

Evaluación de ácido acético como fumigante de mosquita blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en laboratorio y campo*

Assessment of acetic acid like fumigant of silverleaf whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in laboratory and field

José Alfredo Samaniego Gaxiola^{1§}, José Emmanuel Amaya Carrillo² y José Luis Puente Manríquez²

¹Campo Experimental La Laguna. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Boulevard José Santos Valdez Núm. 1200 Poniente. Col. Centro. C. P. 27440, Matamoros, Coahuila. ²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro - Unidad Laguna. Periférico y carretera a Santa Fe s/n, ejido San Antonio de los Bravos Torreón. C. P. 27000. Torreón, Coahuila. (carrillo_1828@hotmail.com), (8717207730@prodigy.net.mx). [§]Autor para correspondencia: samaniego.jose@inifap.gob.mx.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad del ácido acético (AA) como fumigante en contra de *Bemisia tabaci* (mosquita blanca) que es un plaga de importancia nacional. En el laboratorio, se fumigó el insecto con tres regímenes de dosis - tiempo: (ambos medios), baja - largos y altas - cortos. En el campo, las hojas de calabaza de cuatro variedades fueron fumigadas con 8, 16 y 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA en tiempos de 20, 40 y 60 min; adicionalmente, se evaluó el daño en las hojas (fitotoxicidad) después de fumigarse. En el laboratorio, tiempo de fumigación > 15 min y 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA mató 100% de la mosquita, mientras que, su supervivencia se redujo 40% al fumigarla ocho horas con 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA; pero la incubación del testigo (mosquita sin fumigar) por \geq 16 h también redujo su supervivencia; entretanto, con 8 y 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA se redujo la supervivencia del insecto desde los cinco minutos (~20-80%). En el campo, la mosquita sobrevivió ~ 40% en las hojas de las cuatro variedades después de fumigarse con AA (8-32 $\mu\text{g ml}^{-1}$) durante 20 min, pero el insecto prácticamente no sobrevivió al aumentar el tiempo de fumigación a 60 min. Las hojas mostraron un daño severo (fitotoxicidad) > al 50% excepto en la dosis de 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ a los 20 min con un daño de ~ 20%. Se discuten alternativas del empleo del AA como fumigante.

Abstract

The aim of this work was to assess the capacity of acetic acid (AA) like fumigant against *Bemisia tabaci* (silverleaf whitefly) which is a pest of national importance. In laboratory, the bug was fumigated with three doses-time regimes: (both media), low dose-long time and high dose-short time. In field, squash leaves of four varieties were fumigated with 8, 16 and 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA during of 20, 40 and 60 min; additionally, it was assessed damage in foils (phytotoxicity) after fumigation. In laboratory, fumigation time > 15 min and 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA killed 100% of whitefly, while its survival was reduced 40% when fumigated eight hours with 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA; but control incubation (whitefly without fumigation) during \geq 16 h also reduced its survival; meanwhile, with 8 and 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA the pest survival was reduced since five minutes (~20-80%). In field, the whitefly survived ~40% in leaves of four varieties after fumigating with AA (8-32 $\mu\text{g ml}^{-1}$) during 20 min, but pest practically did not survive when increasing fumigation time to 60 min. The leaves showed severe damage (phytotoxicity) > to 50% except in dose of 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ at 20 min with damage of ~ 20%. Alternative to use of AA like fumigant are discussed.

Key words: biofumigants volatile fatty acids, vegetal protection.

* Recibido: julio de 2011
Aceptado: marzo de 2012

Palabras clave: ácidos grasos volátiles biofumigantes, protección vegetal.

Introducción

El cultivo de calabaza *Cucurbita* spp., en México, el año 2008, ocupó una superficie de más de 4 mil ha (SIAP, 2010). En La UAAAN Unidad - Laguna (Torreón, Coahuila), se trabaja evaluando variedades de calabaza, producto de la cruce de especies de *Cucurbita*; sin embargo, estas variedades, al igual que otros cultivos en La Laguna, son a menudo infestadas fuertemente por la mosquita blanca, nombre con el que se le conoce a *Bemisia tabaci* (Gennadius). Este insecto posee una gran cantidad de biotipos (Brown *et al.*, 1995), que constituyen una plaga presente en todo el mundo, que puede atacar a más de 500 especies de plantas, muchas de ellas cultivos como melón, sandía, tomate, así como plantas ornamentales. La mosquita se alimenta de la savia de las plantas, lo que induce defoliación y menor crecimiento, así como manifiesta una gran capacidad para transmitir virus a los cultivos que invade. El impacto económico de esta plaga se estimó en más de mil millones de dólares tan sólo en California, Estados Unidos de América (Urias-López *et al.*, 2005; Center for Invasive Species Research, 2010).

El ácido acético (AA) destaca entre los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV), por su bajo costo y por considerarse un compuesto de bajo riesgo para humanos, animales y ambiente (Shafiur, 2007), así como por tener propiedades fungicidas, herbicidas y de ajustar el pH (Pesticide Action Network North America, 2010). Si bien el AA se ha evaluado ampliamente como fumigante principalmente de frutas (Sholberg, 2009), también se ha hecho para desparasitar abejas *Apis mellifera* L. (Pernal *et al.*, 2010). La necesidad de encontrar nuevos productos para combatir plagas y enfermedades, que sean baratos, no riesgosos en su manejo y no peligrosos al ambiente, nos enfoca a evaluar algunos compuestos como fumigantes o fungicidas, tales como el AA y AGV. Por todo ello, nosotros consideramos que el AA tendrá un efecto fumigante sobre *Bemisia* que dependerá de la dosis y tiempo de fumigación. Por tanto, los objetivos de este trabajo se dirigieron a: evaluar, en el laboratorio, el AA como fumigante de *B. tabaci* variando dosis y tiempos de fumigación; en el campo, evaluar el ácido como fumigante en hojas de cuatro variedades de calabaza; y, determinar la fitotoxicidad del ácido sobre las hojas fumigadas.

Introduction

Sweet potato squash *Cucurbita* spp., crop in Mexico, during 2008, occupied a surface of more than 4 thousand ha (SIAP, 2010). UAAAN Unit Laguna (Torreón, Coahuila) works assessing squashes cultivars, result of breeding *Cucurbita* species; however, these cultivars, just like other varieties in La Laguna, are often strongly attacked by *Bemisia tabaci* (Gennadius), commonly known as silverleaf whitefly. This bug has great amount of biotypes (Brown *et al.*, 1995), which constitutes a pest that exist all around the world, that can attack to more than 500 plants species, many of them in crops like melon, watermelon, tomato, as well as ornamental plants. Whitefly feeds from plant's sap, which induces defoliation and less growth, as well as great ability to transmit virus to crops that invades. Economical impact of this pest is estimated in one billion dollars just in California, USA (Urias-López *et al.*, 2005; Center for Invasive Species Research, 2010).

Acetic acid (AA) outstands among short-chain fatty acids (SCFA) due its low cost and for being considered a compound of low risk for humans, animals and environment (Shafiur, 2007), as well as for having bactericide, fungicide, herbicide properties and for adjusting pH (Goepfert and Hicks, 1969; Pesticide Action Network North America, 2010). Although it has been widely assessed like fumigant mainly for fruits (Sholberg, 2009), it is also made for de-worming bees *Apis mellifera* L. (Pernal *et al.*, 2010). The need to find new products against plagues and diseases, that are cheap, non-risk for handling and ambient friendly, leads to assess some compound like fumigants or fungicides, such as AA and SCFA. By all this we consider that AA will have fumigant effect on *Bemisia* that will depend on fumigation doses and duration. Therefore, the aim of this work was focused on: assess, in laboratory, AA like fumigant of *B. tabaci* varying fumigation doses and duration; in field, assess acid like fumigant in leaves of four squashes cultivars; and, to define acid phytotoxicity on fumigated leaves.

