 ±0.461	6.56 ±6.45	0.126 ±0.02	0.569 ±0.165	1.66 ±1.15	1.33 ±0.57	0.143 ±0.04
Emma	444.7 ±161.2	1.53 ±0.554	6.08 ±0.68	0.15 ±0.017	0.704 ±0.205	4.66 ±0.57	4.66 ±2.3	0.223 ±0.005
Verano	881.6 ±858.4	1.46 ±0.896	5.06 ±4.33	0.16 ±0.005	0.909 ±0.204	1.66 ±1.15	1.33 ±0.57	0.176 ±0.005
Bella Perla	592.1 ±110.4	1.3 ±0.259	4.01 ±3.47	0.166 ±0.023	0.522 ±0.022	1.66 ±2.15	1.33 ±0.57	0.018 ±0.003

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas en las variables terpenos, aceites esenciales, grosor de hoja y contenido de nitrógeno (Cuadro 2).

La regresión múltiple permitió definir un modelo de predicción para las variables en estudio. La expresión fue la siguiente:  $y = 5.7802 + 0.4010b - 0.24c + 0.15d + 0.14e$ ; donde: b= terpenos; c= aceites esenciales; d= nitrógeno; e= grosor de hoja; para conocer el grado de correlación de las variables en estudio arrojó como resultado una correlación negativa con los aceites esenciales y positivos en terpenos, grosor de hoja, y contenido de nitrógeno.

The analysis of variance showed statistical differences in the variables terpenes, essential oils, leaf thickness and nitrogen content (Table 2).

The multiple regression analysis allowed to defining a prediction model for the variables under study. The expression was as follows:  $y = 5.7802 + 0.4010b - 0.24c + 0.15d + 0.14e$ ; where b= terpenes, essential oils c= d= nitrogen, e = thickness of sheet; to determine the degree of correlation of the variables, resulting in a significantly negative correlation with essential oils and a positive one for terpenes, leaf thickness and nitrogen content.

**Cuadro 2. Análisis de varianza de la regresión de las variables con ADH.**

**Table 2. Analysis of variance of the variables regression with ADH.**

Variable	R <sup>2</sup>	F	( $p \leq 0.05$ )
Glándulas	0.046	0.39 <sup>NS</sup>	0.549
Tricomas	0.049	0.42 <sup>NS</sup>	0.535
Grosor de hoja	0.042	1.398*	0.27
Nitrógeno	0.137	1.277*	0.291
Aceites esenciales	0.284	4.574	0.0649
Taninos	0.004	0.039 <sup>NS</sup>	0.8481
Terpenos	0.247	5.39*	0.0487

<sup>NS</sup>= no significativo; \* = significativo ( $p \leq 0.05$ ).

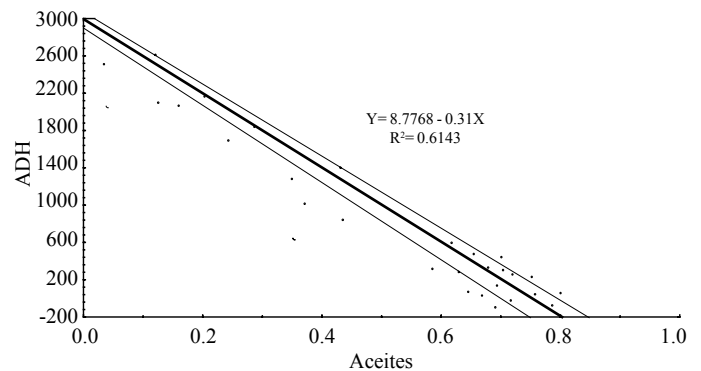
Al realizar una regresión lineal simple entre la concentración de aceites esenciales y los datos de ácaros día hoja registra el modelo  $y=8.7768-0.31x$ , con  $R^2$  de 0.6143, encontrando que solamente los aceites esenciales tienen un efecto negativo en las poblaciones de ácaros (Figura 1).

El desarrollo poblacional respondió de diferente forma entre los cultivares en estudio. Lo anterior confirma y coinciden los resultados con lo expuesto por Van Lenteren y Noldus (1990), quienes aseveran que un reducido desarrollo y alta tasa de reproducción total de la plaga en plantas hospedadoras, indican el grado de estabilidad de metabolitos secundarios en las plantas. Así dentro de los efectos que presentan algunos tipos de metabolitos está la anti-alimentación, actividad que es ejercida por los compuestos que al ser ingeridos por el insecto, provoca que se deje de alimentar y, finalmente mueren de hambre (Isman, 2006). Además otros compuestos que regulan el crecimiento e inhiben la metamorfosis o provocan la muda precoz, también alteran la regulación de las hormonas de crecimiento y malformaciones, que causa esterilidad o la muerte de los insectos (Celis *et al.*, 2008). Entre los metabolitos con actividad biológica contra insectos están los flavonoides, terpenoides, alcaloides, esteroides y fenoles (Orozco *et al.*, 2006).

