

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

SUBDIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE ENSEÑANZA

PROGRAMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**EFFECTOS DE LOS EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS DE NEM (Azadirachta indica A.
Jus). EN ADULTOS DE DOS ESPECIES DE CRISOMELIDOS**

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico Académico del
Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos
Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza, para optar al grado de

MAGISTER SCIENTIAE

Por

LIGIA ISABEL LACAYO PARAJON

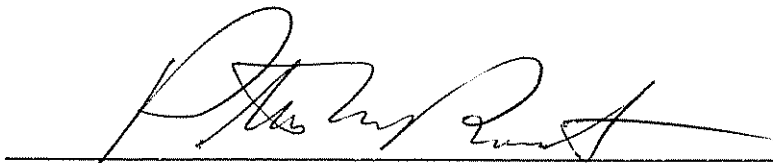
Turrialba, Costa Rica

1989

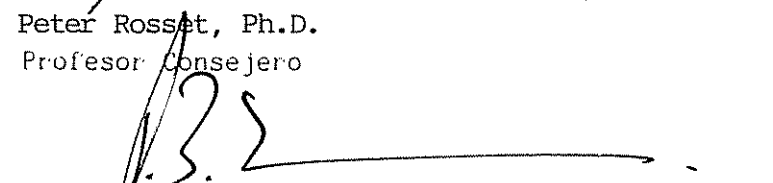
Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la Coordinación del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE, y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar el grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

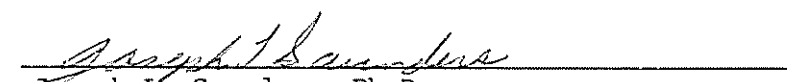
COMITE ASESOR:



Peter Rossat, Ph.D.
Profesor Consejero

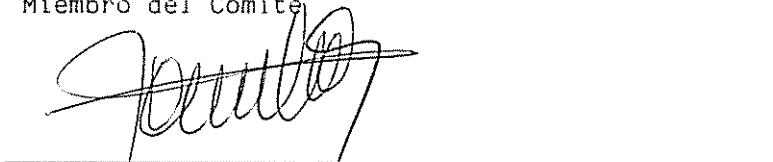


Philip Shannon, Mg. SC
Miembro del Comité



Joseph E. Saunders, Ph.D.
Miembro del Comité

Miembro del Comité



Ramón Lastra Rodríguez, Ph.D.
Coordinador, Programa de Estudios de Posgrado



Dr. José Luis Parisí
Subdirector General Adjunto de Enseñanza



Ligia Isabel Lacayo Parajón
Candidato

DEDICATORIA

A mi hija Claudia Sofía:

que cambió mi vida

...No se donde termina mi sangre
y empieza la tuya, muchacha amapola
brotada del fondo de mi cuerpo...

G. Belli.

A Julio: mi compañero y amigo
su apoyo incondicional fue
decisivo para finalizar con
éxito mi trabajo

A mis padres:

José Dolores y María del Tránsito
por su ejemplo de honestidad y
superación.

Al pueblo de Nicaragua

... que goza de la tierra prometida
en el mes más crudo de la siembra
sin mas alternativa que la lucha
muy cerca de la muerte
pero no del fin...

L. Rugama.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación se pudo concluir por que, además de los factores técnicos, siempre estuvo presente el factor humano a través de la solidaridad de diferentes personas que me brindaron su apoyo en situaciones que hicieron muy difícil mi trabajo y mi permanencia en el CATIE. A todas ellas mi especial agradecimiento.

Mi agradecimiento al Dr. Peter Rossett, asesor de mi tesis, por la confianza que tuvo en mi trabajo.

Al Dr. Joseph L. Saunders, su maravilloso sentido común fue una guía certera en mis decisiones.

Al Mg. Sc. Philip Shannon, cuyas recomendaciones y sugerencias contribuyeron a aclarar muchos conceptos.

Al Dr. Carsten Hellpap por las orientaciones y sugerencias en la definición de mi tema de tesis.

Al Dr. James Knauss, Dr. Robert Larson y a la Compañía W. R. Grace por la donación del producto Margosán-o.

Al Mg. Sc. Denis Salgado, por su valiosa orientación en mis análisis estadísticos.

Al Centro Nacional de Protección Vegetal del MIDINRA en Nicaragua, por ayudarme en los procesos de extracción y obtención de las semillas de neem.

Al Lic. José Francisco Baez, por el apoyo personal que facilitó mi viaje.

Al Ing. Miguel González y al técnico Jorge Carmona que laboran en el beneficio de Promecafé en el CATIE, Turrialba por su oportuna ayuda en el momento que necesité despulpar y moler las semillas de neem.

A los trabajadores de "La Montaña" por su disposición de colaborar conmigo en todo momento.

A la G.T.Z. (D.A.D.) mi fuente de beca.

... y así se nos recuerda a cada paso que en modo alguno dominamos a la naturaleza como un conquistador domina a un pueblo extranjero, como alguien situado fuera de la naturaleza, sino que le pertenecemos con nuestra carne, nuestra sangre y nuestro cerebro y estamos en medio de ella, y que toda nuestra dominación sobre ella consiste en la ventaja sobre los otros seres de poder llegar a conocer sus leyes y aplicarlas correctamente...

F. Engels (1876)

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiv
1. INTRODUCCION	1
1.1 Objetivos	3
1.2 Hipótesis	3
2. REVISION DE LITERATURA	5
2.1. Problema entomológica	5
2.1.1. Características de las especies en estudio	5
2.2. Sustancias de origen botánico	7
2.2.1. Sustancias repelentes y desestimulantes	8
2.3. El árbol de Neem	10
2.3.1. Ingredientes activos	14
2.3.2. Extractos	16
2.3.2.1. Extractos alcohólicos	16
2.3.2.2. Extractos acuosos	17
2.3.2.3. Producto comercial: Margosán-0	17
2.3.3. Modo de acción	18
2.3.3.1. Propiedades sistémicas	19
2.3.3.2. Propiedades repelentes y antialimentarias	20
2.3.3.3. Propiedades reguladoras del crecimiento y oviposición	24
2.3.4. Uso de Neem en Nicaragua	25

3.	MATERIALES Y METODOS	28
3.1.	Metodología de laboratorio	28
3.1.1.	Prueba de repelencia	28
3.1.2.	Descripción de los tratamientos	29
3.1.3.	Extracciones acuosas	29
3.1.4.	Extractos etanólicos	30
3.1.5.	Margosán-o	30
3.1.6.	Descripción del diseño experimental	31
3.1.7.	VARIABLES evaluadas	31
3.1.8.	Análisis estadístico	31
3.1.9.	Prueba antialimentaria	32
3.1.10.	Descripción de los tratamientos	33
3.1.11.	Diseño experimental	33
3.1.12.	VARIABLES evaluadas	34
3.1.13.	Análisis estadístico	34
3.2.	Metodología de Campo	34
3.2.1.	Localización del experimento	34
3.2.2.	Ciclos de cultivos	35
3.2.3.	Descripción de los tratamientos	35
3.2.4.	Descripción del diseño experimental	36
3.2.5.	Cultivo, variedad, distancia de siembra, población, requerimiento de agua	36
3.2.6.	Tamaño de la parcela	37
3.2.7.	Fertilización	37
3.2.8.	Control de malezas	37
3.2.9.	Control de insectos	38
3.2.10.	VARIABLES evaluadas	38
3.2.11.	Análisis estadístico	39

4.	RESULTADOS Y DISCUSION	40
4.1.	Prueba de repelencia para <i>Cerotoma ruficornis</i>	40
4.1.1.	Datos de una hora evaluados cada 5 minutos	40
4.1.2.	Datos a las 24 horas	44
4.2.	Prueba de repelencia para <i>Diabrotica balteata</i>	44
4.2.1.	Datos de una hora evaluados cada 5 minutos	44
4.2.2.	Datos a las 24 horas	49
4.3.	Observaciones generales	49
4.4.	Prueba antialimentaria	50
4.4.1.	<i>Diabrotica balteata</i>	50
4.4.2.	<i>Cerotoma ruficornis</i>	60
4.4.3.	Observaciones generales	64
4.5.	Pruebas de campo	64
4.5.1.	Primer ciclo	64
4.5.2.	Segundo ciclo	73
4.6.	Presencia de áfidos	84
4.7.	Presencia de virosis	85
4.8.	Especies de crisomélidos	87
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	88
6.	LITERATURA CITADA	90

EFFECTOS DE LOS EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS DE NEEM (*Azadirachta indica*
A.Jus). EN ADULTOS DE DOS ESPECIES DE CRISOMELIDOS

Lacayo, P.L.I. 1989. Efectos de los extracto de las semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Jus) en adultos de dos especies de crisomelidos. Tesis Mg. Sc., Turrialba, Costa Rica, CATIE 95 p.

Palabras claves: Neem, azadirachtin, crisomélidos, repelencia, antialimentación, caupí.

RESUMEN

Extractos de las semillas del árbol Neem (*Azadirachta indica* A. Jus, fueron estudiados con respecto a su efecto en dos especies de crisomélidos. Se utilizaron preparados acuosos (20 y 40 g/l), etanólicos (0,3 %) y el producto comercial Margosan-o (0,3 %), evaluando su efectividad como repelentes y antialimentarios en adultos de *Cerotoma ruficornis rogersi* Jac. y *Diabrotica balteata* Lec., en condiciones de campo y laboratorio.

Los resultados bajo condiciones de laboratorio mostraron un mejor comportamiento del extracto etanólico como repelente para ambas especies en estudio. Con los acuosos se encontró solo en algunos casos acción repelente. Con Margosán-o no se observó ningún efecto de este tipo. En las pruebas antialimentarias los adultos no consumieron las hojas tratadas con el extracto etanólico, lo que reafirmó superioridad de este producto en comparación a los otros. Con los extractos acuosos y Margosan-o se observó un efecto desestimulante de la alimentación, pero no difirieron significativamente entre ellos.

En condiciones de campo se realizaron dos ensayos. En el primero todos los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas con respecto al testigo. Dentro de ellos, los extractos acuosos fueron significativamente superiores a Margosan-o y Metamidofos, que se usó como tratamiento químico de referencia. En el segundo experimento se confirmó superioridad muy significativa de todos los tratamientos con respecto al testigo, no encontrándose diferencias entre ellos. El uso de adherente en los extractos acuosos no influyó positivamente en los resultados ni mostró diferencias entre los dos tratamientos.

De manera general, para las condiciones bajo las cuales se desarrollaron los experimentos, se encontró efecto de Neem sobre el comportamiento de los adultos de las dos especies de crisomélidos estudiadas, tanto a nivel de laboratorio como de campo.

SUMMARY

EFFECTS OF SEED EXTRACTS OF NEEM (*Azadirachta indica* A. Jus) ON ADULTS OF TWO SPECIES OF CHRYSOMELID BEETLES.

Lacayo, P.L.I. 1989. Effects of seed extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Jus) on adults of two species of Chrysomelid beetles. Tesis Mg. Sc., Turrialba, Costa Rica, CATIE. 95 p.

Key words: Neem, azadirachtin, chrysomelids, repellence, antifeeding agents, cowpea.

Seed extracts of neem tree, (*Azadirachta indica* A. Jus), were tested for their effect on two species of chrysomelid beetles. Three different preparations were used: aqueous (20-40 g/l), ethanolic (3%), and Margosan-o (0.3%) a commercial formulation. Their efficiency as repellent and antifeeding agents on adults of *Cerotoma ruficornis rogersi* Jac and *Diabrotica balteata* Lec. was tested under both field and laboratory conditions.

Laboratory trials showed that the ethanolic extract was the best repellent for both species under study. The aqueous preparations showed repellency only in a few instances. Margosan-o did not show any effect. The ethanolic extracts performed the best in the anti-feeding trials. Aqueous preparations and Margosan-o also reduced feeding activity, with no significant difference among them.

Two field trials were performed. In the first one, all treatments showed a highly significant difference compared to the control. Among them, aqueous extracts were significantly better than Margosan-o and metamidophos, which was used as a reference chemical treatment. In the second experiment, all treatments were equally superior to the control. The use of an adherent in the aqueous extracts did not improve their performance in either of the experiments.

As a general conclusion, it can be stated that, under the conditions in which the experiments were carried out, there was an effect of neem, both in the laboratory and the field, on the behavior of adults of the two species of chrysomelid beetles studied.

LISTA DE CUADROS

Cuadro No.	Título	Página
Cuadro 1.	Productos del árbol Neem	13
Cuadro 2.	Análisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos. Primera evaluación con <i>Cerotoma ruficornis</i>	45
Cuadro 3.	Comparación de medias del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos. Dos evaluaciones con <i>Cerotoma ruficornis</i>	45
Cuadro 4.	Análisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Segunda evaluación con <i>Cerotoma ruficornis</i>	46
Cuadro 5.	Indices de repelencias de los tratamientos. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos y a las 24 horas en dos pruebas diferentes con <i>Cerotoma ruficornis</i>	46
Cuadro 6.	Análisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el tratamiento. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos con <i>Diabrotica balteata</i>	47
Cuadro 7.	Comparación de medias del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratado. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos con <i>Diabrotica balteata</i>	47
Cuadro 8.	Indices de repelencia de los tratamientos. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos y a las 24 con <i>Diabrotica balteata</i>	49
Cuadro 9.	Análisis de varianza para el porcentaje de defoliación en las dos pruebas antialimentarias con <i>Diabrotica balteata</i>	52
Cuadro 10.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación en las pruebas antialimentarias con <i>Diabrotica balteata</i>	52

Cuadro No.	Título	Página
Cuadro 11.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación total entre el primer y segundo día por cada fecha con <i>Diabrotica balteata</i>	54
Cuadro 12.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación por cada tratamiento para las diferentes fechas con adultos de <i>Diabrotica balteata</i>	59
Cuadro 13.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación de los tratamientos testigos en las dos fechas evaluadas	59
Cuadro 14.	Análisis de varianza para el porcentaje de defoliación en la prueba antialimentaria con <i>Cerotoma ruficornis</i>	60
Cuadro 15.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación para la prueba antialimentaria con <i>Cerotoma ruficornis</i>	63
Cuadro 16.	Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación por tratamiento para cada día con <i>Cerotoma ruficornis</i>	63
Cuadro 17.	Análisis de covarianza de la variable daño. Primer ciclo de campo	65
Cuadro 18.	Prueba de Duncan. Medias de la variable daño, para los distintos tratamientos. Primer ciclo de campo	66
Cuadro 19.	Prueba de Duncan. Medias de la variable daño para las fechas posteriores a la aplicación. Primer ciclo de campo	68
Cuadro 20.	Análisis de varianza para el incremento de daño. Primer ciclo de campo	69
Cuadro 21.	Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño por cada tratamiento, en las fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo	69
Cuadro 22.	Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño para las fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo	73

Cuadro No.	Título	Página
Cuadro 23.	Análisis de covarianza de la variable daño. Segundo ciclo de campo	76
Cuadro 24.	Prueba de Duncan. Medias de la variable daño, para los distintos tratamientos. Segundo Ciclo de campo	76
Cuadro 25.	Prueba de Duncan. Medias de la variable daño para cada fecha posterior a la aplicación. Segundo ciclo de campo	80
Cuadro 26.	Análisis de varianza para el incremento de daño. Segundo ciclo de campo	81
Cuadro 27.	Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño para las tres fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo	81
Cuadro 28.	Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño por cada tratamiento, en las fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo	84

LISTA DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
Figura 1.	Porcentaje de veces que <i>C. ruficornis</i> estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos. Prueba N°1.	41
Figura 2.	Porcentaje de veces que <i>C. ruficornis</i> estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos. Prueba N°2.	43
Figura 3.	Porcentaje de veces que <i>D. balteata</i> estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos.	48
Figura 4.	Porcentaje de defoliación por tratamiento. Prueba conjunta antialimentaria con <i>D. balteata</i> .	53
Figura 5.	Total de defoliación para el primero y segundo día en la primera fecha con <i>D. balteata</i> .	55
Figura 6.	Total de defoliación para el primero y segundo día en la segunda fecha con <i>D. balteata</i> .	56
Figura 7.	Porcentaje de defoliación por tratamiento en la primera prueba con <i>D. balteata</i> .	57
Figura 8.	Porcentaje de defoliación por tratamiento en la segunda prueba con <i>D. balteata</i> .	58
Figura 9.	Porcentaje de defoliación por tratamiento con <i>C. ruficornis</i> .	61
Figura 10.	Total de defoliación por cada día con <i>C. ruficornis</i> .	62
Figura 11.	Total de daño por tratamiento en fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo.	67
Figura 12.	Fluctuación del daño relacionado con los diferentes tratamientos. Primer ciclo de campo.	70

Figura No.	Título	Página
Figura 13.	Incremento de daño por tratamiento. Primer ciclo de campo.	71
Figura 14.	Incremento de daño para las fechas posteriores a la aplicación. Primer ciclo de campo.	72
Figura 15.	Total de daño por tratamiento en las fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo.	74
Figura 16.	Fluctuación del daño relacionado con los diferentes tratamientos. Segundo ciclo de campo.	77
Figura 17.	Incremento de daño por tratamiento. Segundo ciclo de campo.	78
Figura 18.	Incremento de daño para las fechas posteriores a la aplicación. Segundo ciclo de campo.	82
Figura 19.	Promedios mensuales de precipitación en el CATIE, Turrialba, Costa Rica, 1989.	83

INTRODUCCION

El uso inadecuado de los plaguicidas ha originado graves problemas ecológicos, sociales y económicos en nuestro medio agrícola Centroamericano. Esto ha motivado la búsqueda de alternativas de un manejo más racional e integrado de las plagas, que permita dar respuestas a los problemas fitosanitarios y a la vez generar tecnología propia que nos conduzca a una menor dependencia de las compañías químicas transnacionales y facilitar así el camino al desarrollo en nuestros países.