Materials and methods

Crop settling

On the agricultural field that belongs to UAAAN UL, there were set on April 16th, 2009, four squashes cultivars belonging to *Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam. The

Materiales y métodos

Establecimiento del cultivo

En el campo agrícola que pertenece a la UAAAN UL, se establecieron durante el 16 de abril de 2009, cuatro variedades de calabaza pertenecientes a *Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam. Las variedades de calabaza fueron Bárbara, Sandy, Muzquee de Provence y Kikuza. Durante el mes de septiembre de 2009, se recolectó la mosquita blanca de las hojas de la calabaza.

Recolección y manejo de la mosquita

Al amanecer, hojas de las cuatro variedades de calabaza infestadas con la mosquita se recolectaron y depositaron en frascos de plástico de 4 L. La tapa de estos frascos, consistieron en una malla de tul que permitía el flujo de aire e impedía que el insecto escapara. Los frascos se transportaron al laboratorio de fitopatología del Campo Experimental La Laguna (INIFAP) en Matamoros, Coahuila, en donde llegaron aproximadamente a la 9 am. La malla en la boca de los frascos se retiró y se les adaptó un embudo de vidrio de 20 cm de diámetro, de tal forma que el embudo embonó con la boca del frasco. El otro extremo del embudo (en forma de tubo recto) se tapó con un algodón para evitar que los insectos escaparan. Luego, al extremo del tubo del embudo se adaptó a una tapa de lámina que enroscaba en una botella de vidrio de 250 ml. A través del tubo del embudo se dejaron pasar aproximadamente 25 mosquitas (Figura 1), luego los frascos de 250 ml se les colocaron tapas sin perforar. Los frascos con las mosquitas permanecieron a temperatura de laboratorio $\sim 25^{\circ}\text{C}$ por no más de dos horas antes de someter las mosquitas a fumigación. Justo antes de fumigar las mosquitas dentro de los frascos, los frascos con el insecto se colocaron por 45 s en un congelador cuya temperatura fue de -10°C , ello con la finalidad de que el insecto permaneciera inmóvil temporalmente y no escapara. Inmediatamente después, los frascos se sacaron del congelador y se les añadió AA (fumigó) y fueron cerrados herméticamente e incubados a 28°C en los tiempos que posteriormente se indicarán.

Experimentos en el laboratorio

Las cantidades de AA (grado reactivo) usada por frasco de 250 ml se expresan como $\mu\text{g ml}^{-1}$, debido a que se consideró que la densidad del ácido es próxima a uno, y entonces 1 μL corresponde entonces a 1 mg, el cual se dividió entre el volumen de cada frasco (1 mg /250 ml) y se multiplicó por

squashes cultivars were Bárbara, Sandy, Muzquee de Provence and Kikuza. During September 2009, silverleaf whitefly was collected from squashes' leaves.

Collection and handling of silverleaf whitefly

In the morning, leaves of four varieties infected with whitefly were collected and put in 4 L plastic flask. Their cap was a mesh that allowed air flow and kept bug in flask. Flasks were taken to phytopathology laboratory of Experimental Field La Laguna (INIFAP) in Matamoros, Coahuila, arriving there around 9 am. Mesh was removed and 20 cm diameter glass funnel was adapted in such way that fit on flask mouth. The other end of funnel (straight tube shaped) was covered with cotton to avoid whiteflies to escape. Then, at the end of funnel tube a metallic cap was adapted to fit in 250 ml glass bottle. Through funnel tube approximately 25 whiteflies were allowed to pass (Figure 1), and then 250 ml flasks were covered with caps with no holes on them. The flasks with whiteflies were kept at laboratory temperature $\sim 25^{\circ}\text{C}$ during less than two hours before applying fumigation to them. Just before fumigation within flasks, they were put during 45 s in freezer at a temperature of -10°C , with the purpose to temporary immobilize the bug and avoid its escape. Immediately, flasks were taken from freezer and AA was added (fumigation) and were tightly closed and incubated at 28°C during time that will be listed later in this paper.

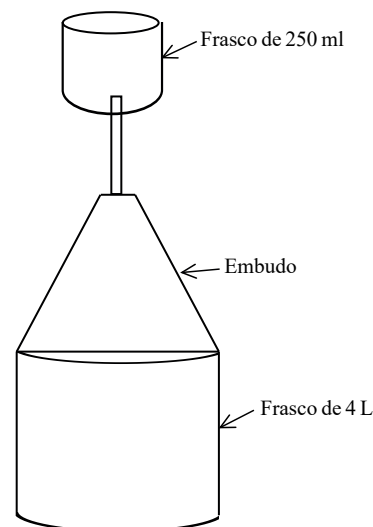


Figura 1. Dibujo que representa los frascos en donde se recolectó la mosquita blanca (frasco de 4 L) y donde se recolectaron 25 mosquitas (frasco de 250 ml) usando un embudo de vidrio.

Figure 1. Picture that represent flasks where whitefly was collected (4 L flask) and where 25 specimens were collected (250 ml flask) using glass funnel.

1 000 para expresar entonces $\mu\text{g ml}^{-1}$. Cuando se usó en el ácido en dosis $> 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ éste se tomó directamente con una micro pipeta; pero en dosis menores a la referida, se tomaron 10 μL de alguna de las diluciones acuosa donde se añadió AA a razón de 1.25, 2.5, 5 y 10 ml aforando a 100 ml de agua destilada, lo que correspondió a las dosis de 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. Tres experimentos de fumigación para *B. tabaci* se realizaron: en el primero, se usaron dosis medias (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$) en tiempos medios de incubación a 28 °C (15, 30, 45 y 60 min); en el segundo, las dosis fueron bajas (0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) y tiempos largos (4, 8, 16, 24 y 48 h); en el tercero, las dosis fueron altas (8, 12 y 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$) en tiempos cortos (5, 7.5 y 10 min). Al finalizar la incubación de los frascos fumigados, se destaparon y se permitió por 15 min que las mosquitas volaran y escaparan, aquéllas que no lo hicieron y permanecieron sin movimiento alguno en el fondo de los frascos se recolectaron y se observaron al microscopio estereoscópico buscando señales de movimiento. Las mosquitas que no mostraron ningún movimiento y permanecieron rígidas, se consideraron muertas. Cada tratamiento de fumigación de dosis y tiempo tuvo cuatro repeticiones (cuatro frascos).

Experimentos en campo

Las variedades de calabaza Bárbara, Sandy, Muzquee de Provence y Kikuza pertenecientes a *Cucurbita moschata* Duch. ex Lam., fueron establecidas en el campo agrícola dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro - Unidad Laguna. De cada variedad (Bárbara, Sandy, Muzquee y Kikuza) al azar, se tomó cuatro plantas y de cada planta una hoja. Las cuatro hojas de las cuatro plantas por cada una de las variedades, se tomaron como cuatro repeticiones por tratamiento (dosis y tiempos de fumigación que se indicarán). Cada hoja, sin desprenderla de la planta, fue cubierta con una bolsa de plástico de 5 L, enseguida se adicionó ácido acético a razón de 8, 16 y 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Por cada dosis del ácido añadida a las bolsas, los tiempos que permanecieron cerradas fueron de 20, 40 ó 60 min. Después, se realizó el recuento de mosquitas vivas y muertas como se indicó previamente. Las hojas donde se aplicó fumigación fueron evaluadas para síntomas de fitotoxicidad, para ello, se implementó una escala de daño (fitotóxico) con los valores siguientes; 1, 2, 3, 4 y 5 correspondieron a 0, 25, 50, 75 y 100% de daño. El daño de la hoja se registró 10 min después de haber concluido el período de fumigación, en donde una hoja no tratada (fumigada) fue el testigo o valor 1, y en donde los subsecuentes valores representaron niveles de desecación (daño) hasta observar una desecación completa valor 5= 100% de daño.