Estos resultados colocan a los cultivares Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> y Virginia<sup>®</sup> como inadecuados para el desarrollo poblacional del ácaro. Los factores químicos y morfológicos presentes en los cultivares Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> y Verdi<sup>®</sup> permiten el desarrollo de ácaros y se presentan como cultivares susceptibles a la plaga. A mayor concentración de nitrógeno se incrementa la tasa de desarrollo de la población de ácaros y coincide con lo documentado por diversos autores como Wermelinger *et al.* (1985), quienes indican que la reducción de nitrógeno del 50%, afectó de manera negativa 10 veces la fecundidad de *T. urticae* en hojas de manzana, por su parte Wilson (1994), menciona un mayor desarrollo poblacional de arañas con altos contenidos de nitrógeno en plantas fertilizadas con una alta proporción de nitrógeno.

Con respecto a la variable terpenos, investigaciones sobre los mecanismos de defensa de las plantas sobre los herbívoros tienen acción atrayente para artrópodos (Berenbaun, 1995; Gorsky, 2004), entre otras sustancias se encuentran formas volátiles conocidas como terpenos y taninos. Los resultados en esta investigación coinciden con los autores antes mencionados, porque se encontró una alta tasa de desarrollo

When performing a simple linear regression between the concentration of essential oils and the mite days leaf data, the model records  $y=8.7768-0.31x$ , with  $R^2$  of 0.6143, finding that only essential oils have a negative effect on the mite populations (Figure 1).



**Figura 1. Relación entre ácaro/día/hoja y mL de aceites esenciales por gramo de hoja de *Rosa x hybrida*.**  
**Figure 1. Relationship between mite/day/leaf and essential oil mL per gram of leaf of *Rosa x hybrida*.**

The population development responded differently between the cultivars under study. This confirms the result and agrees with the statement of Van Lenteren and Noldus (1990), who asserted that a small development and high reproductive rate of the pest in all host-plants indicate the degree of stability of secondary metabolites in the plants. So within the effects, presented by some metabolites lays the anti-feeding activity, exerted by the compounds ingested by the insect, causing them to stop feeding and eventually starve to death (Isman, 2006). In addition, other compounds that regulate growth and inhibit metamorphosis or cause premature molting, also alter the regulation of growth hormones and malformations that cause sterility or death of the insects (Celis *et al.*, 2008). Among the metabolites with biological activity against insects are the flavonoids, terpenoids, alkaloids, steroids and phenols (Orozco *et al.*, 2006).

These results place the cultivars Movie star<sup>®</sup>, Virginia<sup>®</sup> and Emma<sup>®</sup> as unsuitable for mite population development. The chemical and morphological factors in the cultivar Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> and Verdi<sup>®</sup> allow the development of mites and are presented as cultivars susceptible to the pest. At higher nitrogen concentration, the rate of development of mite population increases, coinciding with that documented by several authors such as Wermelinger *et al.* (1985), who indicated that, the nitrogen reduction of 50%, negatively affected 10 times the fecundity of *T. urticae* in apple leaves,

poblacional, como resultado del modelo matemático de la regresión múltiple, que muestra una correlación positiva e indica que a mayor concentración de terpenos hay mayor desarrollo poblacional.

Las poblaciones del ácaro se vieron afectadas de manera negativa con la presencia de aceites esenciales y los resultados coinciden con Isman *et al.* (2007); Choi *et al.* (2004), quienes estudiaron el efecto tóxico de diversos aceites esenciales de plantas con *T. urticae* y demostraron el efecto tóxico de contacto con el aceite de romero y otras plantas. Por otro lado Miresmailli *et al.* (2006), demostró que el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) fue efectivo en el control de *T. urticae* en cultivos de frijol y tomate. Además de tener los aceites esenciales actividad fumigante y de contacto, poseen también acción ovicida, antialimentaria y repelente (Sanna *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONES

De los 13 cultivares en estudio Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> y Verdi<sup>®</sup> fueron los que presentaron un mayor incremento poblacional del ácaro de dos manchas, *T. urticae*, siendo los cultivos más susceptibles. Sin embargo los cultivares Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> y Virginia<sup>®</sup> fueron los cultivares más resistentes al desarrollo poblacional del ácaro de dos manchas; por otro lado los aceites esenciales fue la única variable que mostró un impacto negativo, por lo que actuaron como mecanismos de defensa. La fluctuación poblacional en ocho semanas de muestreo sistemático de *T. urticae* en los cultivares susceptibles (Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> y Verdi<sup>®</sup>) que en promedio osciló entre los 1 307 a 2 784.1 ácaros, siempre fue en aumento mientras que los cultivares más estables, que no presentaron picos poblacionales fueron las que mostraron cierto grado de resistencia como Movie star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> y Virginia<sup>®</sup>.

## LITERATURA CITADA

Aguilar, M. S.; Díaz, G. O.; Rodríguez, M. C.; González, C. J. E.; García, V. R.; Martínez, C. J. L. y Reséndiz, G. B. 2011. Resistencia de *Tetranychus urticae* Koch a acaricidas usados en la producción del rosal en invernadero en México. Southwestern Entomologist. 36(3):363-371.

meanwhile Wilson (1994), mentioned a higher development of spider population with high contents of nitrogen in plants fertilized with a high proportion of nitrogen.

With respect to the variable terpenes, research on defense mechanisms of plants on herbivores have an attractive action for arthropods (Berenbaun, 1995; Gorsky, 2004), among other substances, there are volatile forms better known as terpenes and tannins. The results in this study agree with the authors just mentioned, because we found a high rate of population development, as a result of the mathematical model of multiple regressions, which shows a positive correlation, indicating that the higher the concentration of terpenes the greater population development.

The mite populations were negatively affected by the presence of essential oils and these results concord with that established by Isman *et al.* (2007); Choi *et al.* (2004), who studied the toxic effect of various essential oils of plants with *T. urticae* and demonstrated the toxic effect of contact with the oil of rosemary and other plants. Furthermore, Miresmailli *et al.* (2006) showed that, rosemary's essential oil (*Rosmarinus officinalis* L) was effective in controlling *T. urticae* on bean and tomato crops. The essential oils besides presenting fumigant and contact activity also possess ovicidal, antifeedant and repelling action (Sanna *et al.*, 2004).

## CONCLUSIONS

Out of the 13 studied cultivars, Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> and Verdi<sup>®</sup> were those with the highest red spider mite population increase, *T. urticae*, being the most susceptible crops. However, the cultivars Movie Star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> and Virginia<sup>®</sup> were those more resistant to the red spider mite population development; on the other hand, the essential oils variable was the only one that showed a negative impact so it acted as a mechanism of defense. The population dynamics of eight weeks of systematic sampling of *T. urticae* on the susceptible cultivars (Luna<sup>®</sup>, Gran Gala<sup>®</sup> and Verdi<sup>®</sup>) which on average ranged between 1 307 to 2 784.1 mites, always increased, while the most stable cultivars, which did not showed population peaks were those that showed some degree of resistance such as Movie star<sup>®</sup>, Emma<sup>®</sup> and Virginia<sup>®</sup>.