Dentro de estos métodos alternativos el uso de los productos botánicos del árbol neem es una opción bastante viable en nuestro medio, sobre todo por que son efectivos en el control de las plagas, son biodegradables y tienen bajo riesgo para los humanos y el ambiente. Se conoce que las semillas tienen componentes como azadirachtin y salannin que tienen propiedades repelentes, antialimentarias y reguladoras del crecimiento en varios órdenes de insectos (Olkowski, 1987; Shmutterer y Hellpap, s.f.)

Un producto que pueda actuar como inhibidor de la alimentación o como repelente, podría utilizarse, solo o en combinación con otros productos y métodos, para el control de insectos defoliadores en frijol, tales como los crisomélidos.

Los crisomélidos son un grupo de insectos que inciden en la producción de los cultivos de frijol y maíz, fuentes básicas de

proteínas de nuestros pueblos. Estos cultivos se ven afectados por estas especies que además de causar serios daños por defoliación, son importantes transmisores de virosis. -

Actualmente en Nicaragua se trabaja con un proyecto que contempla la siembra de árboles de neem para obtener la materia prima y elaborar los extractos que se utilizarán en el control de plagas en hortalizas, frijol y maíz. Se estima que en este proceso de agroindustrialización del neem, el país puede ahorrar unos seis millones de dólares por año. (Nicaragua, 1987, 1989).

Este proyecto es muy importante en Nicaragua, porque aunque tradicionalmente la estructura agropecuaria Nicaraguense estuvo orientada por mucho tiempo a los cultivos de exportación, especialmente café y algodón, a partir de 1979 con la Revolución Sandinista se inicia un cambio radical en la política de producción. La política estatal dió igual prioridad a la siembra de granos básicos y cultivos de consumo interno. Así mismo se realizó la Reforma Agraria que permitió el acceso a la tierra para el campesino y por ende al inicio del mejoramiento de su nivel de vida. Como consecuencia, cada vez mayor cantidad de tierra se destina a estos cultivos, al mismo tiempo que se van reduciendo las áreas sembradas con algodón. Esto ha permitido una mayor tecnificación pero al mismo tiempo ha facilitado la adquisición y uso de agroquímicos para una gran cantidad de nuevos productores y cooperativas.

En vista de ello, conocidas las graves consecuencias que nos ha dejado el algodón y ante la dificultad de adquirir plaguicidas por la grave crisis económica que vivimos, hemos planteado la necesidad de

orientar nuestro trabajo hacia nuevas alternativas en el manejo de estas plagas.

Con el propósito de verificar la efectividad de estos productos para el control de plagas en frijol y leguminosas, se planteó el siguiente trabajos cuyos objetivos fueron los siguientes:

1.1 Objetivos

1.1.1 Evaluar en condiciones de laboratorio la efectividad de los extractos acuosos, etanólicos y del producto comercial Margosan-o a base de neem, como repelentes y/o antialimentarios en adultos de las especies de crisomélidos: *Cerotoma ruficornis rogersi* Jac. y *Diabrotica balteata* Lec.

1.1.2 Evaluar en condiciones de campo, la efectividad de los extractos acuosos y el producto comercial Margosán-o a base de neem, para reducir el daño foliar de adultos de las especies de crisomélidos: *Cerotoma ruficornis rogersi* Jac. y *Diabrotica balteata* Lec.

1.2 Hipótesis

Para cumplir con estos objetivos se plantearon las siguientes hipótesis:

2.2.1 Los extractos acuosos, etanólicos y el producto comercial Margosán-o a base de neem, tienen algún efecto repelente y antialimentario contra los adultos de las especies de crisomélidos *C. ruficornis rogersi* y *D. balteata*.

2.2.2 Los extractos acuosos y el producto comercial Margosán-o a base de neem reducen, en condiciones de campo, el daño foliar de las especies de crisomélidos *C. ruficornis rogersi* y *D. balteata*.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Problema entomológico

Aproximadamente, una tercera parte de los cultivos alimenticios se pierden en el mundo a causa del daño provocado por los insectos en las distintas etapas de crecimiento, cosecha o almacenaje (Jacobson, 1982). El daño por insectos puede ser directo, alimentándose de cualquier parte de la planta, o indirecto como el caso de los vectores en la transmisión de enfermedades.

Uno de los grupos de insectos que inciden en la producción de granos básicos, como frijol y maíz, son los crisomélidos. Especies de esta familia, además de causar serios daños por defoliación, son importantes transmisores de virosis (Gamez y Moreno, 1983).

2.1.1. Características de las especies en estudio

Cerotoma ruficornis rogersi Jac y *Diabrotica balteata* Lec, conocidas como tortuguillas, vaquitas, conchitas, entre otros, tienen una distribución muy amplia en el Continente Americano. Estos insectos pertenecen al orden Coleoptera y sub-orden Polyphaga (Fuentes, et al, 1970).

Los adultos de estas especies tienen ciclos de vida muy similares. Los adultos de *Cerotoma* de 5-6 mm de largo, ovipositan sus huevos dentro del suelo cerca de las raíces de sus huéspedes, estos tienen una coloración amarilla, de forma de elipse y duran de 5-8 días para

eclosionar. La larva con 7-10 mm dura de 21-30 días. La pupa es blanca, y se encuentra cerca de la superficie de la tierra y dura de 5-8 días (King y Saunders, 1984; King, 1980).

Los Adultos de *Diabrotica*, miden de 4-6 mm son amarillos con bandas transversales verdes, cabeza roja y protórax y abdomen amarillo. El huevo es ovoide y dura de 5-7 días, e igual que *Cerotoma*, lo ovipositan en el suelo. El estado larval dura de 14-26 días y las pupas de color blanco, aproximadamente 7 días (King y Saunders, 1984; King, 1980). Las larvas de ambas especies se alimentan de las raíces debilitando las plantas. Los adultos, pueden causar serios daños en las plántulas, hojas y vainas.

En frijol común dos o más adultos por planta durante las primeras tres semanas de desarrollo, o más de 4 por planta en el período de floración y llenado de vainas, se recomiendan como niveles de decisión para aplicar insecticida (King y Saunders, 1984). El daño de *Diabrotica* se caracteriza por perforaciones grandes e irregulares o daño en el borde de las hojas, en cambio las perforaciones hechas por *Cerotoma* son redondas, pequeñas y regulares y el daño se presenta más temprano y en forma más severa. Los principales huéspedes de *Cerotoma* son frijol, caupí y la mayoría de leguminosas. Su importancia como plaga radica en el daño a plántulas y la transmisión del virus. Por el contrario *Diabrotica* es más generalista, ataca maíz, sorgo, arroz, frijol, solanáceas y gramíneas. Su daño es principalmente en plántulas y raíces del maíz y la transmisión de virus (King y Saunders, 1984). En estado adulto son muy activos y se pueden mover rápidamente de una planta a otra, lo que les permite ser vectores muy importantes en la transmisión

de virosis (Thresh, 1974). También por su abundancia son muy importantes en el estado de plántula en todos los cultivos que atacan.

Varias especies de crisomélidos han sido reconocidas como vectores en Centro América (Gamez Y Moreno, 1983). Gamez (1972, 1976. Gamez y Moreno (1983), mencionan a las especies *Diabrotica balteata* y *Cerotoma ruficornis rogersi* como vectores del virus mosaico rugoso del frijol (VMRF), del mosaico severo del caupi, del virus moteado amarillo del frijol (VMA) y del mosaico del frijol de costa, en el área de Centro América, siendo la primera vez que se reporta a estos crisomélidos como vectores de bromovirus (Gamez, 1972). El virus mosaico del frijol de costa (VMFC), es una enfermedad muy importante en el cultivo del caupi en Centro América y su transmisión es principalmente por vectores de mucha importancia, como *C. r. rogersi* y *D. balteata*, especialmente la primera especie que se ha demostrado es mas eficiente como vector que *Diabrotica* (Valverde, 1978; González, 1976; Gamez, 1972). El principal daño que causan estos virus, se presenta en las primeras etapas de desarrollo de la planta encontrándose una relación entre el porcentaje de plantas infectadas y poblaciones de crisomélidos.

2.2 Sustancias de origen botánico que actúan contra insectos

Muchos de los insectos fitófagos tienen un rango de hospederos limitado, debido a que las plantas en su evolución, han desarrollado una serie de sustancias tóxicas o repelentes que las hacen no aceptable a los insectos y que les sirven para defenderse del ataque de éstos (Gill y Lewis, 1971; Horn, 1988).

El uso de sustancias de origen botánico representa una opción muy prometedora, pero actualmente poco utilizada, para el manejo de las plagas reduciendo o controlando el ataque de insectos en diferentes cultivos (Olkowski y Olkowski, 1988). La riqueza natural de la flora en los trópicos guarda un potencial de plantas benéficas, cuyo desarrollo y explotación está aún incipiente. Se reportan aproximadamente 2000 plantas con propiedades para control de plagas (Ahmed et al, 1984, mencionado por Olkowski, 1987).

Plantas de la familia Meliaceae están siendo investigadas por su uso potencial en la protección de cultivos. De esta familia *Melia azedarach*, crece mundialmente en los trópicos, y extractos de sus hojas son efectivos como antialimentarios y retardadores del crecimiento de *Heliothis zea* y *H. virescens* (Olkowski y Olkowski, 1988).

La acción de los componentes de las plantas, pueden ser como: repelentes, atrayentes, tóxicos, inhibidores del crecimiento, esterilizantes y antialimentarios (Jacobson, 1982).

2.2.1. Sustancias repelentes y desestimulantes

Un químico se considera repelente cuando orienta los movimientos del insecto lejos de la fuente de olor, Dethier et al, (1960); Busvine, (1971); Nas, (1982); Kogan, (1986). Este estímulo puede actuar a corta o larga distancia. Sin embargo son pocas las plantas que poseen químicos muy volátiles que puedan producir este tipo de reacción a grandes distancias (Busvine, 1971). Dethier (1947) define repelencia como un estímulo que provoca una reacción de "eludir" al químico y distingue dos tipos de repelencia: una por vapor y otra por contacto. Dethier et al

(1960) distinguen dos clases de repelencia: una inmediata por el cual el insecto elude el químico directamente y otra por efecto de irritación, causando incremento en la actividad del insecto. Beck (1965) considera que un estímulo de orientación a larga distancia si es positivo, se clasifica como atrayente y si es negativo es repelente. Si este mismo estímulo de orientación es de contacto puede tener una respuesta de aprehensión o de repelencia. Kennedy (1947) manifiesta que el término repelencia se debe usar para observar efectos en la distribución de los insectos y no para describir sus reacciones. El argumenta que este proceso involucra reacciones del insecto, pero en sí no es una reacción. Este autor considera que para fines prácticos, una superficie es repelente si los insectos están menos tiempo sobre ella y si su número es menor comparada con otra.

El modo de acción de los repelentes es difícil de entender debido a que entran en juego tres factores: el insecto, el sitio donde ocurre la acción y el repelente, además que las condiciones ambientales pueden modificar cada uno de estos factores, separados o combinados. Los términos atrayentes y repelentes se han empleado comúnmente para describir aquellos químicos que afectan el comportamiento de los insectos en diferentes líneas, ya sea previniendo o estimulando la alimentación, oviposición y otros procesos en el insecto (Dethier et al, 1960). Un mismo químico puede actuar unas veces como atrayente y otras veces como repelente (Dethier et al, 1960) por lo que hace más difícil la clasificación de los fenómenos que provoca un químico en los insectos.

Es obvio entonces la confusión existente en la definición de éstos términos y el efecto que causan. Dentro de los esfuerzos de unificar las

terminologías para garantizar el progreso de futuras investigaciones, se ha tratado de clasificar los químicos en base al tipo de comportamiento que ellos afectan en el insecto en un momento determinado (Dethier et al, 1960). Se conoce que además de la locomoción, también se ven afectados los procesos de alimentación, oviposición y copulación. Efectos en el movimiento pueden producir respuestas negativas conocidas como repelencia. Los químicos también pueden tener efectos desestimulantes o inhibidores en los procesos de copulación, oviposición y alimentación (Dethier et al, 1960). La mayoría de los químicos que previenen la alimentación en las plantas, actúan principalmente, como supresantes y desestimulantes o disuasivos. El término desestimulante o disuasivo se utiliza para clasificar un químico que inhibe o previene alimentación, apareamiento y oviposición (Dethier et al, 1960; Kogan, 1986).

2.3. El árbol de NEEM

El árbol neem (*Azadirachta indica* A. Jus) es una especie de la familia Meliaceae conocida por sus propiedades antiinsectiles, originario de la India, Birmania, Tailandia, Cambodia e Indonesia e introducido especialmente en Africa y Asia y actualmente en América. Tradicionalmente se ha utilizado por sus propiedades medicinales y como controlador de plagas. Diferentes estudios lo ubican como un árbol con propiedades insecticidas, repelentes, antialimentarios, regulador del crecimiento e inhibidor de la reproducción en varios órdenes de insectos (Olkowski, 1987; Schmutterer y Hellpap, s.f).

El árbol neem, es conocido también como Margosan, *Melia azadirachta* y *M. indica*. Ha sido cultivado ampliamente en Sudán, Sierra Leona, Malawi, Zimbábwe, Tanzania, Nigeria, Togo, Chara, Austria, Mauritinus, varios países de Centro y Sur América y del Caribe, Puerto Rico, Islas Vírgenes y algunas áreas de Estados Unidos (Olkowski, 1987). Actualmente los principales países donde se trabaja más directamente con neem son: India, Israel, Alemania Federal, Filipinas, Togo, Este de Africa y Estados Unidos (Olkowski, 1987). Actualmente en Nicaragua existe un proyecto de investigación, sobre su uso en el control de plagas agrícolas. (Nicaragua, 1987).

Neem es considerado como un árbol de mucho valor en las zonas áridas tropicales y subtropicales, por la diversidad de productos que se obtienen de la mayoría de las partes del árbol y que pueden emplearse comercialmente. El árbol es altamente promisorio por sus características: crece en zonas semiáridas, puede usarse como rompevientos, como forraje de animales domésticos, para fertilizantes y productos farmacéuticos. Además de sus propiedades, el neem tiene baja toxicidad a mamíferos e insectos benéficos (Sofama, s.f.; Agroquimicos, 1987).