Experiments in laboratory

AA quantities (reactive grade) used per 250 ml flask are in $\mu\text{g ml}^{-1}$ units, due it was considered that acid density is near 1, and then 1 μL corresponds to 1 mg, which was divided by each flask volume (1 mg /250 ml) and it was multiplied by 1 000 to finally express $\mu\text{g ml}^{-1}$. When acid was used in dose $> 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ this was directly taken from micropipette; but in lower doses to the mentioned, 10 μL were taken from some of aqueous dilutions where AA was added at a rate of 1.25, 2.5, 5 and 10 ml mixing with 100 ml of distilled water, which corresponded to doses of 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectively. Three fumigation experiments for *B. tabaci* were performed: in the first one, mean doses (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$) were used in mean incubation times at 28 °C (15, 30, 45 and 60 min); in the second one, doses were low (0, 0.5, 1 and 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) and times were long (4, 8, 16, 24 and 48 h); in the third, the doses were high (8, 12 and 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$) in short times (5, 7.5 and 10 min). When finishing incubation of fumigated flasks, they were open and allowed during 15 min the whiteflies to fly and escape, those that did not and were not moving at the bottom of flasks were collected and were put under stereoscopic microscope searching for movement signals. The whiteflies that show no movement and were still, were considered dead. Each treatment of fumigation doses and times had four repetitions (four flasks).

Fields experiments

Squash cultivars Bárbara, Sandy, Muzquee de Provence and Kikuza belong to *Cucurbita moschata* Duch. ex Lam., and were set in agricultural field of Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro - Unidad Laguna. From each cultivar (Bárbara, Sandy, Muzquee and Kikuza) at random, four plants were taken and from each plant one leaf. The four leaves of the four plants per each cultivar, four repetitions were taken per treatment (fumigation doses and times to be indicated). Each leaf, without removing from the plant, was covered with a 5 L plastic bag, then acetic acid was added at a rate of 8, 16 and 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Per each acid dose added to the bags, the time they lasted closed were 20, 40 or 60 min. After, counting of live and dead whiteflies was done. The leaves where fumigation was applied were assessed for phytotoxicity symptoms, and for this purpose damage scale (phytotoxic) was implemented with the following values: 1, 2, 3, 4 and 5 corresponding to 0, 25, 50, 75 and

Análisis de datos

Cada experimento se estableció con un diseño completamente al azar y un arreglo factorial. A los resultados se les aplicó un análisis de varianza con medias repetidas a través del tiempo. Los datos de supervivencia de la mosquita blanca se expresaron en porcentaje fueron transformados con raíz cuadrada de arco seno antes de su análisis. La separación de medias de los tratamientos se realizó con la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se hicieron usando el paquete estadístico SAS (1999). Los experimentos en laboratorio se repitieron dos veces, mientras que el experimento de campo, sólo una vez.

Resultados

Dosis y tiempos medios de fumigación de *B. tabaci* indican que, desde 15 hasta 120 min de fumigación usando 0.5 ó 1.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA permitieron una supervivencia mayor a 90%; en contraste, el insecto no sobrevivió después de 30 min de fumigarse con 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Una supervivencia alrededor de 75% de la mosquita permaneció desde los 45 hasta los 120 min después de fumigarse con 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$; mientras que, al fumigar con 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ la supervivencia disminuyó conforme aumentó el tiempo de fumigación (Figura 2).

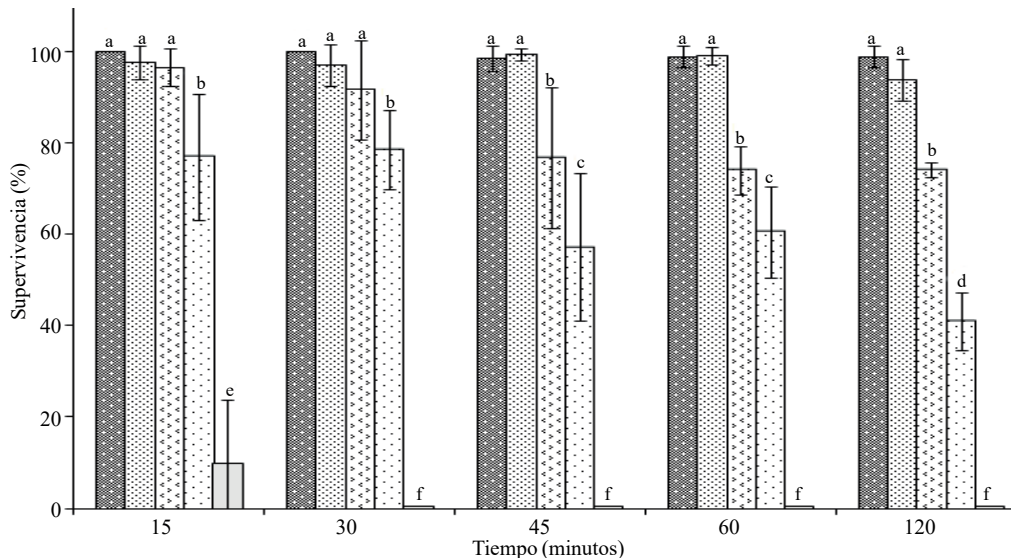


Figura 2. Supervivencia de *Bemisia tabaci* después de fumigarse con dosis medias a 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de ácido acético por ml de aire, durante tiempos medios (hasta 120 min). Las barras de error representan la desviación estándar promedio de dos experimentos, n= 8. Las letras distintas sobre las barras son diferentes según la prueba de comparación de medias Tukey $p < 0.05$.

Figure 2. Survival of *Bemisia tabaci* after fumigation with mean doses at 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of acetic acid per ml of air, during mean times (up to 120 min). Error bars represent average standard deviation of two experiments, n= 8. Different letters on bars are different according to means comparison Tukey test $p < 0.05$.

100% of damage. Leaf damage was recorded 10 min after concluding fumigation period, where non-treated leaf (fumigated) was control or value 1, and following values mean desiccation levels (damage) up to full desiccation value 5= 100% of damage.

Data analysis

Each experiment was set with completely random design and factorial design. To results analysis of variance was applied with means repeated through time. Survival data of silverleaf whitefly were expressed in percentage and were transformed with square root of arch sine before its analysis. Means separation of treatments was made with Tukey test. Statistical analyses were made using SAS software (1999). The experiments in laboratory were repeated twice, while in field only one time.

Results

Mean fumigation doses and times of *B. tabaci* indicate that from 15 min up to 120 min of fumigation using 0.5 or 1.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA allowed survival of more than 90%; in contrast, pest did not survive after 30 min of fumigation

Dosis bajas de 0.5 y 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ del ácido utilizadas en tiempos de ocho horas de fumigación del insecto permitieron una supervivencia entre 80 a 60%, respectivamente; sin embargo, con un tiempo de 16 o más horas, la mosquita murió en el tratamiento testigo (Figura 3). Es decir, la mosquita, en el tratamiento testigo, fue severamente afectada por las condiciones de confinamiento ≥ 16 h; si bien, con estos tiempos de confinamiento, la fumigación en todas sus dosis indujo una menor supervivencia del insecto que el tratamiento testigo.

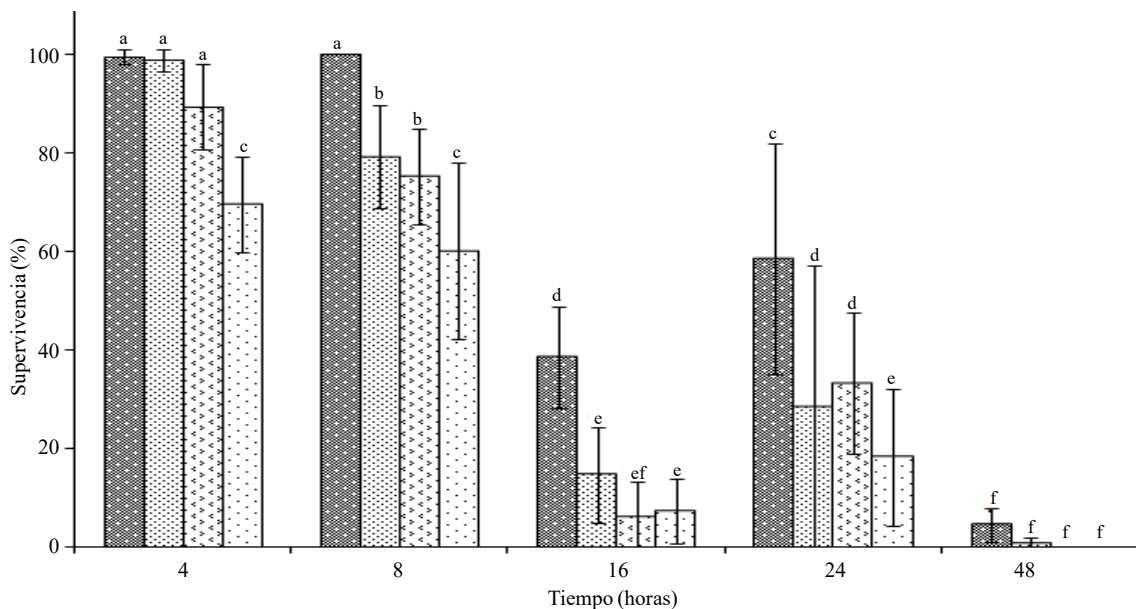


Figura 3. Supervivencia de *Bemisia tabaci* después de fumigarse con dosis bajas a 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de ácido acético por ml de aire, durante tiempos largos (hasta 48 h). Las barras de error representan la desviación estándar promedio de dos experimentos, n=8. Letras distintas sobre las barras son diferentes según la prueba de comparación de medias Tukey $p < 0.05$.