*End of the English version*





- Berenbaum, M. R. 1995. The chemistry of defense: theory and practice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92:2-8.
- Bolland, H. R.; Gutierrez, J. and Fletchmann, C. H. W. 1998. World Catalogue of the Spider Mite Family (Acari: Tetranychidae). Koninklijke Brill NV, Leiden. The Netherlands. 165-170 pp.
- Brown, G. D. 1994. Drimediol a sesquiterpene from *Drymis winteri*. Phytochemistry. 35:975-977.
- Celis, A.; Mendoza, C.; Pachón, M.; Cardona, J.; Delgado, W. y Cuca, L. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperácea. Una Revisión. Agronomía Colombiana. 26:97-106.
- Cerna, E.; Landeros, J.; Ochoa, Y.; Luna R.; Vásquez, M. y Ventura, O. 2005. Detección de resistencia enzimática por productos sinergistas en una línea de campo de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Folia Entomológica Mexicana. 44(3):287-295.
- Cruz, A.; Silva, M. y Sammes, P. G. 1973. Further terpenoides and phenolics of *drymis winteri*. Phytochemistry. 12:2549-2550.
- Choi, W. I.; Lee, S. G.; Park, H. M. and Ahn, J. 2004. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97:553-558.
- Duffey, S. S.; Stout, M. J. and Workman, K. V. 1996. Identity, spatial distribution, and variability of induced chemical responses in tomato plants. Entomologia Experimentalis et Applicata. 79:255-271.
- Gencsoylu, I. 2007. Effects of the *Asphedolus aestivus* Brot. as a botanical acaricide against *Tetranychus cinnabarinus* Bois. (Acari: Tetranychidae). Int J. Agric. Res. 2:189-192.
- Gorman, K. F.; Hewitt, Denholm, I. and Devine, G. J. 2001. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. Pest Mang Sci. 58:123-130.
- Gorski, R. 2004. Effectiveness of natural essential oils in the monitoring of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood. Folia Hort. Ann. 183-187 pp.
- Isman, M. B.; Machial, C. M.; Miresmailli, S. and Bainard, L. D. 2007. Essential oil-based pesticides: new insights from old chemistry. In: Ohka-wa, H. and Miyagawa, H. Lee, P. (eds.). Pesticide Chemistry. Wiley, Weinheim. 201-209 pp.
- Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review Entomol. 51:45-66.
- Kheradpir, N.; Khalghani, J.; Ostovan, H. and Rezapanah, M. R. 2007. The comparasion of demographic traits in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on five different greenhouse cucumber hybrids (*Cucumis sativus*). Acta Hortic. 747:425-429.
- Landeros, F. J.; Guevara, L. P.; Badii, M. H.; Flores, F. y Pámanes, A. 2004. Effect of different densities of the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* on CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration and stomatal behaviour in rose leaves. Expl. Appl. Acarol. 32:187-198.
- Lastra, V. H.; Rodríguez, L. E.; Leyes, P. L. y Rego, G. S. M. 2000. Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. Revista Cubana Médica. 5(1):17-22.
- Marcic, D. 2007. Sublethal effects of spiroadiclofen o life history and life-table parameters of two-spot- ted spider mite (*Tetranychus urticae*). Exp. Applied Acarology. 42:121-129.
- Miresmailli, S.; Bradbury, R. and Isman, M. B. 2006. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. Pest Manage. Sci. 62(4):366-371.
- Muñoz, O.; Montes, M. y Wilkomirsky, T. 2001. Plantas medicinales de uso en Chile. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 330 pp.
- Murray, K. D.; Hasegawa, S. and Arx, A. R. 1999. Antifeedant activity of *citrus limonoids* against Colorado potato beetle: comparison of aglycones and glucosides. Entomol. Exp. Appl. 92:331-334.
- Orozco, J.; Soto, A. e Hipolito, A. 2006. Efecto de repelencia de *Crotalaria juncea*, *Galactia striata* y *Cymbopogon nardus* para el manejo de *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae). Revista de Biología e Ciencias Da Tierra. 6:179-185.
- Pedigo, L. y Rice, M. 2006. Entomology and pest management. Pearson Prentice Hall. Nueva York, USA. 749 p.
- Sadras, V. O.; Wilson, L. J. and Rally, D. A. 1998. Water deficit enhanced cotton resistance to spider mite herbivory. London. Ann. Bot. 81:273-286.
- Sanna, G.; Bazzoni, E. and Moretti, M. 2004. Microencapsulated essential oils active against Indian meal moth. Bol. San. Veg. Plagas. 30:125-132.
- Stumpf, N.; Zebitz, C. P. W.; Kraus, W.; Moores, G. D. and Nauen, R. 2001. Resistance to organophosphates and biochemical genotyping of acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Pestic. Biochem. Physiol. 69:131-142.

- Stumpf, N. and Nauen, R. 2002. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Pestic. Biochem. Physiol. 72:111-121.
- Van Lenteren, J. C. and Noldus, L. P. 1990. Whitefly- plant relationship: behavioral, and biological aspects *In*: Gerling, D. (ed.). Whitefly: their bionomics, pest status and management. Intercept Andover. 47-89 pp.
- Van Schie, C. C. and Haring, M. A. 2007. Tomato linalool synthase is induced in trichomes by jasmonic acid. Plant Mol. Biol. 64:251-263.
- Wermelinger, B.; Oertli, J. J. and Delucchi, V. 1985. Effect of host plant nitrogen fertilization on the biology of the spotted spider mites, *Tetranychus urticae*. Entomol. Exp Appl. 38:23-28.
- Wilson, L.J. 1994. Plant-quality effect on life-history parameters of the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on cotton. J. Economic Entomol. 87:1665-1673.
- World Health Organization. 1998. Quality control methods for medicinal plant materials. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 115 p.
- Zhang, Z. 2003. Mites of greenhouse of identification biology and control. Cabi Publishing. 256 p.