Aunque existe poca información sobre los efectos directos o indirectos que puedan tener los extractos de neem sobre la fauna benéfica, algunos estudios muestran información al respecto. Hellpap (1985) en pruebas de laboratorio y campo no encontró efectos negativos sobre *Dorus taeniatum* y *Ectatomma ruidum* depredadores de *Spodoptera frugiperda* y los parásitos de esta especie, *Chelonus insularis*, *Pristomerus spinator* y *Achaetoneura* sp, usando dosis de 0.05 % de un

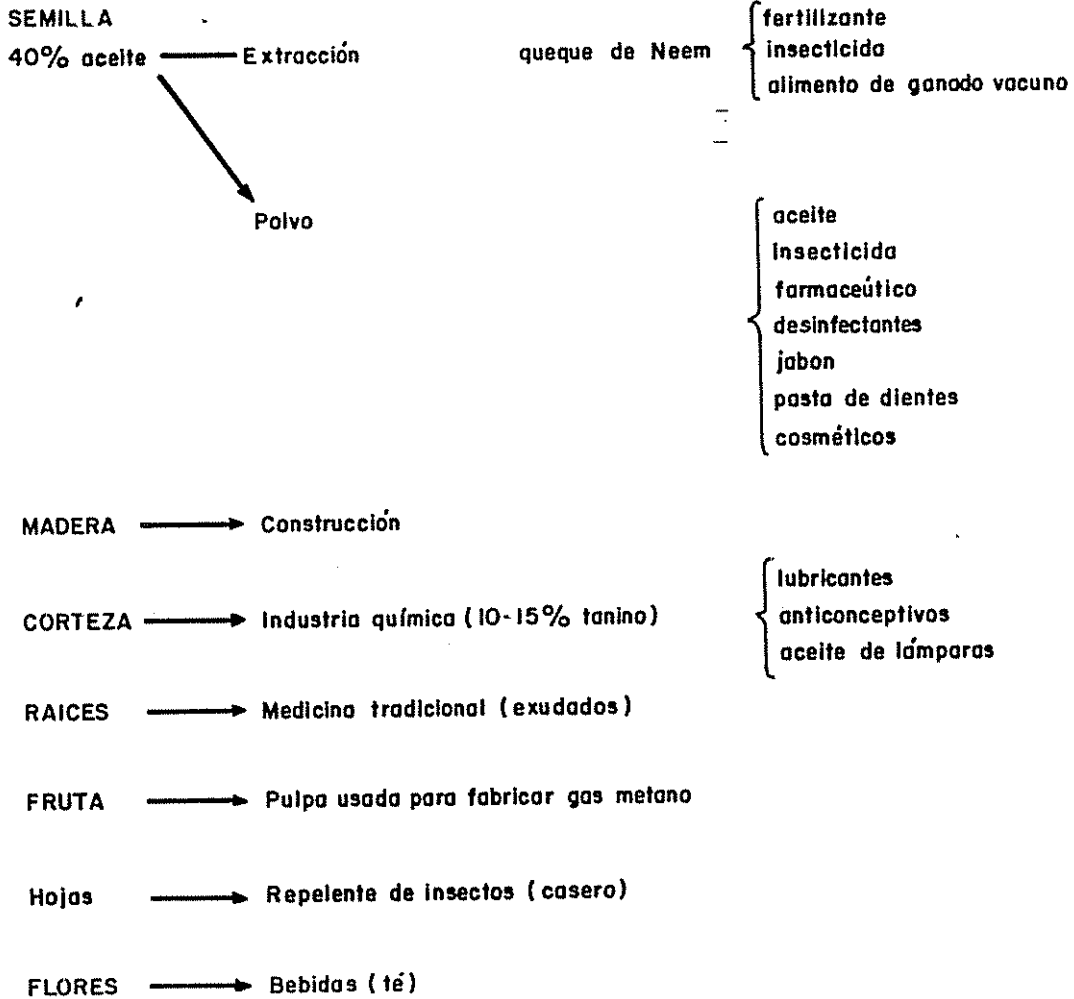
extracto metanólico. Joshi et al (1982) estudiaron el efecto de neem sobre el parásito ovíparo de *Spodoptera* sp, *Telenomus remus* sin encontrar que afectara el desarrollo de los parásitos. Sin embargo Schmutterer (1981) encontró que el depredador *Coccinella septempunctata* L, tuvo un alto porcentaje de mortalidad cuando entró en contacto con láminas de vidrio previamente tratadas con neem.

El árbol de neem se adapta a condiciones de sequía y suelos muy malos. Aunque el óptimo de lluvias está en el rango de 450-1200 mm puede sobrevivir con solo 130 mm (Sofama, s.f.). Estas condiciones son favorables para plantaciones en suelos áridos y poco fértiles. Estudios en Nicaragua han encontrado que una precipitación entre 900 y 1200 mm al año, y suelos profundos franco-arenosos son necesarios para una óptima floración y fructificación (Nicaragua, 1989). El neem también puede aumentar el pH del suelo y suministrarle nutrientes y mejorar de esa forma los suelos erosionados. La agroforestación con esta especie, además de contribuir a mejorar el suelo, permite mejorar las zonas ecológicas deforestadas (Agroquímicos, 1987; Schmutterer y Hellpap, s.f; Grant et al, 1983).

Un resumen de las propiedades de algunas de sus partes son presentadas por Olkowski (1987), cuadro 1:

Las hojas: contienen un alto porcentaje de proteínas (15%) y se utiliza como alimento de animales domésticos, como las cabras. También se utilizan como fertilizantes y repelentes a insectos.

Cuadro I Productos del árbol Neem



Fuente: Olkowski, 1987

Queque de neem: son residuos de la extracción de aceite, con propiedades sistémicas y fertilizantes. También se puede utilizar para alimento de ganado.

En India, una mezcla de 140 kg de torta de neem más 300 kg de Urea, aumentó el rendimiento de caña de azúcar hasta 2.2 t/ha; esto comparado con 400 kg de urea. (Agroquímicos, 1987).

Madera: resistente al ataque de termitas, bueno para construcciones pero susceptible al fuego, por ser muy inflamable. La madera también se aprovecha como leña.

Semillas: el aceite que se extrae se utiliza como insecticida. También se emplea en la elaboración de jabón y pasta dental.

2.3.1. Ingredientes activos

Existen varios ingredientes activos que han sido aislados de las diferentes partes del árbol de neem. Algunos de ellos se utilizan directamente para efectos medicinales y otros en la protección de las plantas y el ganado

Sofama (s.f.) menciona algunos de los autores que han aislado los principales ingredientes de neem durante el transcurso de los últimos cuarenta años: Siddiqui (1942) aisló los primeros ingredientes activos que tienen utilización en medicina y farmacia tales como: nimbin, nimbidin y nimbinin. En 1964, Henderson, aisló el salannin con propiedades antialimentarias y desestimulantes, similares a meliantrol, descubierto por Lavie et al (1967).

Uno de los ingredientes más importantes fue aislado de las semillas por Butlerworth y Morgan (1968), este producto es azadirachtin, un triterpenoide, igual que salannin y meliantrol. Yell y Lewis (1971) y Ruscoe (1972) nombrados por Sofama (s.f.) encontraron que azadirachtin tiene efectos paralizantes y reguladores del crecimiento de los insectos. Sankaron et al (1986) citado por Olkowski (1987), reporta el aislamiento del antialimentario e inhibidor del crecimiento: vepaol. También nombra el isovepaol y nimibin. Sharma et al (1984), describe a vepaol como un antialimentario, diferente a azadirachtin, salannin, y meliantrol.

En la Tercera Conferencia sobre neem, se presentaron trabajos que mencionan el aislamiento del ingrediente deacetylazadeachtinol de frutos frescos de neem, con propiedades similares a azadirachtin (Olkowski, 1987). El triterpenoide azadirachtin, aislado de hojas y frutos de neem, es el principal compuesto de los extractos. Se ha determinado que unas 35 especies de insectos económicamente importantes en Estados Unidos pueden ser afectados por esta sustancia en concentraciones muy bajas de 0,1 ppm (Jacobson, 1982). Otros ingredientes son meliantriol y salannin y todos son antialimentarios y también afectan el crecimiento de los insectos (Reed, et al, 1982).

Otros estudios mencionan un total de 123 especies de insectos, 5 nemátodos y 3 ácaros como susceptibles a neem (Olkowski, 1987). Del neem se pueden derivar varios productos con acción contra insectos siendo los principales: extractos acuosos de semillas y hojas, extractos alcohólicos (etanol y metanol) de semillas y hojas; aceite de la semilla y fertilizantes (Schmutterer y Hellpap, s.f.).

En la actualidad en Estados Unidos existe el primer insecticida comercial a base de extractos de aceite, llamado Margosan -o, con muy baja toxicidad a mamíferos (Olkowski, 1987).

2.3.2. Extractos

2.3.2.1. Extractos alcohólicos

Las mejores concentraciones de azadirachtin se logran utilizando metanol como solvente en el proceso de extracción. El volumen obtenido en cada extracción varía con el origen de la semilla utilizada. Sin embargo estos procesos, aunque exactos, son muy caros y difíciles de realizar en nuestros medios y además toman mucho tiempo.

El uso de etanol también rinde buenos resultados y es un poco más barato. Las concentraciones de azadirachtin que se obtienen con extracciones etanólicas varían dependiendo del origen de la semilla. De 100 gramos de semillas se pueden obtener como promedio de 0,2 a 3,5 gramos. Sin embargo se ha logrado hasta 6,2 g/semilla originaria de Togo (Olkowski, 1987). Un árbol puede producir aproximadamente de 30-50 kg de fruto/año y 30 kg producen cerca de 6 kg de aceite (Olkowski, 1987). Información similar se ha encontrado en trabajos hechos en Nicaragua (Nicaragua, 1989).

El proceso de extracción con metanol generalmente sigue el siguiente procedimiento: "las semillas se muelen y mezclan con metanol en una relación de 1: 1.5 (neem-metanol). Se bate la suspensión por dos horas y se deja reposar por una hora. La suspensión se decanta y filtra. Todo el proceso se repite tres veces. Luego el solvente se destila al vacío en un rotavapor y se determina el peso del extracto crudo. Al

final se añade metanol hasta obtener una solución básica de 10%" (Hellpap, 1985).

El proceso de producción de AZt reportado por Hellpap (1985) para producir el extracto de azadirachtin, utiliza un equipo de Soxhlet. " Durante la primera fase se extrae de las semillas aceites y grasas usando gasolina de petrol. En la segunda extracción se sustituye la gasolina por una mezcla azeotrópica de metanol y metil-ter-butileter. Al evaporarse el solvente se añade metanol. La solución se refrigera, las grasas se aglutinan y se puede decantar y luego filtrar. Luego se evapora de nuevo el solvente y se determina la cantidad de neem. Se añade el metanol y se prepara una solución básica de 25% de sustancia activa y 10% de emulgador".

2.3.2.2. Extractos acuosos

Otros métodos más sencillos y fáciles de ejecutar por los agricultores han sido poco estudiados, tales como los extractos de agua, los que se pueden hacer despulpando la semilla, moliéndola y dejándola en remojo durante 5-6 horas en una proporción de 25-50 gramo de semilla de neem / litro de agua. Luego de remover y filtrar esta listo para aplicar (Olkowski, 1987), Schmutterer y Hellpap, s.f.). Estos extractos necesitan, sin embargo, mayor cantidad de semilla para obtener los mismos resultados que otros extractos.

2.3.2.3. Producto comercial: Margosan-o

Margosan-o es el primer producto comercial a base de neem, registrado en EE.UU. y aceptado por la E.P.A. Margosan-o contiene 3000

ppm (0,3%) de azadirachtin y se ha demostrado que tiene un excelente control sobre las especies *Liriomyza trifolii* y *Lymntria dispar* L. plagas de ornamentales. Además posee baja toxicidad a mamíferos y se considera que puede ser más estable que la forma de los otros extractos de neem. El actúa alterando el equilibrio hormonal evitando que se desarrolle y reproduzca normalmente el insecto. También puede actuar como antialimentario. (Olkowski y Olkowski, 1988). La formulación fue desarrollada por Vikwood Ltd. y se patentizó en diciembre 1985. Luego fue vendida a W.R. Grace & Co en 1988 (1).

Investigaciones sobre su uso se han hecho por USDA-Beltsville, MD y grupos privados. Puede ser aplicado localmente a plantas e insectos, incorporado a dietas para cría de insectos, sistémicamente a planta y árboles, a través de aplicaciones directas a las raíces (mojándolas). Los productores garantizan su efectividad con aquellas plagas susceptibles a productos a base de neem, considerando siempre situaciones variables como clima, condiciones de suelo, etc. que pueden influir en los resultados (2).

2.3.3. Modo de acción

El modo de acción del neem es difícil de definir por el número de ingredientes activos, la forma como actúa cada uno de ellos y otras variables. Los mecanismos bioquímicos de un extracto determinado pueden actuar de diferentes maneras, dependiendo de las condiciones, concentraciones y la especie de insecto.

(1) Rosset, P. 1988 Comunicación personal, CATIE, San José, C.R.

(2) Recomendación comercial.

Los principales efectos biológicos de neem, contra insectos son de repelencia, inhibidor del crecimiento y desarrollo normal, inhibidor alimentario y supresión de ovisposición (Sharma, et al, 1984). Se considera que azadirachtin es el mayor antialimentario y regulador del crecimiento (Jacobson, 1982; Reed et al, 1982).

2.3.3.1. Propiedades sistémicas

Diferentes pruebas en laboratorio han demostrado la actividad sistémica de azadirachtin cuando las raíces de plantas se sumergen en concentraciones de 0,5%, extendiendo el período de protección y reduciendo la transmisión de enfermedades (Schmutterer y Hellpad, s.f.). Reed, et al (1982), encontraron que las raíces de frijol sumergidas en una suspensión de azadirachtin, permitieron una actividad sistémica contra dos especies de crisomélidos: *Diabrotica undecimpunctata* y *Acalymma vittatum* (F).

Información similar fue encontrada por Gill y Lewis (1971), contra adultos de *Schistocerca gregaria* Forsk, tratando previamente las semillas por 24 horas con una solución de 0,01 % de azadirachtin, extractos de alcohol a 0,1% y extractos acuosos de 1%, protegieron las plántulas de frijol por una semana después de germinados. Sin embargo, contenidos altos de materia orgánica y la alcalinidad del suelo, redujeron la actividad antialimentaria y sistémica de azadirachtin.

Nemátodos del género *Pratylenchus*, también fueron repelidos por tratamientos a los semilleros (Gill y Lewis, 1971). Schmutterer y Hellpap (s.f.) reportan varios trabajos del efecto de neem en el control de nemátodos. El uso de neem y hojas incorporados al suelo redujo el

ataque del nemátodo *Meloidogyne* en tomate y okra en la India. Extractos acuosos del queque de la semilla inhibe la penetración de nematodos en varios cultivos. Estudios en el sur de Asia, confirman que el queque de neem contiene sustancias como nimbidin y thionemone que son altamente efectivos contra varias especies de nemátodos. Sin embargo se necesitan grandes cantidades de materia para obtener buenos resultados (Smutterer y Hellpap, s.f.)

2.3.3.2. Propiedades repelentes y antialimentarias

El manejo de los insectos transmisores de virus es complejo, especialmente por el mecanismo involucrado en la retención y transmisión del virus. Así una población muy baja de insectos si contienen el inóculo, puede transmitirlo rápidamente por sus características de alimentación y alta movilidad, provocando serios daños al cultivo. Evitar el contacto planta-insecto es una táctica que puede ayudar a reducir la incidencia del virus.

Existen datos sobre el efecto repelente y antialimentario que ejerce neem en algunas especies de crisomélidos, reduciendo la presencia de virosis (Reed et al, 1982; Dreyer, 1984; Reed y Reed, 1985). Concentraciones de 0,4, 0,8 y 1,2% de extractos de semillas de neem aplicados al follaje inhibieron la alimentación de adultos y larvas del crisomélido colorado de la papa *Leptinotarsa decemlineata*. Aunque la mortalidad de adultos no excedió el 25 %, el porcentaje de mortalidad en los estadios larvales fue de 73 % a la dosis de 1,2 %. (Zehnder y Warthen, 1988; Reed et al, 1982), mencionan los compuestos azadirachtin y salannis como antialimentarios y repelentes contra crisomélidos que atacan el pepino. Sin embargo estos resultados a nivel de semilleros no

fueron suficientes para evitar la diseminación de bacterias a nivel de campo.

Saxena et al, 1981 indica que aplicaciones acuosas de semillas frescas de neem, presentan una actividad contra el vector *Nilaparvata lugens* en arroz. Aplicaciones de emulsiones de aceite neem aplicados a U.V.V. en arroz al 1,2% a los 20, 40, 60, 80 y 100 días después del trasplante bajó la incidencia del virus transmitido por este vector.

Extractos de neem con hexano, eter y etanol, se usaron contra adultos de *Popillia japonica* Newman en cinco concentraciones, usando tween 20 como surfactante. En todas las pruebas neem mostró repelencia y efecto antialimentario contra esa especie. El follaje de *Glycine max* (L.) y *Sassagras albidum* (Nutt), fue muy poco dañado por *P. japonica* cuando fue tratado con estos extractos (Ladd, et al, 1978). Emulsiones acuosas de extractos etanólicos al 1 % aplicados en campos de frijol dieron excelentes resultados protegiendo las plantas por varios días contra esta misma especie. En laboratorio las plantas tratadas también fueron relativamente poco dañadas (Ladd,1980).

Experimentos en laboratorio reportan que extractos de alcohol o de agua al 2% permiten un buen control de plagas en frijol y soya en Norte y Centro América (Schmutterer y Hellpap, s.f.).