Figure 3. Survival of *Bemisia tabaci* after fumigation with low doses at 0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of acetic acid per ml of air, during long times (up to 48 h). Error bars represent average standard deviation of two experiments, n=8. Different letters on bars are different according to means comparison Tukey test $p < 0.05$.

Dosis altas de 4 a 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ del AA en tiempos de fumigación cortos de 5 a 10 min, resultaron en un incremento de la muerte del insecto conforme aumentó la dosis y el tiempo de fumigación, hasta que la supervivencia de la mosquita estuvo alrededor de 20, 10 y 5% después de fumigarse 10 min con 4, 8 y 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ del ácido, respectivamente (Figura 4). Estos resultados tuvieron una marcada desviación estándar, la cual disminuyó al aumentar la dosis y tiempo de fumigación.

En el análisis estadístico, en los experimentos efectuados en el laboratorio respecto a la supervivencia de *B. tabaci*, el tiempo, dosis y su interacción fueron significativos,

with 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$. A survival around 75% was detected from 45 min to 120 min after treatment with 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$; while when fumigation with 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ survival decreased as fumigation time increased (Figure 2).

Low doses of 0.5 and 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of acid used in times of eight hours of fumigation allowed survival between 80 to 60%, respectively; however, with time of 16 or more hours, whitefly died in control treatment (Figure 3). In other words, the whitefly in control treatment was extremely

affected by confinement conditions ≥ 16 h; although, with these confinement times, fumigation at all doses induced less survival of pest than control treatment.

High doses of 4 to 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA in short fumigation times from 5 to 10 min, resulted in an increase in bug death as fumigation doses and time increase, up to whitefly survival was around 20, 10 and 5% after fumigation with 4, 8 and 16 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of acid, respectively (Figure 4). These results had strong standard deviation, which diminished when increasing fumigation dose and time.

excepto, para la interacción dosis x tiempo en el experimento dosis alta - tiempo corto. Mientras que, en el experimento en campo, la dosis, tiempo, variedades y la interacción de todas fueron significativas. En el experimento daño provocado por el AA en las hojas de las cuatro variedades de calabaza, la dosis y el tiempo fueron significativos y no así las variedades ni la interacción de tiempo, dosis, variedades (Cuadro 1).

Statistical analysis, in experiments made in laboratory respect survival of *B. tabaci*, time, dose and their interaction were significant, except for dose x time interaction in the high dose - short time experiment. While in field experiment dose, time, cultivars and all their interactions were significant. In the experiment the damage caused by AA in leaves of four squash cultivars, the dose and time were significant, but not the interaction time, doses, cultivars (Table 1).

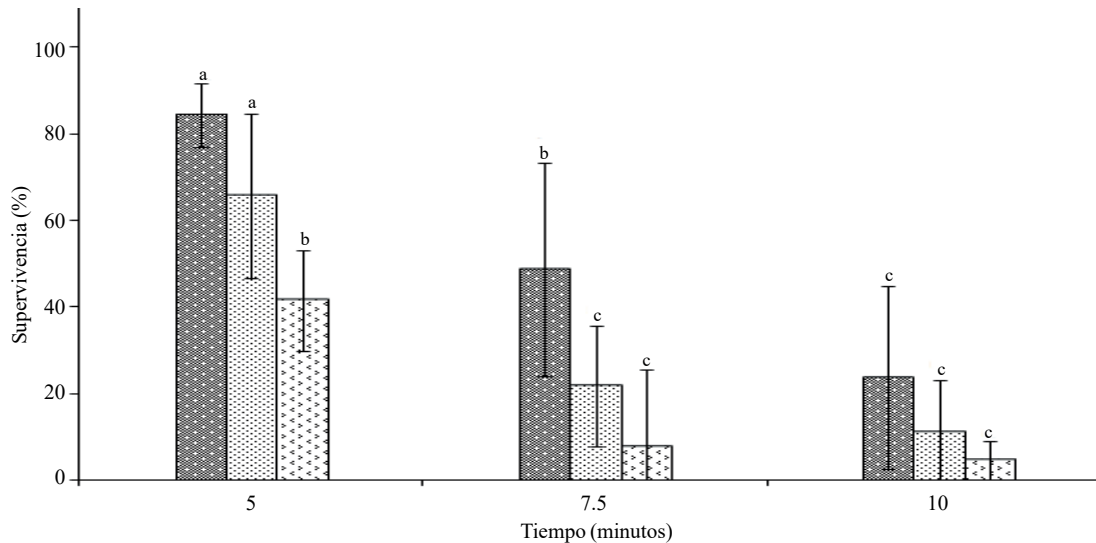


Figura 4. Supervivencia de *Bemisia tabaci* después de fumigarse con dosis altas a 8, 12 y 16 µg ml⁻¹ de ácido acético por ml de aire, en tiempos cortos (hasta 10 min). Las barras de error representan la desviación estándar promedio de dos experimentos, n= 8. Letras distintas sobre las barras son diferentes según la prueba de comparación de medias Tukey $p < 0.05$.

Figure 4. Survival of *Bemisia tabaci* after fumigation with high doses at 8.0, 12.0 and 16.0 µg ml⁻¹ of acetic acid per ml of air, in short times (up to 10 min). Error bars represent average standard deviation of two experiments, n= 8. Different letters on bars are different according to means comparison Tukey test $p < 0.05$.

Cuadro 1. Análisis de varianza para los experimentos de fumigación de *B. tabaci* con ácido acético y daño del ácido en variedades de calabaza

Table 1. Analysis of variance for fumigation experiments of *B. tabaci* with acetic acid and acid damage in squash cultivars.

Variables	Fumigación dosis - tiempo:			Fumigación en campo	Daño de calabaza
	media-medio	baja-largo	alta-corto		
Dosis	***	***	***	***	***
Tiempo	***	***	***	***	***
Dosis x Tiempo	***	***	ns	**	ns
Variedad	-	-	-	**	ns
Dos x Tiempo x Variedad	-	-	-	**	ns

*** = $p < 0.001$; ** = $p < 0.05$; ns = no significativo; - no se consideraron las variables.

La fumigación de las hojas de la calabaza infestadas por *B. tabaci* indica que al aumentar la dosis (8-32 µg ml⁻¹ de AA) y el tiempo (20-60 min) de fumigación el insecto disminuyó su supervivencia (Figura 5).

Leaves fumigation of squash attacked by *B. tabaci* indicates that when increasing doses (8-32 µg ml⁻¹ of AA) and time (20-60 min) of fumigation the pest decreased its survival (Figure 5).