Investigaciones con Margosan-o muestran que en concentraciones de 1000 ppm actuó como el más repelente, seguido de aceite de neem, contra el escarabajo rojo de la flor en arroz (Coleoptera: Tenebrionidae) (Jilani et al, 1988).

Joshi y Sitaramaiah, (1979) encontraron que aplicaciones programadas de suspensiones acuosas al 1%, a los tres meses de edad y luego tres aplicaciones de 2% con intervalos de 10 días, protegieron semilleros de tabaco antes del trasplante contra el ataque de *Spodoptera litura* (F). Solamente el 4,6 % de semillas fueron dañadas.

También el polvo de la semilla aplicado en granos almacenados protege contra insectos de almacenaje. Una mezcla de uno a tres gramos de neem en 20 gramos de semilla de *Vigna unguiculata* protegió del daño del bruchido *Callosobrochus maculatus* por mas de cuatro meses, aunque no afectó sobrevivencia del adulto. Un total de 82 % de la semilla mantuvo su viabilidad (Iubijaro, 1984). Aplicaciones de aceite de neem en arroz almacenado lo protege hasta 10 meses del ataque de insectos de granos almacenados. (Agroquímicos, 1987). El aceite en dosis de 65 ml por quintal, es suficiente para control de plagas en el almacenaje de frijol y maíz (Nicaragua, 1989). El polvo de semilla de neem proporciona un buen control contra *Sitophilus oryzae* (Linn.) (Rout, 1986).

Estudios de campo y laboratorio demuestran que concentraciones acuosas al 3% actuaron como buenos antialimentarios en los cinco estadios larvales de *Spodoptera litura* F, aunque a medida que aumentó el estadio larval el efecto fue decreciendo. (Joshi y Ramaprasad, 1975).

Butterworth y Morgan (1971), mencionan que en general la actividad del neem se puede describir mejor como inhibidor o antialimentario o supresor más que como repelente, por los resultados obtenidos en laboratorio con *Locusta migratoria*. Concentraciones de 40mg/l de extractos de agua y etanol aplicados a papel filtro fueron suficientes para inhibir la actividad antialimentaria de la langosta.

El efecto de neem contra *Diabrotica undecimpunctata Howardi* y *Acalymma vittatum* (F) muestran que los extractos usados ofrecen alguna protección en los vegetales investigados, pero no la suficiente (Reed y Reed, 1985). Ellos consideran que las dosis usadas fueron muy bajas y el tiempo entre una y otra aplicación fue muy largo, lo que no permitió una buena protección. Intervalos menores de dos a tres días entre aplicaciones, pudieran ser necesarios para un mejor efecto.

Dreyer (1984), utilizó extractos acuosos y de aceites contra *Henocepilachna elaterii* (= *Epilachna chrysomelina*) en pepino. Aunque no hubo diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en los lotes tratados con 20 l de aceite las poblaciones de adultos fueron menores que en los otros tratamientos. Los extractos de agua y el aceite redujeron drásticamente las poblaciones de *Bemisia tabaci* y el daño larval de *Heliothis elaterii* se previno casi completamente.

En el laboratorio concentraciones de 0,4, 0,8 y 1,2% de extracto de semilla, inhibieron alimentación de adultos y larvas de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) en el follaje de papa. A las mayores concentraciones el porcentaje de larvas muertas fue de 73%. La de adultos no excedió el 25%. Esta toxicidad y el efecto antialimentario se aumentó al añadir el sinérgico piperonyl butóxido, a una dosis de 10: 1, sin embargo en el campo estas dosis, aunque disminuyeron las poblaciones de adultos y larvas, aparentemente produjo fitotoxicidad y bajó los rendimientos (Zehnder y Warthon, 1988). Larvas de esta especie son altamente susceptibles a extractos alcohólicos y acuosos. Extractos etanólicos al 2 % aplicados semanalmente en plantas de papa, disminuyeron las larvas hasta en un 80% en estudios de laboratorio en Alemania Federal

(Schmutterer y Hellpapp, s.f.). Estos mismos autores mencionan que altas concentraciones de aceite pueden causar fitotoxicidad en algunas plantas.

En Gambia, aplicaciones semanales de extractos acuosos en dosis de 112,5 gramos por litro y otra aplicación de 85 gramos por litro, controló eficientemente *Henosepilachna elaterii* (= *Epilachna crysomelina*) (Schmutterer y Hellpapp, s.f.). Estos mismos autores mencionan que concentraciones de 0,1 % reducen en un 98 % el daño foliar de *Diabrotica undecimpunctata*.

Hellpapp (1983), encontró que concentraciones de 5 ppm y 10 ppm de un extracto metanólico incorporado a una dieta artificial, causó un total de mortalidad en larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) de cuatro a diez días de edad. También disminuyó la alimentación, aunque el tiempo requerido para causar mortalidad fue relativamente largo. Resultados diferentes encontraron Schmutterer y Zebitz (1983) con larvas de *Epilachna varivestis* en estudios de laboratorio, donde los extractos metanólicos usados no causaron ningún efecto de repelencia o antialimentación. Ellos consideran que las concentraciones de azadiracthin empleados en el estudio, fueron muy bajas.

2.3.3.3. Propiedades reguladoras del crecimiento y oviposición

Estudios con Margosán-o indican que este producto en concentraciones de 1000 ppm, puede interferir con la reproducción y desarrollo de las larvas y adultos del escarabajo rojo de la flor en arroz (Coleoptera: Tenebrionidae). Este efecto también se logró con aceite de neem (Jilani et al, 1988).

El porcentaje de oviposición de los adultos de *Hemiocephala elaterii* (= *Epilachna chrysomelina*) en pepino, fue menor con extractos acuosos y aceite de neem, comparado con los otros tratamientos (Reed et al, 1982). También con la especie *Spodoptera litura* se redujo el porcentaje de oviposición con extractos acuosos de semillas al 2 % (Joshi y Sitaramaiah, 1979). Se ha demostrado que neem tiene efectos esterilizantes contra *Leptinotarsa decemlineata*, considerándose que aplicaciones en el período de inmigración de esta especie, cuando la oviposición disminuye, puede ser un buen método de control (Schmutterer, 1981).

Aplicaciones de azadirachtin en los estadios larvales de *Popillia japonica* interrumpió completamente el desarrollo hacia adultos, aunque las pupas y prepupas fueron menos afectadas y las pupas con tres días de desarrollo no tuvieron ninguna acción negativa del productos (Ladd, 1984).

También se ha encontrado que emulsiones del aceite crudo de neem retardaron el crecimiento y desarrollo larval lo mismo que la longevidad, fecundidad y oviposición de *Nilaparvata lugens*, aunque la eclosión de huevos no fue afectada (Saxena, 1981)

2.3.4. Uso de Neem en Nicaragua

El uso de neem es una opción en un programa de Manejo Integrado de Plagas en Nicaragua. Actualmente se realizan estudios para producir un insecticida botánico a base de extractos de neem, para ser aplicado en un amplio rango de plagas en diferentes cultivos, con el propósito de trabajar menos con los insecticidas que tradicionalmente se han utilizado

en el país. Este programa pretende generar tecnología que contribuya a mejorar las condiciones de producción, reducir los efectos de contaminación del ambiente y reducir los problemas de intoxicación humana.

El proyecto contempla establecer una plantación de árboles de neem que provean la materia prima para los extractos y generar técnicas de extracción. Se estima que el proceso de agroindustrialización del neem puede contribuir en un ahorro de aproximadamente 6 millones de dólares por año al país (Nicaragua, 1987).

Actualmente se cuenta con una planta piloto ubicada en el beneficio "Marcos Somarriba" en Diriamba, Carazo, funcionando fuera de la temporada de despulpe de café. Para 1988 de una cosecha de 1,7 toneladas de frutos, se obtuvo 10 litros de aceite para utilizar en la elaboración de jabón; 1600 ml de un extracto etanólico preformulado y 30 Kg de semilla descascarada para utilizar en extractos acuosos (Nicaragua, 1989).

Los estudios se concentran en la extracción de aceite para su utilización en la industria de la elaboración de jabón medicinal; y en la elaboración de los extractos preformulados. Las investigaciones en control de plagas se enfocan contra lepidópteros en granos básicos y hortalizas, utilizando extractos acuosos; en el estudio del efecto del aceite en insectos de granos almacenados y en el uso del subproducto torta como protector de la Urea y como nematicida (Nicaragua, 1989).

Los estudios han logrado cuantificar el promedio de rendimiento de fruto por árbol, del extracto crudo (aceite) y de Azadirachtin (principal ingrediente activo) de los árboles de neem en Nicaragua (Nicaragua,

1989). También estudios generales sobre los aspectos agronómicos y condiciones de desarrollo del árbol.

El proyecto pretende básicamente la producción de frutos que puedan ser utilizados directamente por el productor en pequeñas áreas de producción, en la elaboración artesanal de los extractos acuosos. Esto conlleva programas de capacitación y divulgación de la información a cooperativas y pequeños agricultores por parte del MIDINRA. Para áreas más grandes se pretende la utilización de los extractos etanólicos formulados cuyas características son mas estables.

Los estudios sobre el efecto del control fitosanitario del neem, se hacen necesarios para corroborar la efectividad del mismo contra las diferentes plagas en las que se va a trabajar. Diferentes investigaciones en el país, han conducido a resultados satisfactorios, especialmente con lepidópteros defoliadores en maíz, soya, frijol, repollo y tomate (Nicaragua, 1989; Hellpap, 1985,).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Metodología de laboratorio

3.1.1. Prueba de Repelencia

Para evaluar la repelencia de neem se realizaron dos ensayos diferentes con adultos de la especie *Ceratomyza ruficornis rogersi* y una con *Diabrotica balteata* colectados en campos de frijol y caupí. Los adultos, previo a la prueba, se colocaron durante un día en jaulas que contenían agua y hojas de frijol como alimento y al día siguiente se seleccionaron los más activos.

Para este estudio se emplearon extractos de neem con diferentes formulaciones y concentraciones de azadirachtin. Los extractos en una cantidad de 2 ml por tratamiento, fueron aplicados en la mitad de un papel filtro Whatman # 4 por medio de una pipeta Pasteur. Para asegurar que solo una mitad fuera tratada se marcó el papel filtro por la mitad, señalándose el área que se iba a tratar. Los extractos se aplicaron muy despacio dejando que el papel absorbiera únicamente la cantidad necesaria para humedecerse. Posteriormente se dejaron secar por un periodo de 30 minutos, colocándolos de una forma inclinada para evitar el escurrimiento del líquido. Una vez secos se colocaron en un plato petri de 9 cm de diámetro. (Jilani et al, 1988; y Butterworth y Morgans (1971) utilizaron un procedimiento similar en papel Whatman #1.

Se colocó un adulto del insecto por cada plato petri y posteriormente se evaluó su comportamiento durante una hora cada cinco minutos y luego a

las 24 horas posteriores. Este procedimiento se repitió dos veces en el tiempo con diferentes adultos y nuevos extractos. La decisión de evaluar en un período temprano y a las 24 horas fue para conocer el efecto que podría tener el producto a corto y mediano plazo. Schwinger, et al (1984), mencionan que 24 horas es una duración óptima en pruebas de antialimentación con larvas de *Epilachna varivestis* (Muls).

3.1.2. Descripción de los tratamientos

Los tratamientos empleados se describen a continuación:

1 - Testigo: agua	:	agua
2 - Testigo: etanol	:	98% etanol
3 - Extracto etanólico	:	0,3 % de azadirachtin
4 - Extracto acuoso	:	20 g/l de agua
5 - Extracto acuoso	:	40 g/l de agua
6 - Margosan - 0	:	0,3 % de azadirachtin

Margosan se utilizó solamente en las pruebas con *Ceratomyza*.

3.1.3. Extracciones acuosas

Las extracciones acuosas se prepararon a partir de semillas provenientes de plantaciones de Nicaragua, cosechadas en 1987.

Para cada evaluación se utilizaron 5 gramos de semillas previamente despulpadas, las cuales se trituraron en una licuadora eléctrica y se dejaron en remojo en agua durante 6 horas, en cubetas de plástico, agitándolo manualmente varias veces durante ese período. Luego la mezcla se

coló con una malla fina y se aplicó al papel. Estos extractos se prepararon cada vez que se iban a utilizar, para evitar su descomposición.

Las concentraciones de azadirachtin en estos extractos no se pudo determinar con exactitud, aunque se considera que tengan un promedio de 0,5 % (5000 ppm) de este ingrediente activo, con efectos antialimentarios y repelentes (3).

3.1.4. Extractos etanólicos

Los extractos etanólicos utilizados en los experimentos también se obtuvieron del Centro Nacional de Protección Vegetal. En el proceso se emplearon semillas molidas sin cáscara y prepurificadas con etanol en un sistema soxlet. El contenido de azadirachtin de estos extractos preformulados tuvo un promedio de 0,3% (3,000 ppm) (3).

3.1.5. Margosan-o

Margosan-o es un producto comercial a base de extractos de la semilla de neem, que contiene 0,3% de azadirachtin (3000 ppm), y que se considera mas estable que otros extractos de este árbol. La fórmula fue desarrollada por Vikwood Ltd. y patentada en 1985, luego se vendió la patente a la Compañía W.R. Grace. Se obtuvieron dos pintas por donación del Dr. James Knauss y el Dr. Robert Larson.

3 Katia Grover, 1989. Comunicación personal, CENAPROVE, MIDINRA, Nicaragua.

3.1.6. Descripción de diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 10 repeticiones. Cada repetición consistió de un adulto de crisomélido colocado en un plato petri de 9 cm de diámetro.

El modelo estadístico correspondiente a este diseño es:

variable dependiente = $U + T_i + D + E_{ij}$

donde: U = promedio de las medias de los tratamientos

T_i = efecto del tratamiento i

D = efecto de día

E_{ij} = error experimental

3.1.7. Variables evaluadas

En las dos pruebas se evaluó lo siguiente:

- a) Porcentaje de veces que el insecto estuvo en la mitad tratada, cada 5 minutos y a las 24 horas.
- b) Índice de repelencia.

3.1.8. Análisis estadístico

De los datos evaluados se calculó un porcentaje de las veces que el insecto estuvo en el tratamiento y ésto se transformó al arcoseno de la raíz cuadrada mas 0,5, por la existencia de valores de cero. Posteriormente se analizaron por medio de un análisis de varianza de las variables. Luego se efectuó una prueba de Duncan para determinar la diferencia entre tratamientos. También se calculó un índice de repelencia el cual nosotros lo determinamos con los datos generados del porcentaje de veces que el

insecto estuvo presente en cada tratamiento haciendo un análisis de varianza. Los tratamientos, cuyo índice fueron mayores que 0,5 se consideraron no repelentes y aquellos menores que 0,5 se consideraron repelentes.

Para los datos de las 24 horas, se utilizó una prueba de "T" para determinar diferencias entre las medias de los tratamientos y posteriormente se calculó el índice de repelencia.

3.1.9. Prueba antialimentaria

Para evaluar el efecto antialimentario de neem, se efectuaron dos pruebas diferentes con adultos de la especie *D. balteata* y una prueba con *C. rogersi*. Los adultos se colectaron en campos de frijol y caupí y se colocaron en jaulas de madera con malla. Se dejaron sin alimento durante dos días y posteriormente se seleccionaron los que presentaron mejores condiciones. Para la prueba se utilizaron discos de hojas de frijol de 50 mm de diámetro cortados con tijeras y tratados previamente por inmersión durante cinco segundos con los diferentes extractos (Hare et al, 1983; Schmutterer y Hellpap (s.f), reportan pruebas similares con *L. decemlineata* y *D. undecimpunctata*. Los discos una vez secos se colocaron en platos petri de 9 cm de diámetro con papel filtro humedecido con agua destilada para guardar la humedad de la hoja. Para cada prueba las evaluaciones se hicieron durante dos días removiendo el disco a las 24 y 48 horas y reemplazándolo cada vez por otro recién tratado. Los adultos fueron los mismos en los dos días. El procedimiento se repitió dos veces con diferentes adultos y diferentes preparaciones de extractos.

3.1.10. Descripción de los tratamientos

Los tratamientos empleados fueron los siguientes:

- | | | | |
|---|--------------------|---|-----------------------|
| 1 | Testigo: agua | : | agua |
| 2 | Testigo: etanol | : | 98% etanol |
| 3 | Margosan-o | : | 0,3 % de azadirachtin |
| 4 | Extracto etanólico | : | 0,3 % de azadirachtin |
| 5 | Extracto acuoso | : | 20 g/l agua |
| 6 | Extracto acuoso | : | 40 g/l agua |

(Para mayores detalles ver 3.1.2 y 3.1.3)

3.1.11. Diseño experimental

Se usó un diseño de bloques completos al azar en parcelas divididas en el tiempo, con 6 tratamientos y 10 repeticiones donde los días fueron parcelas pequeñas o sub-parcelas y los extractos, los tratamientos de parcelas grandes.

El modelo estadístico correspondiente a este diseño es:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + I_j + E_{ij} + V_k + IV_{ij} + E_{ijk}$$

donde:

μ = media general

B_i = efecto del bloque i

I_j = efecto del factor asociado a la parcela grande (extractos)

E_{ij} = error experimental asociado a la parcela grande

V_k = efecto del factor de subparcela (días)

IV_{ij} = interacción entre tratamientos y días

E_{ijk} = error experimental asociado a las subparcelas

3.1.12. Variables evaluadas

Durante las dos pruebas se evaluó:

- a) porcentaje de area foliar consumida por cada tratamiento por día.
- b) comportamiento de los insectos en el área tratada.

3.1.13. Análisis estadístico

Para su análisis los datos del porcentaje de defoliación fueron transformados por el método de raíz cuadrada mas 0,5. Posteriormente se realizó un análisis de varianza en un arreglo de parcelas divididas en el tiempo para determinar si hubo cambio del efecto de los tratamientos con el transcurso del tiempo. Los resultados se sometieron a una prueba de Duncan para determinar las diferencias entre tratamientos. Las interacciones de este análisis que resultaron positivas, se les hizo una nueva prueba de Duncan.

3.2. Metodología de campo

3.2.1. Localización del experimento

El ensayo se efectuó en la Estación Experimental del CATIE, Turrialba, Costa Rica. El lugar está situado a 9°53' latitud Norte y 88°39' longitud Oeste, con una elevación aproximada de 602 msnm. El clima es caliente y húmedo, tiene una temperatura media mensual de 22.4°C y una precipitación media anual de 2643 mm. La humedad relativa es de 88% como promedio (CATIE, 1983). De acuerdo a la clasificación de Holdridge (1978) la zona se considera como bosque muy húmedo premontano.

3.2.2. Ciclos de cultivos

Se efectuaron dos siembras de caupí (*Vigna unguiculata* (L) Walp). La primera de enero a mayo y la segunda de abril a junio, de 1989, respectivamente. Para la primera siembra hubo alta precipitación durante el período de las aplicaciones programadas, por lo que únicamente se pudo evaluar dos aplicaciones del total de cuatro que se hicieron. Durante el segundo ciclo se hicieron un total de 3 aplicaciones y todas fueron evaluadas.

3.2.3. Descripción de los tratamientos

Los tratamientos empleados para cada ciclo se describen a continuación:

1° Prueba	2° Prueba
Testigo: agua	Testigo: Agua
Extracto acuoso: 40g/l	Extr. acuoso: 40g/l
Extracto acuoso: 20g/l	Extr. acuoso: 40g/l +adh.
Margosan-0 (Azt. 0,3% g.)	Margosan-0 (Azt. 0,3%)
Metamidofos (Tamaron 50 % lcc/l)	Metamidofos (Tamaron 50 % 2cc/l)

En el segundo ciclo se usó el adherente Nu film 17 (96%) a una dosis de 2cc/l, para una bomba de 16 litros, para obtener información sobre el efecto de este producto en la efectividad de los extractos acuosos comparando las mismas dosis. Estudios en el campo muestran que la eficacia

de extractos metanólicos y del aceite de neem puede incrementarse al añadir solventes, adyuvantes y emulsificantes (Schmutthere y Hellpap, s.f; Hellpap, 1985). Se utilizó la dosis más alta de los extractos acuosos, porque estas no mostraron diferencias significativas en el primer ciclo y se consideró que con la dosis más alta, si era efectiva, se podría apreciar más claramente. La dosis de metamidofos también se aumentó, porque los datos de la primera prueba indican que su efectividad fue muy baja, diferente a lo esperado. Los extractos acuosos y etanólicos se obtuvieron de la misma forma que para los experimentos en laboratorio. Ver sección 3.1.2 y 3.1.3.

3.2.4. Descripción del Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 5 tratamientos y 4 repeticiones.

El modelo estadístico correspondiente a este diseño es:

$$Y_{ij} = U + B_i + t_j + E_{ij}$$

donde:

U = media general de los tratamientos

B_i = efecto del bloque i

t_j = efecto del tratamiento j

E_{ij} = error experimental

3.2.5. Cultivo, variedad, distancia de siembra, población, requerimiento de agua

Para ambos ciclos se sembró la variedad de caupí, CENTA 105, que es de crecimiento arbustivo y grano negro. La siembra se hizo a una distancia de

0,5 m entre hileras y 0,2 m entre plantas, colocando 2 semillas por postura. Para satisfacer los requerimientos de agua del cultivo, entre los meses de febrero y abril (época seca) se suministró riego por aspersión, con excepción de los períodos lluviosos que se presentaron.

3.2.6. Tamaño de las parcelas

Para el primer experimento el tamaño de las parcelas fue de 4x10 m, utilizando los cuatro surcos centrales como parcela útil. Para el segundo experimento, el tamaño varió a 6x6 m, utilizando los 6 surcos centrales como parcela útil. En ambos ciclos la distancia entre las parcelas de un bloque fue de 2 m con 5 m de calle entre cada bloque. Se dejó un borde de 2 m alrededor del experimento.

3.2.7. Fertilización

En los dos ciclos se aplicó al momento de la siembra, una cantidad equivalente a 300 kg/ha de 10-30-10, distribuyendo el fertilizante en bandas a lo largo de los surcos del caupí.

3.2.8. Combate de malezas

Al inicio se hizo una chapia y se aró y rastreó como labranza convencional. Posteriormente se sembró e inmediatamente después de la siembra se aplicó el herbicida pre-emergente alaclor (Lazo) a una dosis de 6 cc/l. A los 60 días después de la siembra, hubo alta densidad de malezas gramíneas en algunas parcelas y entonces se hizo una limpia manual.

Para el segundo ciclo el procedimiento fue similar antes y al momento de la siembra. Veinte días después, la presencia de malezas de hoja ancha obligó a una limpia manual.

3.2.9. Control de insectos

Para el primer ciclo, cerca de la sexta semana, se presentó un fuerte ataque de áfidos de la especie *Aphi craccivora* (Identificación por Roger Meneses, 1989) que obligó a una aplicación de Orthene 95% a una dosis de 30g/bomba de 16 litros.

3.2.10. Variables evaluados

Las variables que se evaluaron durante el trabajo fueron las siguientes:

- Número de crisomélidos presentes por planta y por parcela.
- Área foliar consumida.

Los muestreos se hicieron una vez por semana, en 20 plantas al azar de la parcela útil. Las observaciones sobre la presencia de los adultos se realizaron durante las primeras horas de la mañana sobre la parte superior del follaje y se evaluaron en base a observaciones visuales. El área foliar consumida se midió con una escala de 0 al 5 donde: (0)=cero daño, (1)=1-5%, (2)=6-25%, (3)=26-50%, (4)=51-75%, (5)=76-100% (Karel y Rweylmonu, 1984). Para el segundo ciclo se midió directamente los porcentajes de defoliación. La evaluación se hizo siempre en el trifoliolo más joven extendido.

Las aplicaciones de los extractos se realizaron semanalmente después de los muestreos rutinarios. Las aspersiones se hicieron en todo el follaje

de la planta hasta gotear, con una bomba de mochila de 16 L. Se hizo un recuento pre y posterior a la aplicación, para evaluar el incremento del daño y el efecto del tratamiento. Los datos se tomaron hasta antes del desarrollo de vainas, para la primera siembra y hasta las 4 primeras semanas en la segunda siembra. En ambos ciclos no se evaluó cosecha.

-
-

3.2.11. Análisis Estadístico

Los valores de la variable cantidad de daño, fueron transformados por raíz cuadrada mas 0,5 y luego se efectuó un análisis de covarianza en parcelas divididas usando como covariable las fechas anteriores a las aplicaciones. Se realizó una prueba de Duncan para determinar la diferencia entre tratamientos.

El incremento de daño entre las fechas previas y posteriores a las aplicaciones, fue analizado por medio de un Andeva y luego se aplicó una prueba de Duncan.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Prueba de repelencia para *Cerotoma ruficornis*

4.1.1 Datos de una hora evaluados cada 5 minutos

Se hicieron dos pruebas independientes, evaluando el comportamiento de los insectos cada cinco minutos durante la primera hora después de aplicados los tratamientos. El propósito de esta evaluación fue conocer el efecto inmediato que tenían los extractos en los adultos para luego compararlo con la evaluación que se hizo posteriormente a las 24 horas. Solamente en la segunda prueba se evaluó el producto Margosán-o. En las dos pruebas que se realizaron, el análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas y muy significativa entre las medias de los tratamientos (Cuadros 2 y 4). Como consecuencia de esto, se realizó una prueba de Duncan para determinar cuales tratamientos mostraban diferencias.

La prueba de Duncan indica que en los dos ensayos, el extracto etanólico tuvo el mejor comportamiento como repelente (Cuadro 3). En el primer experimento, los tratamientos acuosos y etanólicos no fueron diferentes entre si, pero fueron diferentes con respecto a los otros. Los datos muestran una diferencia real entre los testigos etanol y agua y los extractos etanólicos y acuoso de 40g/l (Cuadro 3, Figura 1). En la segunda prueba, el extracto etanólico, fue el único diferente significativamente con respecto a los otros, presentando menos presencia del insecto durante el período evaluado. Sin embargo, el extracto acuoso a la dosis de 40g/l aunque no tuvo diferencia significativa, presentó después del etanólico, un mejor comportamiento que los otros (Cuadro 3,

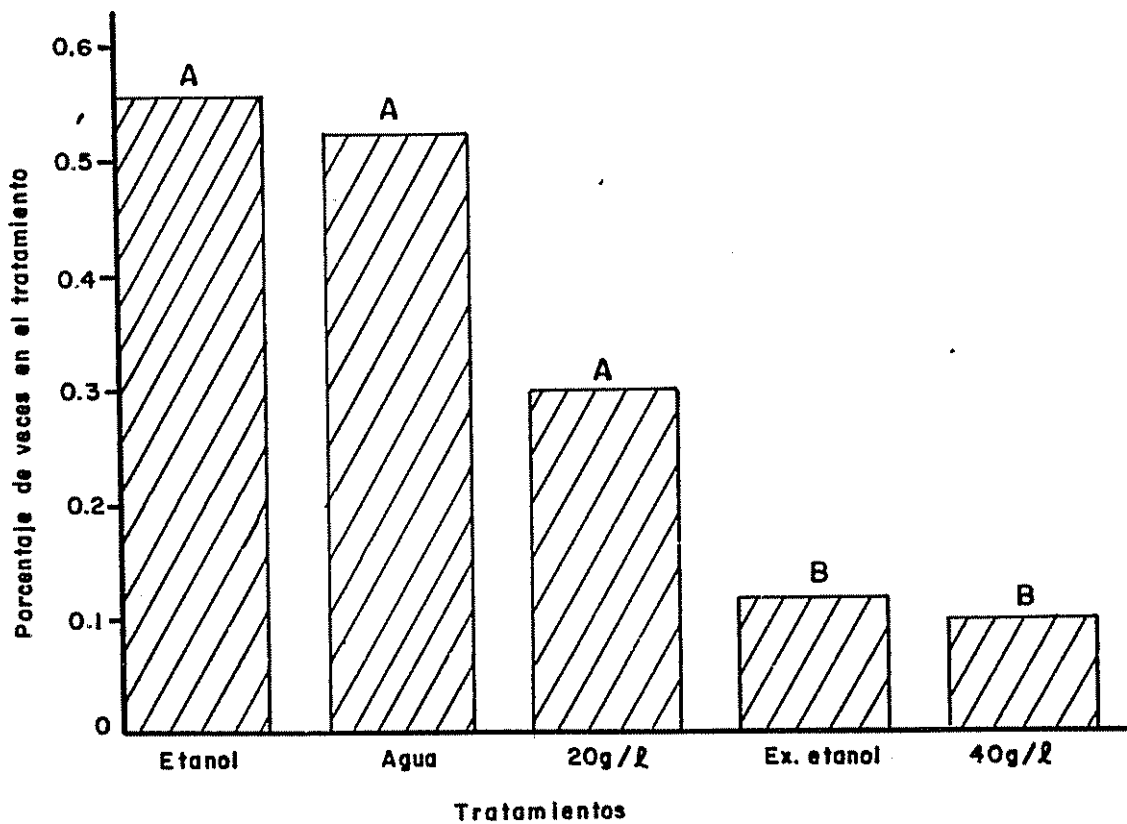


Figura 1 Porcentaje de veces que C. ruficornis estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos. Prueba N° 1

Figura 2). El desempeño de los tratamientos acuosos varió entre las dos pruebas, esto podría deberse a la susceptibilidad de los adultos en estudio u otros factores que habría que evaluar en pruebas posteriores.

Para corroborar esta información se calculó el índice de repelencia utilizando el porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada, sacando un promedio de las 10 repeticiones, para cada tratamiento y haciendo un análisis de varianza. El índice nos muestra en la primera prueba que tanto los extractos acuosos como el etanólico tienen el mayor índice de repelencia. En la segunda prueba solo el extracto etanólico presentó índice de repelencia (Cuadro 5). En ambas pruebas el índice de repelencia del extracto etanólico siempre fue el mayor y mantuvo su comportamiento, por lo que podríamos considerar que en las condiciones del estudio, este producto se comporta como el mejor repelente de *Cerotoma*. Aparentemente este extracto actúa causando un efecto de paralización en el insecto que hace que este no se acerque al producto.

En la segunda evaluación el producto comercial Margosán-o no muestra diferencia significativa con respecto al testigo ni algún efecto que pudiera considerarse repelente (Cuadro 5). Resultados diferentes fueron encontrados por Jilani et al (1988), donde en concentraciones de hasta 1000 ppm de Margosán-o se obtuvieron los mejores resultados como repelente, contra una especie de Tenebrionidae, con respecto al aceite de neem y otros productos a base de aceites. Por el contrario, el extracto etanólico y los acuosos se comportaron mejor como repelente.

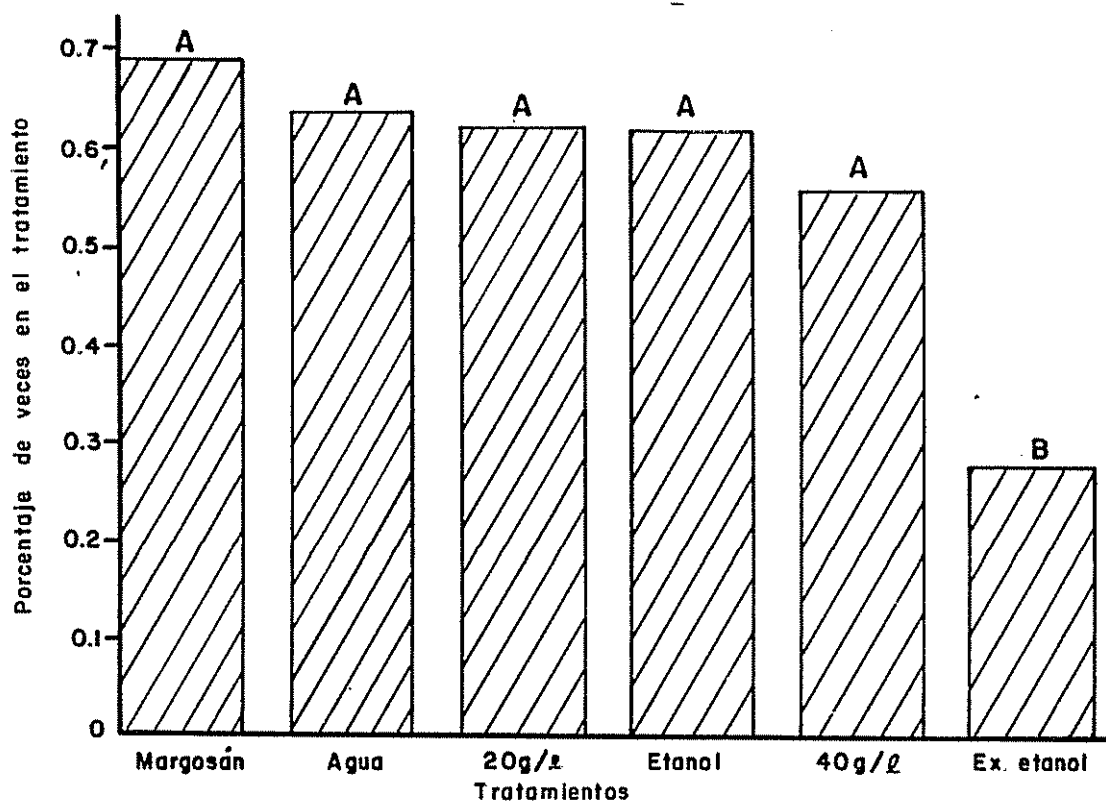


Figura 2 Porcentaje de veces que *C. ruficornis* estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos. Prueba N° 2

4.1.2. Datos a las 24 horas

El comportamiento de los tratamientos a las 24 horas fue un poco diferente que el de la primera hora. Aquí el extracto acuoso de 40g/l fue el que tuvo un mejor comportamiento en las dos pruebas. El etanólico únicamente tuvo un efecto positivo en la segunda prueba. Estos resultados difieren de la información generada en la primera hora y se desconoce el por que de esa variación (Cuadro 5). Schwinger, et al (1983) reportan que la duración de una prueba puede tener gran influencia en los resultados. Por un lado puede ser muy larga y disminuir el efecto de los tratamientos o ser demasiado corta y no dar tiempo a actuar a los productos. Pareciera que este tiempo no influyó en el comportamiento de los tratamientos, pero sí es obvio que los extractos acuosos y el etanólico son los que presentan una mejor respuesta.