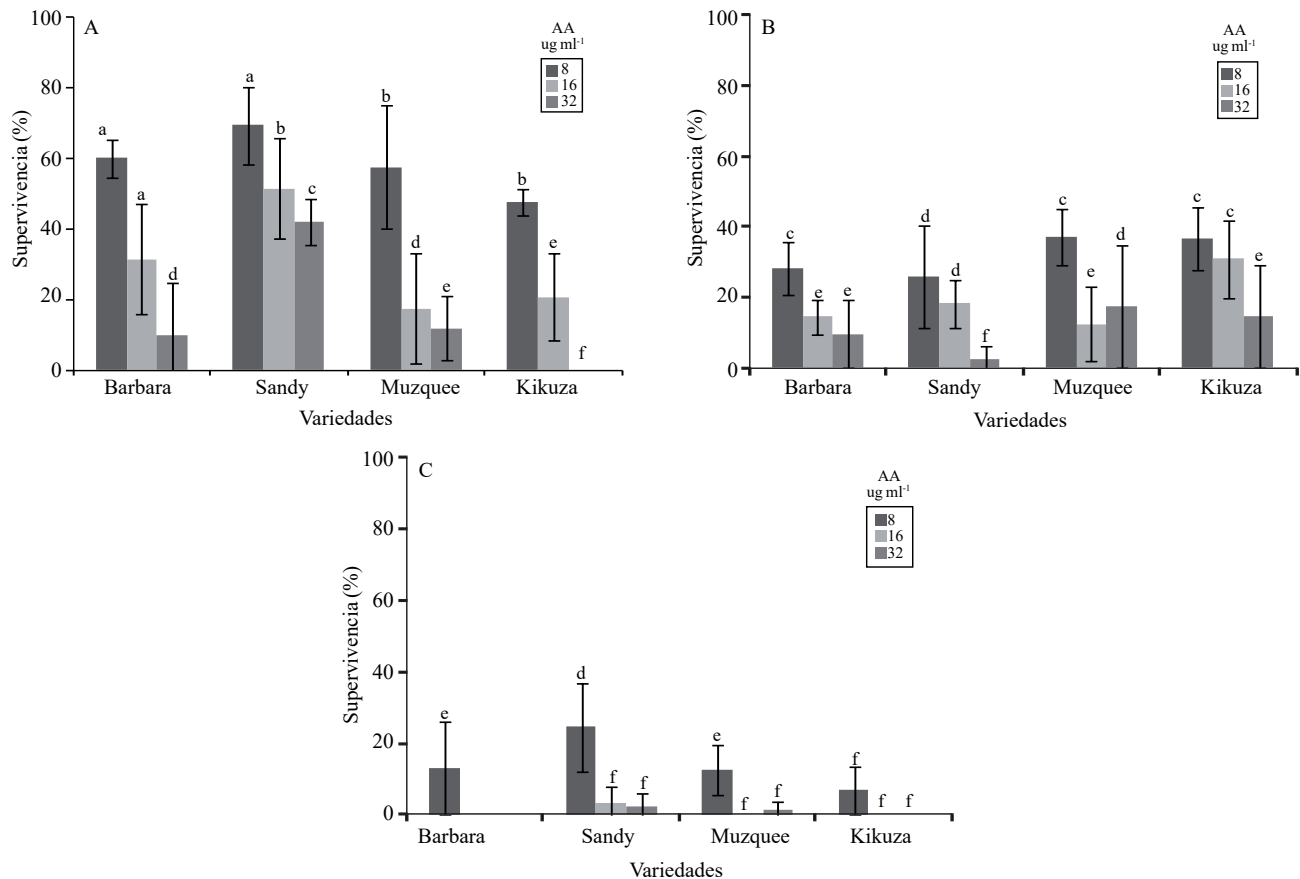


Figura 5. Supervivencia de *Bemisia tabaci* en hojas de calabaza después de fumigarse con 8, 16 y 32 µg ml⁻¹ de ácido acético por ml de aire. A, B y C indican 20, 40 y 60 min de fumigación respectivamente. Las barras de error representan la desviación estándar, n = 4. Letras distintas sobre las barras son diferentes según la prueba de comparación de medias Tukey $p < 0.05$.

Figure 5. Survival of *Bemisia tabaci* in squash leaves after fumigation with 8.0, 16.0 and 32.0 µg ml⁻¹ of acetic acid by ml of air. A, B and C indicate 20, 40 and 60 min of fumigation, respectively. Error bars represent average standard deviation of two experiments, n = 8. Different letters on bars are different according to means comparison Tukey test $p < 0.05$.

No obstante, el daño causado por el AA fue mayor a 50% en las hojas fumigadas, de todas las variedades, en todos los tiempos y dosis de fumigación, excepto en la dosis más baja usada (8 µg ml⁻¹) y tiempo de fumigación de 20 min, que provocó un daño que osciló de 20 a 30% (Figura 6).

Discusión

El modo de acción del AA sobre organismos implica el modificar el pH intracelular - extracelular (João *et al.*, 1996; Uhre y Arneborg, 1998); afectar proteínas asociadas al ADN (histonas) (Hinnebusch *et al.*, 2002); o irritando tejido como mucosas (Hamilton *et al.*, 1998). Al irritar los tejidos el AA podría romper células provocando muerte necrótica, pero en dosis

Nevertheless, damage caused by AA was greater than 50% in leaves fumigated, of all cultivars, in all fumigation times and doses, except in the lowest dose used (8 µg ml⁻¹) and fumigation time of 20 min, that caused damage that ranged from 20 to 30% (Figure 6).

Discussion

Action mode of AA over organisms implies modification of intracellular - extracellular pH (João *et al.*, 1996; Uhre and Arneborg, 1998); make affection to associated proteins to DNA (histones) (Hinnebusch *et al.*, 2002); or irritating tissue like mucous membranes (Hamilton *et al.*, 1998). When irritating tissues AA could break cell causing necrotic death,

menores, el ácido puede matar células de manera no destructiva o muerte por apoptosis (Phillips *et al.*, 2006). Nuestros resultados indican una muerte rápida de *B. tabaci* (desde cinco minutos) cuando se fumigó a dosis altas ($> 8 \mu\text{g ml}^{-1}$) y una muerte lenta (hasta ocho horas) al fumigar con dosis bajas de 0.5 a $2 \mu\text{g ml}^{-1}$, lo que podría significar muerte necrótica con las dosis más altas y posiblemente muerte por apoptosis en dosis bajas.

but in lower doses, acid could kill cells in non-destructive way or by apoptosis (Phillips *et al.*, 2006). Our results indicate fast killing of *B. tabaci* (from five minutes) when fumigated at high doses ($> 8 \mu\text{g ml}^{-1}$) and slow killing (up to which hours) when fumigated at low doses from 0.5 to $2 \mu\text{g ml}^{-1}$, which could mean necrotic death at higher doses and possibly death by apoptosis at low doses.