4.2 Prueba de repelencia para *Diabrotica balteata*

4.2.1 Datos de una hora evaluados cada cinco minutos

Con los adultos de *D. balteata* se efectuó una prueba con la misma metodología que para *Cerotoma*. Se realizó un análisis de varianza de los datos y este mostró diferencias altamente significativas para los tratamientos (Cuadro 6) La prueba de Duncan nos indica que el extracto etanólico presenta un comportamiento diferente a los demás. Margosán-o y el testigo difieren del extracto acuoso de 40g/l pero entre los tratamientos acuosos no existe diferencias (Cuadro 7, Figura 3).

El índice de repelencia se calculó de la misma forma que para *Cerotoma*, y muestra claramente que el extracto etanólico es el único con

que tuvo una mayor acción como repelente. Margosán-o igual que para la otra especie, no mostró ningún comportamiento como repelente. y su efecto no tuvo diferencias con el testigo (Cuadro 8). Los extractos acuosos igual que para *Cerotoma*, no fueron diferentes significativamente del testigo. Con esta especie también podemos concluir que el extracto etanólico es el único que se comporta como repelente.

Cuadro 2. Análisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos. Primera evaluación con *Cerotoma ruficornis*.

Fuente	GL	SC	CM	F	p	c.v.
Trat.	4	4,2736	1,0684	7,53	0,0001***	72,2269
Error	45	6,3846	0,1419			
Total	49	10,65833				

*** Altamente significativa $P < 0.001$

Cuadro 3. Comparación de medias del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos. Dos evaluaciones con *Cerotoma ruficornis*.

1a. Evaluación		2a. Evaluación	
a 0,5570	Etanol	a 0,6920	Margosán-o
a 0,5240	Agua	a 0,6380	Agua
b a 0,3000	Ex.20g/l	a 0,6260	Ex.20g/l
b 0,1170	Ex.etanólico	a 0,6210	Etanol
b 0,1000	Ex.40g/l	a 0,5590	Ex.40g/l
		b 0,2780	Ex.etanólico

Prueba de Duncan

Medias con letras iguales no son diferentes significativamente

Cuadro 4. Análisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratada. Segunda evaluación con *Cerotoma ruficornis*.

Fuente	GL	SC	CM	F	p	c.v.
Trat.	5	1,7747	0,3549	4,10	0,0031**	34,2733
Error	54	4,6716	0,0865			
Total	59	4,1193				

** Muy significativa $P < 0.001$

Cuadro 5. Índices de repelencia de los tratamientos. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos y a las 24 horas en dos pruebas diferentes con *Cerotoma ruficornis*.

Tratamientos	Índices			
	1a Prueba		2a Prueba	
	1 h	24 h	1 h	24 h
Agua	0,5	1	0,7	0,9
Etanol	0,6	0,8	0,8	0,4
Ex. etanol	0,1**	0,8	0,2**	0,1**
Ex. 40 g/l	0,1**	0,3**	0,5	0,3**
Ex. 20 g/l	0,1**	0,6	0,7	0,7
Margosan-o	-		0,8	0,5

I: > 0,5 no repelente
< 0,5 repelente

Cuadro 6. Analisis de varianza del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el tratamiento. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos con *Diabrotica balteata*.

Fuente	GL	SC	CM	f	p	c.v.
Trat	5	9,1593	1,8319	12,41	0,0001***	91,7608
Error	54	7,9691	0,1476			
Total	59	17,1284				

*** Altamente significativo $P < 0.001$

Cuadro 7. Comparación de medias del porcentaje de veces que el insecto estuvo en el área tratado. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos con *Diabrotica balteata*.

	Medias	Tratamientos
a	0,9830	Margosán-o
a	0,8830	Agua
b	a	Etanol
b	a	Ex. 20g/l
b	0,5830	Ex. 40g/l
c	0,1680	Ex.etanólico

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

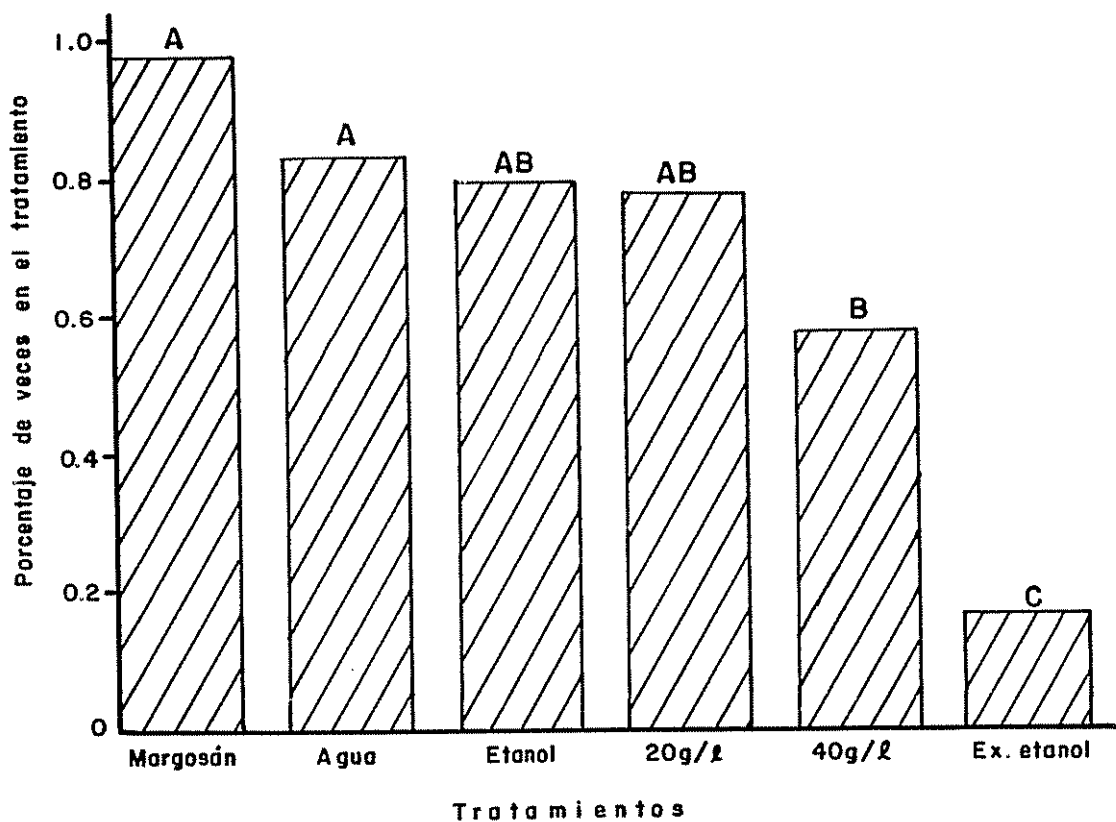


Figura 3 Porcentaje de veces que *D. balteata* estuvo presente en los tratamientos. Evaluación de la primera hora cada cinco minutos

Cuadro 8. Índices de repelencia de los tratamientos. Datos de una hora evaluados cada 5 minutos y a las 24 horas con *Diabrotica balteata*.

Tratamientos	Índices de repelencia	
	1 h	24 h
Margosán-o	1	0,6
Agua	0,8	0,5
Etanol	0,9	0,8
Ex.20 g/l	0,8	0,4**
Ex.40 g/l	0,6	0,9
Ex.etanólico	0,1**	0,6

I: > 0,5 no repelente
< 0,5 repelente

4.2.2. Datos a las 24 horas

La respuesta en el tiempo indica que el acuoso de 20g/l es el de mejor actuación con respecto a los otros tratamientos, aunque ese comportamiento difiere de los datos de la primera hora, donde solo el etanólico actuó sobre el insecto (Cuadro 8). La variabilidad de la respuesta sugiere mayores pruebas que permitan una evaluación del comportamiento a través del tiempo.

4.3. Observaciones Generales

Los insectos presentaron un comportamiento bastante similar en las dos pruebas. Los primeros segundos tuvieron un movimiento errático, luego hicieron un reconocimiento de la superficie estudiada y posteriormente se ubicaron en una área del papel filtro, tratado o no

tratado y generalmente se mantuvieron ahí la mayoría del tiempo. En algunos casos hubo intentos de ir a la otra área contraria a la que se encontraban, entonces su comportamiento fue entrar, salir o quedarse quieto en una de las áreas. Otras veces permanecieron momentáneamente en la zona intermedia entre las dos áreas evaluadas y posteriormente el insecto se movilizó al sitio que tuvo menor efecto negativo sobre él. El comportamiento del insecto, sobre todo en el caso del producto etanólico, fue bien claro. El adulto durante la primera hora se mantuvo quieto en el área no tratada y muy pocas veces hizo intentos de cruzar hacia la otra área. Consideramos que el producto actúa sobre los los adultos provocando una especie de paralización por efecto de los vapores, haciendo que el insecto eluda al químico. Esto coincide con las definiciones de repelencia hechas previamente por Dethier, (1947, 1956, 1960); Kennedy, (1947). Esto mismos autores consideran que entre menos tiempo esté un insecto en una superficie tratada, puede considerarse a ésta como más repelente.

4.4. Prueba antialimentaria

4.4.1. *Diabrotica balteata*

Con los adultos de *D. balteata* se realizaron dos pruebas independientes para evaluar el efecto antialimentario de los extractos, analizando posteriormente los datos en conjunto.

El análisis de varianza conjunto para las dos pruebas, muestra diferencias altamente significativas entre los tratamientos y para la

interacción tratamiento-fecha (Cuadro 9). Esta diferencia se aprecia en la prueba de Duncan, (Cuadro 10, Figura 4), donde los testigos agua y etanol, difieren significativamente de los tratamientos a base de neem. Entre estos últimos no hubo diferencias significativas, aunque la hoja tratada con el extracto etanólico no presentó ningún daño. En el campo aplicaciones semanales en papa de un extracto etanólico al 2%, disminuyó el daño de los estadios larvales de *L. decemlineata*, hasta en un 80 % (Scmutterer y Hellpap, s.f.) en lo que podríamos considerar un rechazo del insecto para alimentarse. Butterworth y Morgan (1971) consideran que existe un efecto antialimentario cuando no hay alimentación en el área tratada. La interacción entre fechas y tratamientos indica que existen factores y condiciones diferentes en cada ensayo, que pueden influenciar los resultados de los tratamientos, tales como condiciones de los adultos o de los extractos. En el análisis conjunto, podemos apreciar claramente que los tratamientos presentan diferencias altamente significativas y significativas en las interacciones día-fecha y tratamiento-día-fecha (Cuadro 9). Para todas las interacciones con significancia, se realizó una prueba de Duncan, para efecto de conocer cual de las variables relacionadas difería significativamente con respecto a las otras.

Cuadro 9. Análisis de varianza para el porcentaje de defoliación en las dos pruebas antialimentarias con *Diabrotica balteata*.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV
Bloque	9	0,0047	0,0005	1,38	0,2052	1,93
Trat.	5	0,0185	0,0037	12,30	0,0001***	
Bloq.*trat	45	0,0135	0,0003	0,79	0,8097	
Día	1	0,0000		0,23	0,6320	
Trat.*día	5	0,0016	0,0003	1,09	0,3765	
Bloq.*trat(día)	54	0,0165	0,0003	0,80	0,8118	
Fecha	1	0,0000		0,00	0,9818	
trat.*fecha	5	0,0114	0,0023	6,04	0,0001***	
Día*fecha	1	0,0026	0,0026	6,98	0,0095**	
Trat*día*fecha	5	0,0046	0,0009	2,42	0,040*	
Error	108	0,0411	0,0003			
Total	239	0,1150	0,0005			

- * Significativo P< 0,05
 ** Muy significativo P< 0,01
 *** Altamente significativo P< 0,001

Cuadro 10. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación en las pruebas antialimentarias con *Diabrotica balteata*.

	Medias	Tratamientos
a	0,0490	Etanol
a	0,0363	Agua
b	0,1425	Margosan-o
b	0,0143	Ex.acuoso 40 g/l
b	0,0040	Ex.acuoso 20 g/l
b	0	Ex.Etanólico

Medias con letras iguales no son diferentes significativamente.

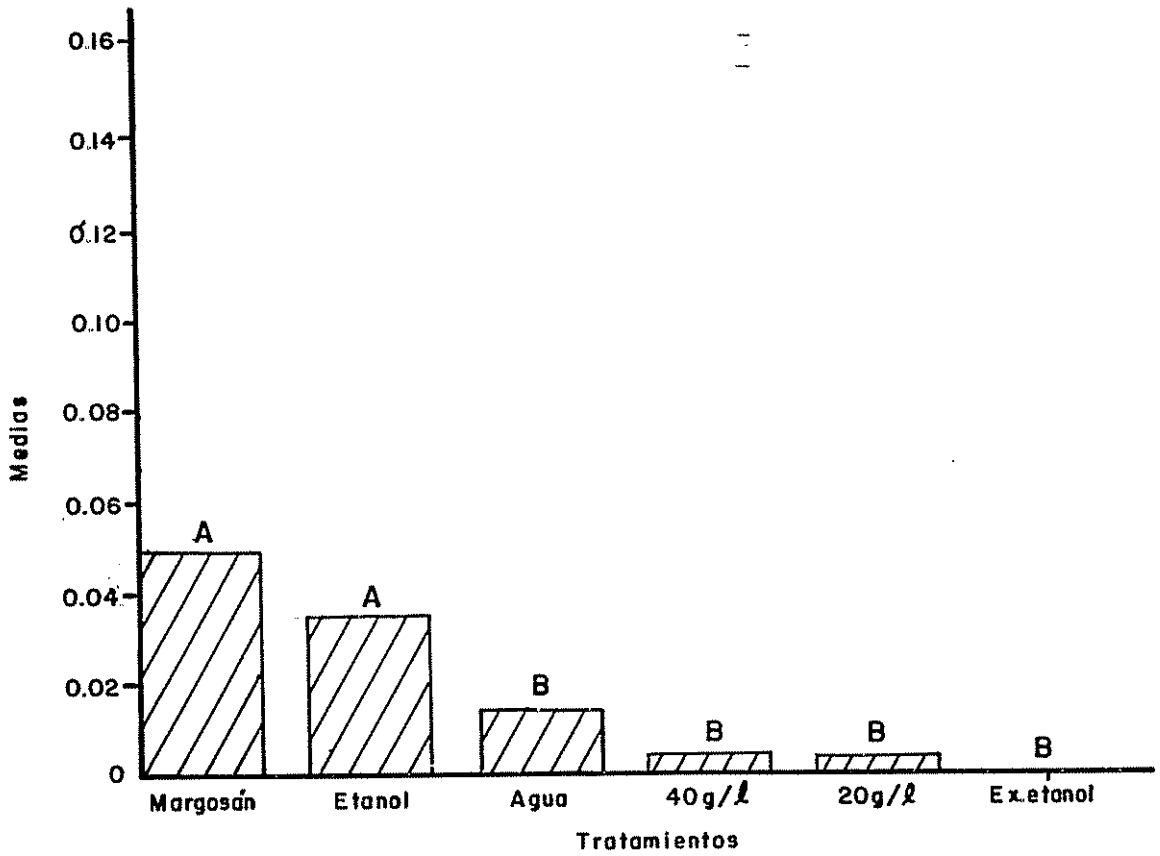


Figura 4 Porcentaje de defoliación por tratamiento. Prueba conjunta antialimentaria con *D. balteata*

Cuadro 11. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación total entre el primer y segundo día por cada fecha en adultos de *Diabrotica balteata*.

Primera fecha			Segunda fecha		
	Medias	Días		Medias	Días
a	0,0233	Primero	a	0,0227	Segundo
b	0,0100	Segundo	b	0,0120	Primero

El porcentaje de defoliación para cada día varió en las dos fechas. En la primera fecha el daño fue mayor para el primer día, sin embargo para la segunda fecha fue el segundo día el que presentó mayor porcentaje de daño foliar (Cuadro 11, Figura 5 y 6). Esto podría indicar que el efecto de los productos en la actividad antialimentaria es independiente de los días. Podría estar relacionado con las condiciones de los insectos en las dos pruebas.

El comportamiento de los tratamientos para cada experimento fue un poco diferente. En la primera fecha el testigo agua y etanol, junto con Margosan-o difieren significativamente del extracto etanólico, aunque los otros tratamientos también difieren entre si. Para la segunda fecha evaluada, el testigo etanol es diferente a todos los otros tratamientos, pero éstos no difieren entre si, incluyendo al testigo agua (Cuadro 12, Figuras 7 y 8).

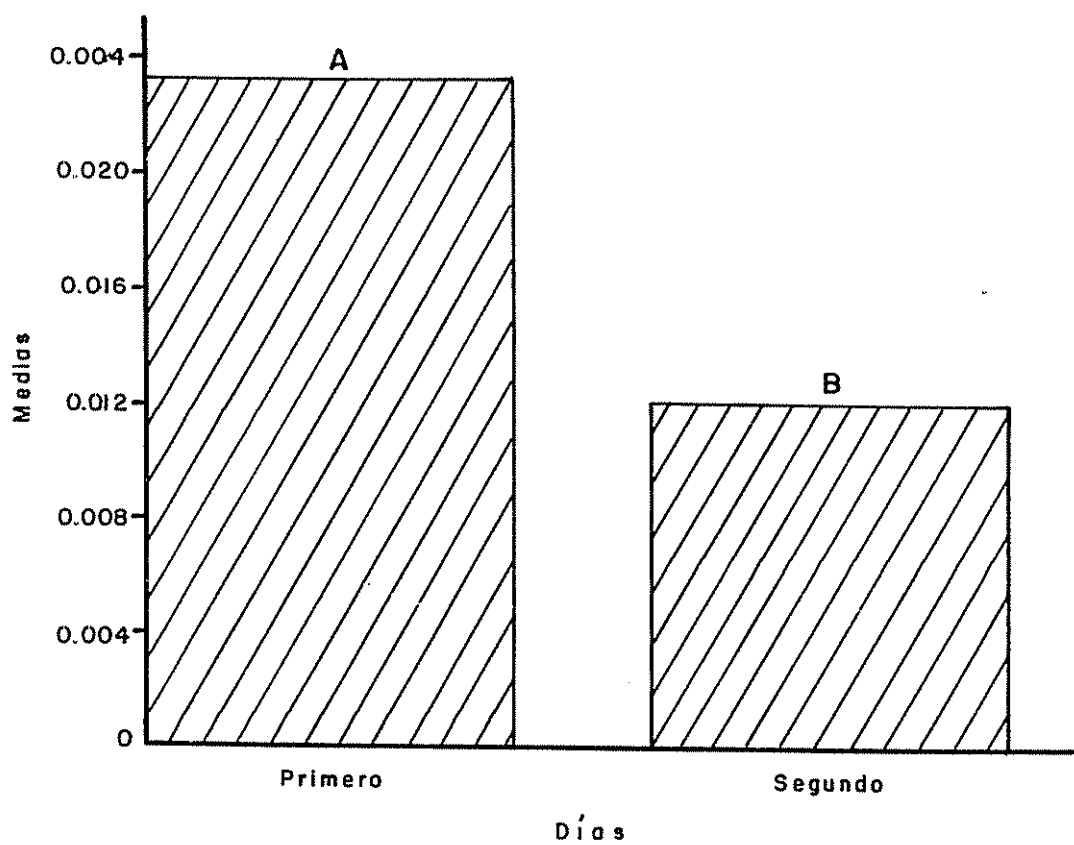


Figura 5 Total de defoliación para el primero y segundo día en la primera fecha con D. balteata

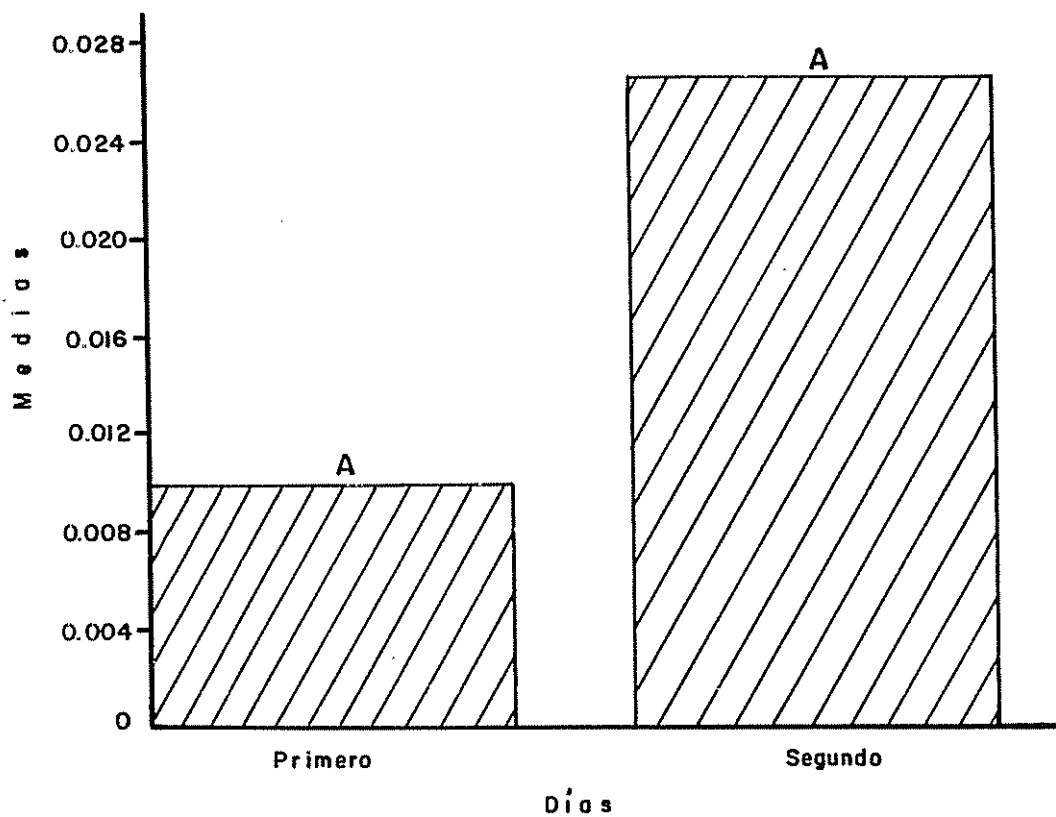


Figura 6 Total de defoliación para el primero y segundo día en la segunda fecha con D. balteata

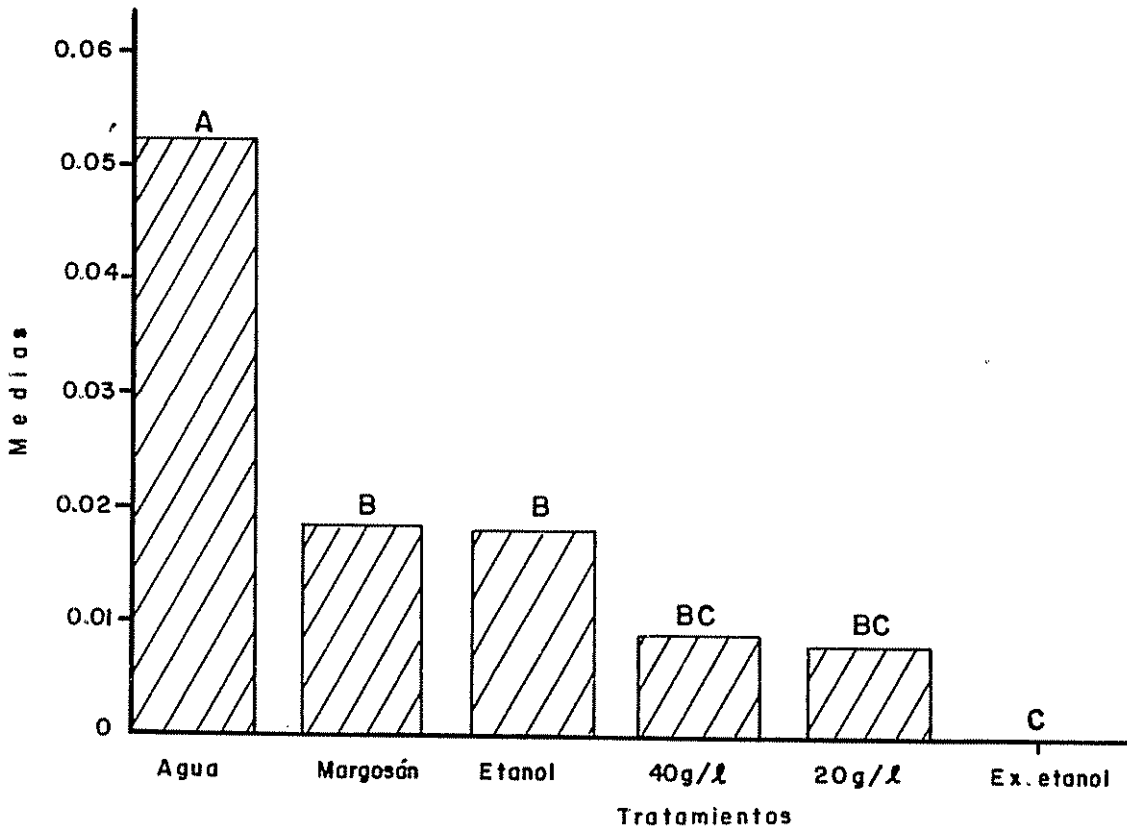


Figura 7 Porcentaje de defoliación por tratamiento en la primera prueba con *D. balteata*

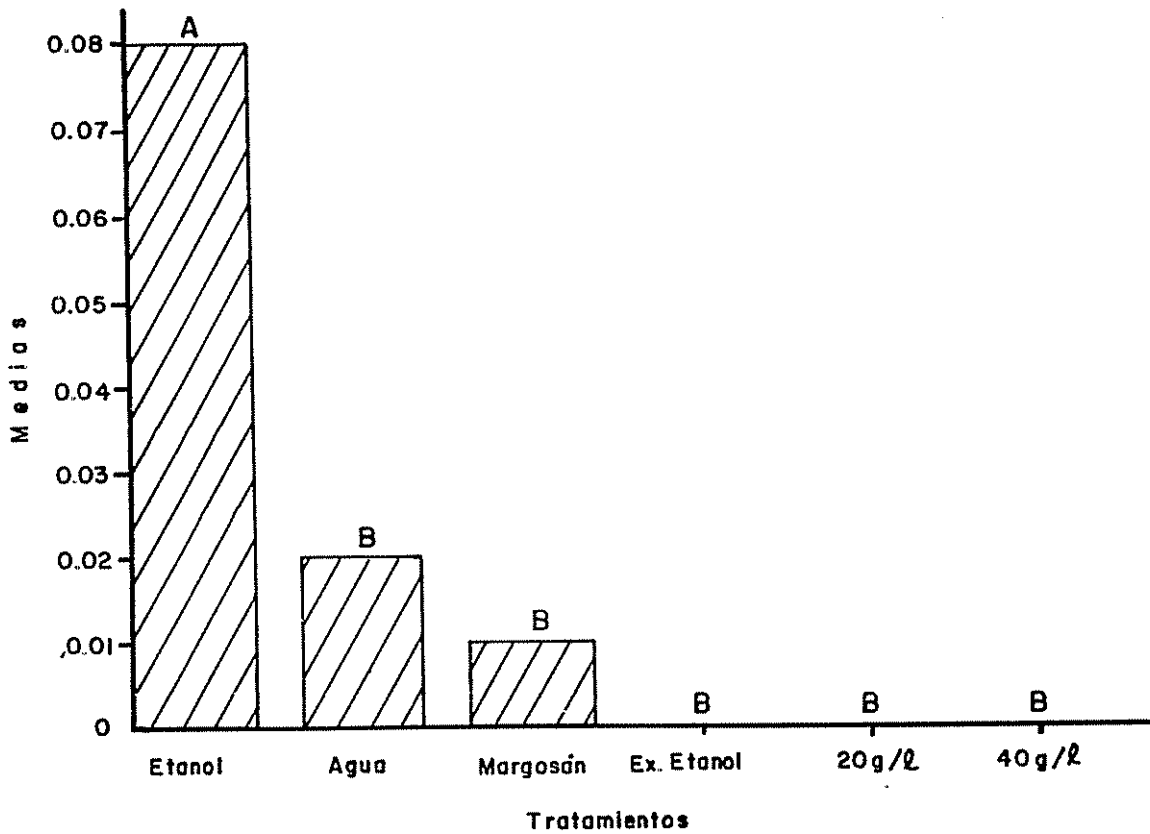


Figura B Porcentaje de defoliación por tratamiento en la segunda prueba con D. balteata

Cuadro 12. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación por cada tratamiento para las diferentes fechas con adultos de *Diabrotica balteata*.

Primera fecha			Segunda fecha		
a	0,0525	Agua	a	0,080	Etanol
b	0,0185	Margosán-o	b	0,020	Agua
b	0,0180	Etanol	b	0,010	Margosán-o
c b	0,0090	Ex.40g/l	b	0	Ex.etanólico
c b	0,0080	Ex.20g/l	b	0	Ex. 20g/l
c	0	Ex.etanólico	b	0	Ex. 40g/l

Es importante notar que solo los tratamientos testigos (agua y etanol), tienen diferencias significativas con respecto a las distintas fechas evaluadas, como lo podemos apreciar en el Cuadro 13. Esto nos indica que la defoliación en los testigos fue mayor respecto a los otros tratamientos, pero que este comportamiento es diferente en cada fecha evaluada, no teniendo ninguna relación con la efectividad de los productos.

Cuadro 13. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación de los tratamientos testigos en las dos fechas evaluadas con *Diabrotica balteata*.

Testigo Agua			Testigo Etanol		
	Medias	Fechas		Medias	Fechas
a	0,0525	Primera	a	0,080	Segunda
b	0,020	Segunda	b	0,018	Primera

4.4.2 *Cerotoma ruficornis*

Con esta especie se realizó únicamente una prueba, de la cual el análisis de varianza de parcelas divididas en el tiempo, nos muestra diferencias muy significativas en los tratamientos y significativa para la relación tratamiento-día. (Cuadro 14).

Cuadro 14. Análisis de varianza para el porcentaje de defoliación en la prueba antialimentaria con *Cerotoma ruficornis*.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV
Bloque	4	0,0024	0,0006	0,87	0,4974	1,1952
Trat.	5	0,2381	0,0476	6,7	0,0008**	
Error (A)	20	0,0142	0,0007	1,83	0,080	
Día	1	0,0014	0,0014	3,83	0,062	
Trat*día	5	0,0060	0,0012	3,13	0,025*	
Error (B)	54	0,0093	0,0004			
Total	119	0,0574	0,0009			

* Significativo $P < 0,01$

** Muy significativo $P < 0,001$

La prueba de Duncan muestra que el testigo agua difiere de los otros tratamientos, en cambio, estos últimos no muestran diferencias entre ellos. Se aprecia que en todos los productos a base de neem no hubo alimentación y la diferencia con etanol es mínima (Cuadro 15, Figura 9). Este comportamiento fue diferente para los dos días. (Cuadro 16, Figura 10).