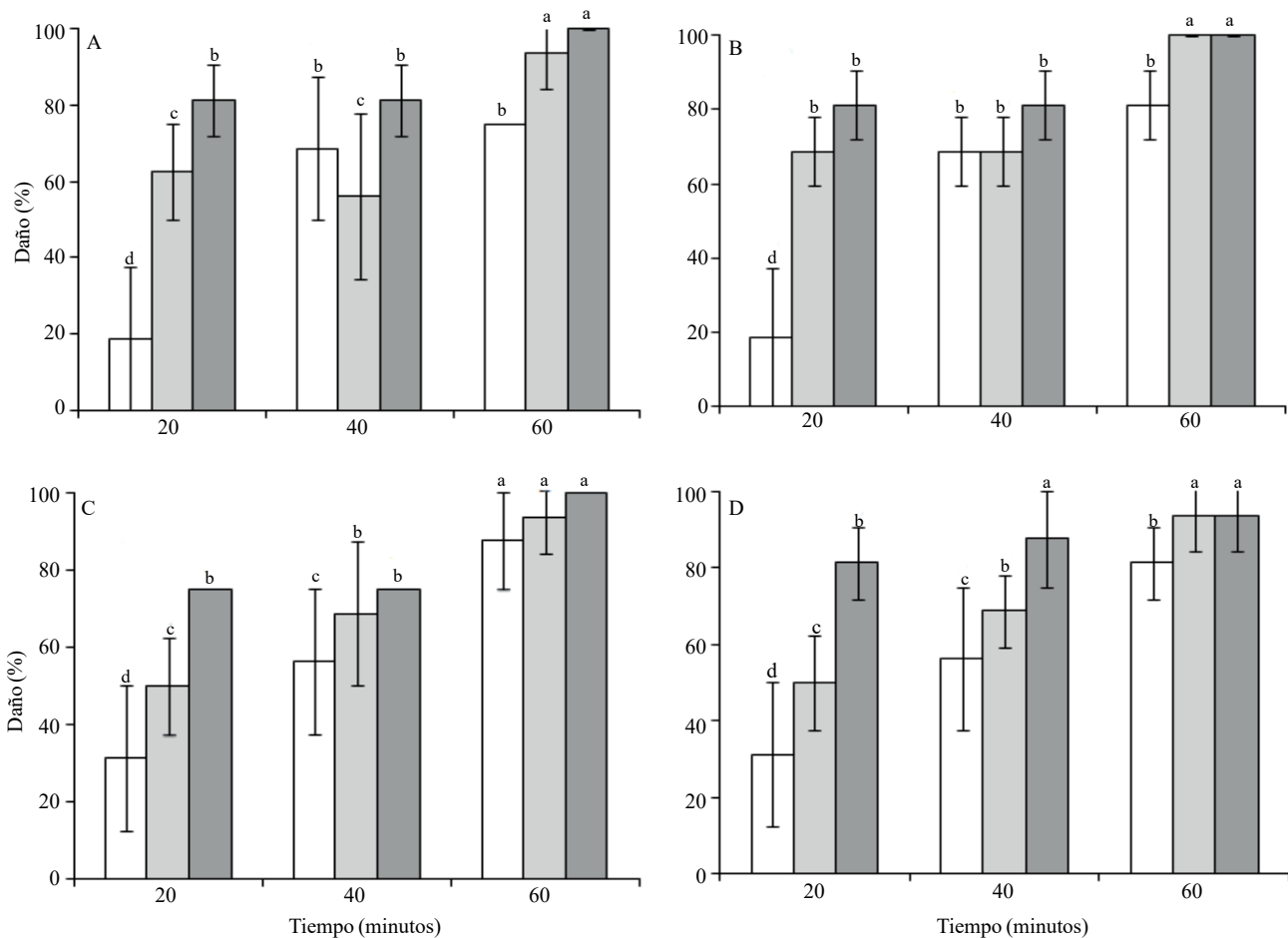


Figura 6 A-C. Daño en hojas de calabaza después de fumigarse con 8, 16 y $32 \mu\text{g ml}^{-1}$ de ácido acético por ml de aire, hasta por 60 min. A, B, C y D corresponden a las variedades Bárbara, Sandy, Muzquee y Kikuza, respectivamente. Las barras de error representan la desviación estándar, $n = 4$. Letras distintas sobre las barras son diferentes según la prueba de comparación de medias Tukey $p < 0.05$.

Figure 6 A-C. Damage in squash leaves after fumigation with 8.0, 16.0 and $32.0 \mu\text{g ml}^{-1}$ of acetic acid per ml of air, up to 60 min. A, B, C and D correspond to cultivars Bárbara, Sandy, Muzquee and Kikuza, respectively. Error bars represent average standard deviation of two experiments, $n = 8$. Different letters on bars are different according to means comparison Tukey test $p < 0.05$.

B. tabaci confinada > 8 h, indujo una disminución drástica de su supervivencia (Figura 4), esto afecta la interpretación de la fumigación después de dicho tiempo. La supervivencia (medias) de la mosquita tanto en testigo como dosis de fumigación fue

B. tabaci confined > 8 h, induced a drastic decrease of its survival (Figure 4), this affects interpretation of fumigation after such time. Survival (means) of whitefly as well in control as in fumigation dose was higher at 24 h than at

mayor a las 24 h que a las 16 h (Figura 4); sin embargo, en ambos casos, las marcadas desviaciones estándar abarcan en varios casos los valores de ambos tiempos de incubación en cada dosis. Ello podría deberse a las características distintas de los insectos, tales como su tamaño, edad, sexo; es decir, en ambos tiempos de confinamiento o fumigación tendríamos algunos individuos que lograron sobrevivir debido posiblemente a las características mencionadas.

El volumen reducido de aire, la humedad, el agua disponible y la ingesta de alimento de *B. tabaci* confinado en los frascos de 250 ml podrían haber afectado su supervivencia en tiempo > 8 h, por ello, futuras evaluaciones deberán de realizar ajustes necesarios al respecto. Al confinar la mosquita > 8 h, un mayor volumen de aire podría ser proporcionado al colocar el insecto en frascos de 1 L o más; también se podría colocar agua antes de cerrar los frascos, aunque habría que hacer cálculos que nos permitiesen estimar la concentración de AA en una atmósfera con una humedad relativa modificada por el agua añadida (Khan *et al.*, 2005); el proporcionar alimento (hojas de calabaza) al insecto durante su confinamiento podría ser factible y ello podría determinar si la falta de ingesta afecta su supervivencia, pero adicionar hojas en frascos donde se fumigue con AA provocara una captura del ácido por las hojas, pues se sabe que el AA es sumamente reactivo y puede entrar y salir del follaje (Staudt *et al.*, 2000).

El AA al gasificarse dentro de los frascos (donde permaneció la mosquita) se combina con el vapor de agua, en nuestro trabajo no medimos la humedad del aire contenido en los frascos; sin embargo, aún una humedad relativa tan baja como 30% que es común en La Laguna (Capel-Molina, 1980) contiene agua a razón de 6.9 g m^{-3} de aire (TIS, 2011), ésta cantidad equivale (agua - aire) a $6.9 \mu\text{g ml}^{-1}$. Cuando se adicionaron $\leq 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ de AA, se hizo añadiendo 10 μL (ver materiales y métodos) de diluciones acuosas cuyo contenido de agua fue de 90 a 98.75%, lo que equivale a no menos de $36 \mu\text{g ml}^{-1}$ de agua. Esta cantidad de agua es suficiente para saturar la atmósfera de los 250 ml de aire de los frascos. Por esto, nosotros pensamos que el AA a $\leq 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ está en disolución y tiene efecto en matar al insecto; en contraste, el ácido adicionado en una cantidad mayor a la señalada actúa principalmente en forma de gas matando al insecto. Si el AA puede matar a la mosquita en disolución, entonces, podría formularse y evaluarse como un insecticida asperjado.

En el campo, el AA fue menos eficiente como fumigante de la mosquita blanca que en las evaluaciones realizadas en el laboratorio, algunas causas pudieron ser cierta pérdida de

16 h (Figure 4); however, in both cases the large standard deviations embrace values of both times of incubation in each dose in several cases. This would be due to different bugs characteristics, such as size, age, gender; i. e., in both confinement or fumigation times there would be some individuals that survive possible due to those characteristics.

Reduced air volume, humidity, available water and food consumption of *B. tabaci* confined in 250 ml flasks would affect their survival in time > 8 h, by this reason, in further assessments should make required adjustments in this matter. When confining whitefly > 8 h, greater air volume could be supplied when placing the bug in 1 L flasks or larger; also water can be added before closing flasks, although calculations would be needed to define AA concentration in a modified relative humidity atmosphere by this additional water (Khan *et al.*, 2005); supply food (squash leaves) to bug during its confinement would be feasible, but add leaves in flasks where there is fumigation with AA cause breaking of acid by leaves, since AA is very reactive and can get in and out of foliage (Staudt *et al.*, 2000).

AA when gasifies within flasks (where whitefly was kept) it combines with water steam, in our study we did not measure air moisture in flasks; however, even at a low relative humidity like 30% that is very common in La Laguna (Capel-Molina, 1980) it contains water at a rate of 6.9 g m^{-3} of air (TIS, 2011), this is equivalent (water-air) at $6.9 \mu\text{g ml}^{-1}$. When there was addition of $\leq 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ of AA, it was made adding 10 μL (refer to materials and methods) of aqueous dilutions whose water content was of 90 to 98.75 %, which is equal to not less than $36 \mu\text{g ml}^{-1}$ of water. Such quantity of water is enough to saturate the atmosphere of 250 ml of air in flasks. By this reason, we think that AA at $\leq 4 \mu\text{g ml}^{-1}$ is in dissolution and has effect of killing bug; on the other hand, the acid added in a greater amount to mentioned acts mainly in gas form killing the insect. If AA can kill whitefly in dissolution, then, could formulate and assess like spray insecticide.

In field, AA was less efficient like fumigant for whitefly than in assessments done in laboratory, some reasons would be acid loss when handling bags used for wrapping squash leaves, the adsorption of acid by leaf itself and their combination. Mortality of whitefly by variety was statistically different (Table 1), this because the different amount of whitefly actually present in each variety, but the amount and activity of whitefly per variety also could be influenced by time in which leaves were fumigated and the

ácido al manipular las bolsas donde se envolvieron las hojas de la calabaza, la absorción del ácido por la misma hoja y la combinación de ambos. La mortandad de la mosquita blanca por variedad fue estadísticamente distinta (Cuadro 1), esto podría deberse a distinta cantidad de mosquita presente en cada variedad, pero la cantidad y actividad de mosquita por variedad también podría estar influenciada por la hora en la que se fumigaron las hojas y el daño previo de las hojas por la mosquita. Por el contrario, la fitotoxicidad de las hojas de calabaza fumigadas con AA fue similar para las cuatro variedades evaluadas.

La aplicación práctica del AA como un fumigante para insectos es aún una posibilidad, particularmente se podría aplicar en sitios cerrados como lo podría ser invernaderos. Sin embargo, es necesario investigar si dosis tan bajas como 0.5 a 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pudiesen ser efectivas al incrementar el tiempo de fumigación. Si bien, en este trabajo, se determinó que al incrementar el tiempo de fumigación hasta ocho horas, la supervivencia de *B. tabaci* descendió, lo mismo ocurrió al incrementar el tiempo de confinamiento del insecto por más de ocho horas (sin fumigar). Para evitar tiempos largos de confinamiento que afecten la supervivencia de la mosquita, se podría fumigar repetidas ocasiones, usando dosis bajas (0.5 a 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) en tiempo igual o menor a ocho horas. Otra forma de mantener confinada a la mosquita tiempos mayores a ocho horas sin afectar su supervivencia, como se mencionó, podría ser el incubarla en recipientes de mayor volumen, si esto funciona, entonces se podría ver el efecto del AA sobre el insecto a mayor tiempo. En contraste, el AA aplicado en un sistema cerrado, semejante al de atmósferas modificadas, podría incrementar la eficiencia de la dosis y disminuir el tiempo de fumigación, es decir, al incrementar la presión atmosférica en un sitio donde se mantenga confinado al insecto y se fumigue con AA, el ácido podría penetrar con mayor eficiencia al insecto y matarlo.

Otras formas de aplicar el ácido acético como insecticida podría ser diluido en agua (volátil) y en forma líquida (aspersión). Al diluir 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA en agua en una proporción 1:10 este se volatilizó en poco más de dos min. Actualmente, las constantes de volatilización del AA y de otros ácidos grasos volátiles diluidos en agua ya se determinó experimentalmente (Khan *et al.*, 1995). Si el AA se aplicara asperjado, se tendría que asegurar que penetrara *B. tabaci*, por esto, se requeriría por lo menos evaluar algún adherente y un coadyuvante.

Los resultados de este trabajo, no determinaron si la mosquita presenta efectos posteriores a su fumigación en dosis donde ellas lograron sobrevivir, por lo que también sería necesario realizar evaluaciones al respecto.

previous leaves damage by whitefly. On the other hand, the phytotoxicity of squash leaves fumigated with AA was similar for the four assessed varieties.

The practical application of AA like fumigation system is still a possibility, in particular it could be applied in closed sites like greenhouses. However, is necessary to research if doses as low like 0.5 to 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ could be effective when increasing the fumigation time. If although in this study, it was defined that when increasing the fumigation time up to eight hours *B. tabaci* survival decreased, the same occurred when increasing the confinement time by more than eight hours (with no fumigation).

To avoid long confinement times that affect whitefly survival, the process could be repeated several times, using low doses (0.5 to 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$) in time equal or less than eight hours. Another way to confine whitefly time longer than 8 hours without affecting its survival, like it was previously mentioned, would be incubating it in containers with larger volume. In case this works, then effect of AA would be seen on the bug at longer time. In contrast, AA applied in closes system, similar to modified environments, could increase dose efficiency and decrease fumigation time, that is, when increasing atmospheric pressure in a place where bug is confined and where it is fumigated with AA, the acid would penetrate with better efficiency to bug and kill it.

Other ways to apply acetic acid would be diluted in water (volatile) and in liquid way (spray). When diluting 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA in water at 1:10 ratio it was volatilized in less than 2 minutes. Actually, the volatile constants of AA and other acids diluted in water has been experimentally defined (Khan *et al.*, 1995). If AA is applied in spray, it would be sure that penetrates *B. tabaci*, by this, the need to assess some glue and emulsifier.

The results of this study did not define if whitefly has effect after its fumigation in dose where they survived, therefore is necessary to assess this matter.

A major limiting for AA like fumigation agent on agricultural products (fruits and vegetables) is its phytotoxicity (Sholberg *et al.*, 2003; Sholberg, 2009), which was also detected in this work; by this reason, is key to use the lowest possible doses, maybe around 1 to 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA.

AA and other AGV or AA in vinegar have been used for fumigation purposes in fruits to protect them from fungi like *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Monilinia fructicola* Honey,

Una limitante muy importante del AA como fumigante sobre productos agrícolas perecederos (frutos y verduras) lo es su fitotoxicidad (Sholberg *et al.*, 2003; Sholberg, 2009), lo que también se observó en este trabajo; por tal motivo, es clave usar dosis lo más bajas posible, tal vez alrededor de 1 a 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de AA.

El AA y otros AGV o el AA contenido en vinagre se han usado como fumigantes de frutos para protegerlos de hongos como *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Monilinia fructicola* Honey, *Penicillium expansum* L. y *Penicillium* spp. (Sholberg, 1998; Sholberg *et al.*, 2000). Este ácido también se empieza a utilizar para matar malezas (PANNA, 2010) y es responsable de mantener un buen ensilado (Danner *et al.*, 2003). Por todo ello, el uso de AA como fumigante tiene un potencial importante, aunado a su bajo costo como ácido acético glacial, que de acuerdo a nuestra estimación, su uso a 1, 8 y 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para fumigar un volumen de un m^3 costaría 1, 12 y 50 centavos, respectivamente (sólo el costo de ácido). Adicionalmente, otros grupos de insectos fueron igualmente susceptibles al AA como pulgones; asimismo, este ácido tiene la capacidad de matar a hongos de almacén (Lerma-Valero *et al.*, 2010) así como hongos fitopatógenos que habitan en el suelo (Conn *et al.*, 2005; Samaniego-Gaxiola *et al.*, 2008; Abbasi *et al.*, 2009; Samaniego-Gaxiola, 2010). Por todo ello, la evaluación del AA como fumigante para disminuir las poblaciones de organismos perjudiciales es prometedora, pero requiere más investigación, particularmente encaminada a la manera en la que puede actuar según el ambiente aire o líquido, tanto en la parte aérea como dentro del suelo.

Conclusiones

El ácido acético mató a *Bemisia tabaci* en aproximadamente 90% cuando se fumigó con 8 y 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ por 15 y 10 min, respectivamente. Dosis de AA de 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ mataron al insecto entre 50-60% en lapsos de fumigación de dos a ocho horas. La supervivencia de la mosquita blanca se afectó (40-60%) después de confinarla entre 16 a 24 h, ello no permitió evaluar apropiadamente el efecto de la fumigación del AA a dosis de 0.5 a 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Las hojas de cuatro variedades de calabaza fumigadas para matar *B. tabaci* mostraron toxicidad al ácido, aunque el insecto murió en función de la dosis usada para fumigar y el tiempo de fumigación. Para obtener las dosis de AA < 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$, el ácido se diluyó en agua, luego se aplicó como fumigante a la mosquita, esto sugiere que el ácido actuó matando al insecto en forma de disolución.

Penicillium expansum L. and *Penicillium* spp. (Sholberg, 1998; Sholberg *et al.*, 2000). This acid is also started to be used to kill weeds (PANNA, 2010) and it is responsible to keep suitable silage (Danner *et al.*, 2003). By all this, use of AA like fumigation agent has an important potential, together with its low cost like glacial acetic acid, which according to our estimation, its use at 1, 8 and 32 $\mu\text{g ml}^{-1}$ to fumigate 1 m^3 volume would cost 1, 12 and 50 cents, respectively (only acid cost). Also, other groups of insects were also susceptible to AA like aphids; besides, this acid has the ability to kill fungi (Lerma-Valero *et al.*, 2010) as well as phytopathogen fungi that live in soil (Conn *et al.*, 2005; Samaniego-Gaxiola *et al.*, 2008; Abbasi *et al.*, 2009; Samaniego-Gaxiola, 2010) and recently this acid has been effective to kill codling moth *Cydia pomonella* (Randall *et al.*, 2011). By all previously mentioned, AA assessment like fumigation agent for prejudicial organisms is promising, but requires further research, in particular to the way that can be act according to the ambient air or liquid, as well in air as within soil.

Conclusions

Acetic acid killed *Bemisia tabaci* in nearly 90% when used at 8 and 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ during 15 and 10 min, respectively. The dose 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$ of AA killed bug between 50-60% in fumigation times from two to eight hours. Survival of whitefly was affected (40-60%) after confining it between 16 and 24 h, which did not allow to properly assessing effect of AA fumigation at doses from 0.5 to 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$. The leaves of four squash varieties fumigated to kill *B. tabaci* showed toxicity to acid, although bug died in function to used dose and fumigation time. To obtain doses of AA < 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$, acid was diluted in water, then fumigant was applied to whitefly, this suggest that acid acted killing in dilution shape.

End of the English version



Literatura citada

- Abbasi, P. A.; Lazarovits, G. and Jabaji-Hare, S. 2009. Detection of high concentrations of organic acids in fish emulsion and their role in pathogen or disease suppression. *Phytopathology*. 99:274-281.

- Brown, J. K.; Frohlich, D. R. and Rosell, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? Annual Review of Entomology. 40:511-534.
- Capel-Molina, J. J. 1980. La humedad relativa en los Estados Unidos Mexicanos. Paralelo 37. 4:175-190.
- Center for Invasive Species Research, University of California Riverside. 2010. The silverleaf whitefly, *Bemisia*. URL: http://civr.ucr.edu/silverleaf_whitefly.html.
- Conn, K. L.; Tenuta, M. and Lazarovits, G. 2005. Liquid swine manure can kill *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil by volatile fatty acid, nitrous acid, and ammonia toxicity. Phytopathology. 95:28-35.
- Danner, H.; Holzer, M.; Mayrhuber, E. and Braun R. 2003. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. Appl. Environ. Microbiol. 69:562-567.
- Goepfert, J. M. and Hicks, R. 1969. Effect of volatile fatty acids on *Salmonella typhimurium*. J. Bacteriol. 97:956-958.
- Hamilton, T. D. C.; Roe, J. M.; Hayes, C. M. and Webster, A. J. F. 1998. Effects of ammonia inhalation and acetic acid pretreatment on colonization kinetics of toxigenic *Pasteurella multocida* within upper respiratory tracts of swine. J. Clinical Microbiol. 36:1260-1265.
- Hinnebusch, F. B.; Meng, S.; Wu, T. J.; Archer, Y. S. and Hodin, A. R. 2002. The effects of short-chain fatty acids on human colon cancer cell phenotype are associated with histone hyperacetylation. J. Nutrition. 132:1012-1017.
- Khan, I.; Brimblecombe, P. and Clegg, S. L. 1995. Solubilities of pyruvic acid and the lower (C1-C6) carboxylic acids. Experimental determination of equilibrium vapour pressures above pure aqueous and salt solutions. J. Atmos. Chem. 22:285-302.
- João, S. M.; Miranda, L.; Corte-real, M. and Leão, C. 1996. Transport of acetic acid in *Zygosaccharomyces bailii*: effects of ethanol and their implications on the resistance of the yeast to acidic environments. Appl. and Environ. Microbiol. 62:3152-3157.
- Lerma-Valero, E.; Samaniego-Gaxiola, J. A.; Cueto-Wong, M. C. y Balagurusamy, N. 2010. Fumigación de granos de maíz y algodón con ácido acético. Memoria de resúmenes. XXII Semana Internacional de Agronomía. UJED - FAZ. Gómez Palacio, Durango, México. 1277 p.
- Pernal, S. F.; Ibrahim, A. and Melathopoulos, A. P. 2010. Disinfection of *Nosema ceranae* -contaminated comb by irradiation, acetic acid fumigation and heat. Bee Research Conference. Orlando, Fl. January 15th, 2010. URL: http://www.extension.org/pages/ABRC2010_Disinfection_of_Nosema_ceranae_Infected_Comb_by_Irradiation_Acetic_Acid_and_Heat.
- Pesticide Action Network North America Chemical Summary for Acetic acid from. (PANNA, 2010). http://www.pesticideinfo.org/Summary_Chemical.jsp?Rec_Id=PC32883. Phillips, J. A.; Crowe, D. J. and Ramsdale, M. 2006. Ras pathway signaling accelerates programmed cell death in the pathogenic fungus *Candida albicans*. Proc. Natl. Acad. Sci. 103:723-731.
- Samaniego-Gaxiola, J. A. 2010. Ácido acético como inductor de muerte de *Phymatotrichopsis omnivora* Hennebert. Memoria de resúmenes. XXII Semana Internacional de Agronomía. UJED - FAZ. Gómez Palacio, Durango, México. 1277 p.
- Samaniego-Gaxiola, J. A.; Cueto-Wong, C. y Pedroza-Sandoval. 2008. Efecto fungistático y fungicida del ácido acético y aceite de esencial de orégano sobre los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* in vitro. Memoria de resúmenes. XX Semana Internacional de Agronomía. UJED - FAZ. Gómez Palacio, Durango, México. 897 p.
- Satistical Analysis System Institute (SAS) 1999. SAS/STAT. User's Guide. Version 8.1. SAS Publishing, Cary, N. C. 3848 p.
- Shafiur, R. M. Food preservation: overview. 2007. In: Shafiur, R. M., (edit.). Handbook of food preservation. 2^{da} ed. CRC Press, USA. 3-18 pp.
- Sholberg, P. L. 1998. Fumigation of fruit with short-chain organic acids to reduce the potential of postharvest decay. Plant Dis. 82:689-693.
- Sholberg, P. 2009. Control of postharvest decay by fumigation with acetic acid or plant volatile compounds. In: Sivakumar, D. (Ed.) New trends in postharvest management of fresh produce I. Fresh Produce 3 (Special Issue 1), 80-86. [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0906/FP_3\(SI1\)80-86o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0906/FP_3(SI1)80-86o.pdf).
- Sholberg, P. L.; Haag, P.; Hocking, R. and Bedford, K. 2000. The use of vinegar vapor to reduce post harvest decay of harvested fruit. HortScience. 35:898-903.

- Sholberg, P.; Shepard, T. and Moys, L. 2003. Monitoring acetic acid vapour concentrations during fumigation of fruit for control of post harvest decay. *Canadian Biosystems Eng.* 45:313-317.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesca (SIAP). 2010. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=286&Itemid=428.
- Staudt, M.; Wolf, A. and Kesselmeier, J. 2000. Influence of environmental factors on the emissions of gaseous formic and acetic acids from orange (*Citrus sinensis* L.) foliage. *Biogeochemistry.* 48:199-216.
- Transport Information Center (TIS.). 2011. Climate/humidity Table. http://www.tis-gdv.de/tis_e/misc/klima.htm.
- Uhre, G.L. and Arneborg, N. 1998. Measurement of the effects of acetic acid and extracellular pH on intracellular pH of nonfermenting, individual *Saccharomyces cerevisiae* cells by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:530-534.
- Urias-López, M. A.; Byerly-Murphy, K. F.; Osuna-García, J. A. y García-Berber, A. 2005. Incidencia de (Hemiptera: Aleyrodidae), áfidos (Hemiptera: Aphididae) y virosis en melón en Jalisco México-*Folia Entomol. Mex.* 44:321-337.