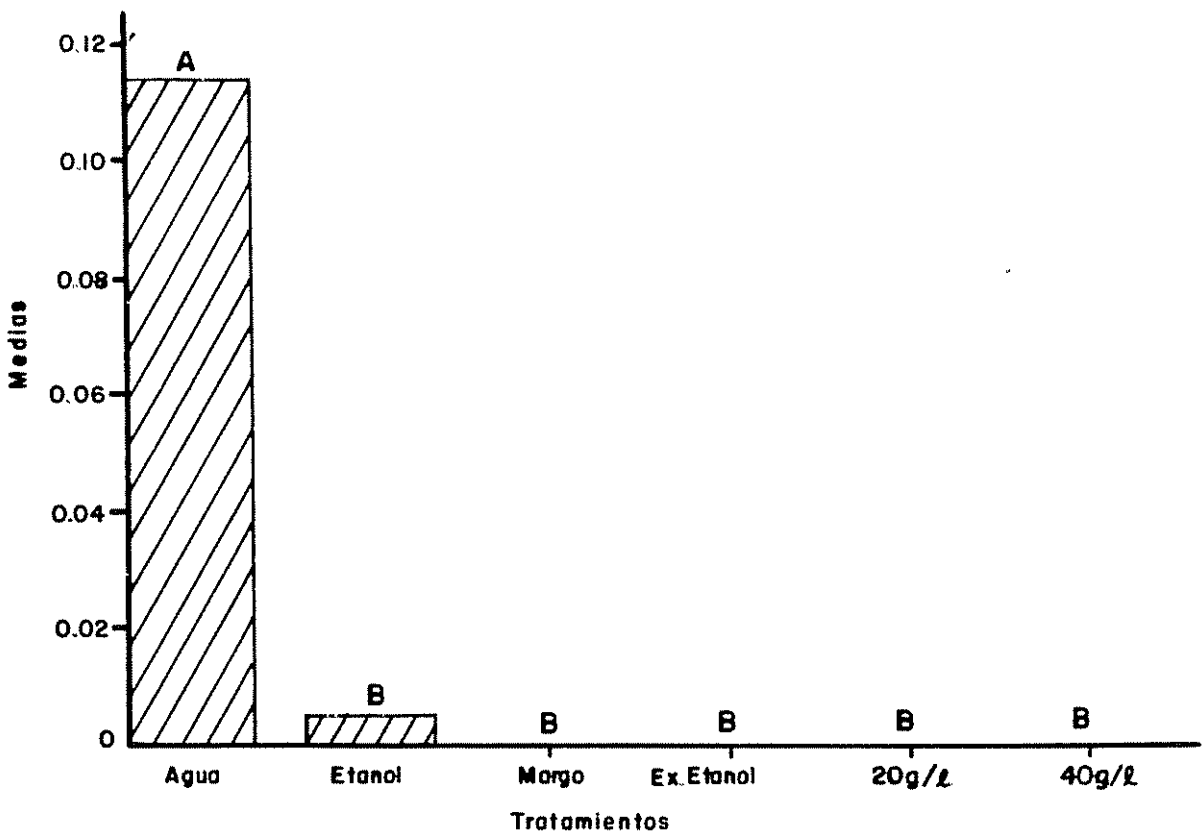


Figura 9 Porcentaje de defoliación por cada tratamiento con C. ruficornis

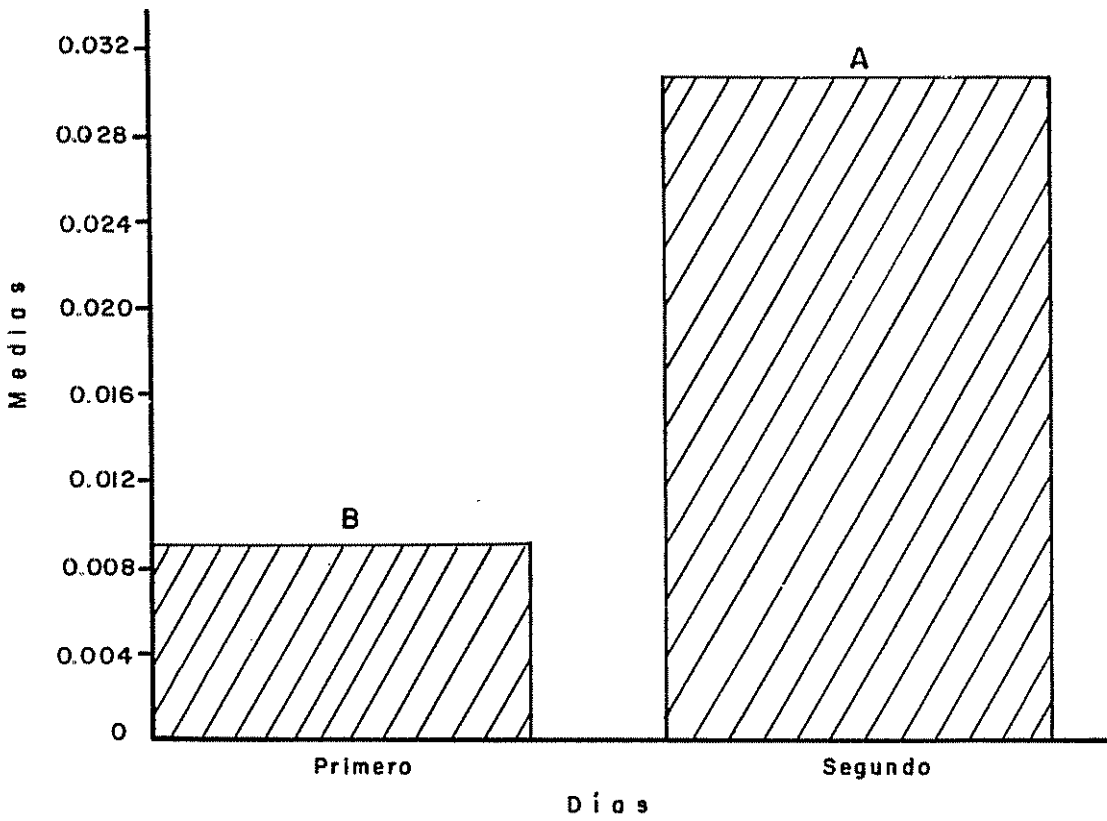


Figura 10 Total de defoliación para cada día con C. ruficornis

Cuadro 15. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación para la prueba antialimentaria con *Cerotoma ruficornis*.

Grupo Duncan	Medias	Tratamiento
a	0,114	Agua
b	0,005	Etanol
b	0	Margosan-o
b	0	Ex.Etanólico
b	0	Ex. 20g/l
b	0	Ex. 40g/l

Medias con letras iguales no son diferentes significativamente

Como se presentó significancia en la interacción tratamiento-día, se hizo una prueba de Duncan para estas dos variables, observándose que el testigo agua difiere con respecto a los días, siendo mayor el porcentaje de defoliación del primer día (Cuadro 16). Este mismo tratamiento es el que presenta mayor defoliación con respecto a los otros en los dos días. O sea que los productos a base de neem si ejercieron un efecto en el comportamiento alimenticio de los adultos.

Cuadro 16. Prueba de Duncan. Medias del porcentaje de defoliación por tratamiento para cada día con *Cerotoma ruficornis*.

Medias		Tratamientos
Primer día	Segundo día	
a 0,174	a 0,054	Agua
b 0,010	a 0	Etanol
b 0	a 0	Margosán-o
b 0	a 0	Ex. Etanólico
b 0	a 0	Ex. 20g/l
b 0	a 0	Ex. 40g/l

Medias con letras iguales no son diferentes significativamente.

4.4.3 Observaciones Generales

Se pudo observar que al tomar los datos a las 48 horas, el daño que hicieron los insectos en algunas hojas fue superficial, especialmente en el tratamiento con etanol. También se observó que en algunos casos los adultos muestran poco movimiento en los tratamientos acuosos y etanólicos. Este comportamiento, similar al de la especie *Diabrotica*, nos indica que posiblemente existe un efecto paralizante de los productos en los insectos que afecta su comportamiento e inhibe el estímulo de alimentación. Ese hecho de causar poco movimiento en los insectos coincide con las pruebas de repelencia en este trabajo, donde también se observa un efecto "paralizante" que podría estar combinado y actuar de esa forma sobre el movimiento y el comportamiento alimenticio de estas especies. El factor tiempo es un aspecto que hay que considerar en los resultados. Schwinger, et al (1983), consideran que 24 horas es una duración óptima en pruebas de antialimentación con larvas de *Epilachna varivestis* (Muls). Las condiciones de los adultos y del substrato utilizado también puede incidir en la actividad alimentaria.

4.5 Pruebas de campo

4.5.1 Primer Ciclo

Se realizaron cuatro aplicaciones de los tratamientos, de las cuales dos de ellas fueron afectadas por períodos lluviosos intensivos,

lo que impidió una evaluación sistemática. Por esta razón se evaluó únicamente dos fechas pre y posteriores a las aplicaciones.

Los promedios de daño de las dos fechas fueron analizados con un análisis de covarianza, utilizando como covariable el daño de las fechas anteriores a las aplicaciones, con el propósito de determinar si hubo efecto diferente del daño en estas fechas que influyera sobre los resultados de los tratamientos. El análisis muestra diferencias altamente significativas para los tratamientos y entre las fechas. La covariable no muestra significancia, lo que nos indica que el daño inicial fue uniforme para todos los tratamientos en las diferentes fechas. La interacción tratamiento-fecha no muestra ninguna significancia, lo que indica que el efecto de los tratamientos es independiente de las fechas (Cuadro 17).

Cuadro 17. Análisis de covarianza de la variable daño. Primer ciclo de campo.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV
Bloques	3	0,0035	0,0012	0,10	0,9613	7,1065
Tratamientos	4	0,6585	0,1646	13,32	0,0002***	
Error (a)	12	0,1744	0,0145	1,37	0,2835	
Fechas	1	0,3462	0,3462	25,99	0,0002***	
Trat*fecha	4	0,0852	0,0213	1.61	0,2271	
Cova	1	0,0008	0,0008	0,09	0,7739ns	
Error (b)	14	0,1262	0,0090			
Total	39	1,8291				

*** Altamente significativo $P < 0.001$

Cuadro 18. Prueba de Duncan. Medias de la variable daño, para los distintos tratamientos. Primer ciclo de campo.

		Medias	Tratamientos
	a	1,6187	Agua
	b	1,0312	Metamidofos
c	b	0,7312	Margosan-o
c	d	0,4437	Ex. 20 g/l
	d	0,3250	Ex. 40 g/l

Medias con la misma letra, no son diferentes significativamente.

La prueba de Duncan para este análisis, muestra que los extractos acuosos no tienen diferencias significativas entre si en su efecto de reducir el daño; que no existe diferencia entre Margosán-o y el extracto acuoso de 20g/l; y que Metamidofos y Margosán-o se comportan semejantes. Aunque nosotros esperábamos un efecto drástico con el insecticida químico de referencia, las dosis muy bajas que usamos pueden haber influido en su efectividad. El comportamiento del testigo, el producto químico y Margosan-o, es diferente con el acuoso de 40g/l (Cuadro 18, Figura 11). El efecto entre los promedios de daño de las dos fechas se aprecia en el Cuadro 19 donde existe una diferencia entre la primera y segunda fecha evaluada, siendo mayor el porcentaje de defoliación de la segunda. En ambas fechas los extractos acuosos a base de neem se comportaron mejor que el testigo y que el producto químico. El efecto de los tratamientos se observa en todo el experimento, independiente de las fechas, y siempre el comportamiento de los extractos acuosos es el mejor. Estudios en frijol y soya en Centro y Norte América, mencionan que extractos de agua y alcohol de semillas de neem al 2% realizan buen control en plagas de

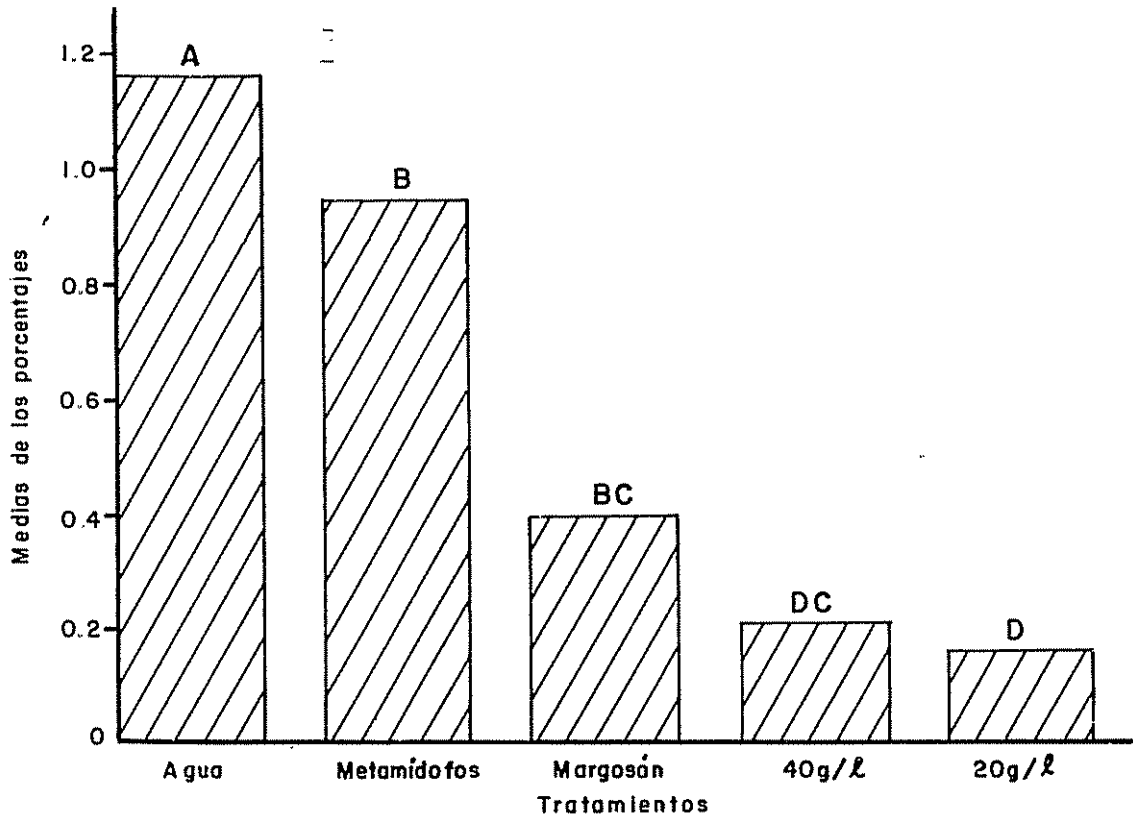


Figura II Total de daño por tratamiento en fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo

estos cultivos (Shmutterer y Hellpap, s.f.). Sin embargo, a pesar del efecto de los productos, el daño fue mayor para la segunda fecha posterior a la aplicación, de lo que puede deducirse que el daño fue aumentando progresivamente con el transcurso del tiempo, proporcional para cada fecha. como se aprecia en el Cuadro 19. Reed y Reed (1985), mencionan que intervalos menores entre aplicaciones con neem en vegetales, podrían ser necesarios para una mejor protección. El período de aplicación puede ser muy importante, sobre todo si está relacionado con las fases mas susceptibles del insecto. Por ejemplo, aplicando en los períodos de inmigración de *L. decemlineata*, cuando su proceso de oviposición no es activo, constituye un eficiente control de esta plaga (Shmutterer y Hellpap, s.f.)

Cuadro 19. Prueba de Duncan. Medias de la variable daño para las fechas posteriores a la aplicación. Primer ciclo de campo.

Grupo Duncan	Medias	Fechas
a	1,0825	Segunda
b	0,5775	Primera

La fluctuación del daño se mantuvo bastante uniforme hasta los 30 días, luego tiene un pico máximo cerca de los 40 días, observándose que Metamidofos es el que presenta mayor daño, comparado al tratamiento acuoso de 40 gl, que es el de menor daño. Con la cuarta aplicación el daño baja drásticamente en todos los tratamientos a excepción del de 40g/l, que no sufre picos máximos. La tendencia del daño, hasta los 50 días, es de subir. A pesar del efecto de la lluvia, los extractos

acuosos de neem en las dos últimas aplicaciones, logra un efecto que es superior a Margosán-o y Metamidofos (Figura 12).

El incremento de daño entre las fechas previas y posteriores a las aplicaciones, fue analizado por medio de un análisis de varianza (Cuadro 20). Los resultados muestran que solo el testigo tuvo significancia en el incremento de daño de las fechas posteriores a las aplicaciones con respecto a los otros tratamientos (Cuadro 21, Figura 13). entre fechas no hay diferencias significativas (Cuadro 22, Figura 14).

Cuadro 20. Análisis de varianza para el incremento de daño. Primer ciclo de campo.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV
Bloques	3	0,0736	0,0245	3,13	0,0395*	8,24
Tratamientos	4	0,1025	0,0256	3,27	0,0238*	
Fechas	1	0,0059	0,0059	0,75	0,3931	
Error (b)	31	0,2427	0,0078			
Total	39	0,4247	0,0109			

* Significativo $P < 0.05$

Cuadro 21. Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño por cada tratamiento, en las fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo.

	Medias	Tratamientos
a	0,3937	Agua
b	0,1387	Metamidofos
b	0,1187	Ex. 20g/l
b	0,1137	Margosán-o
b	0,0500	Ex. 40g/l

Medias con la misma letra, no son diferentes significativamente.

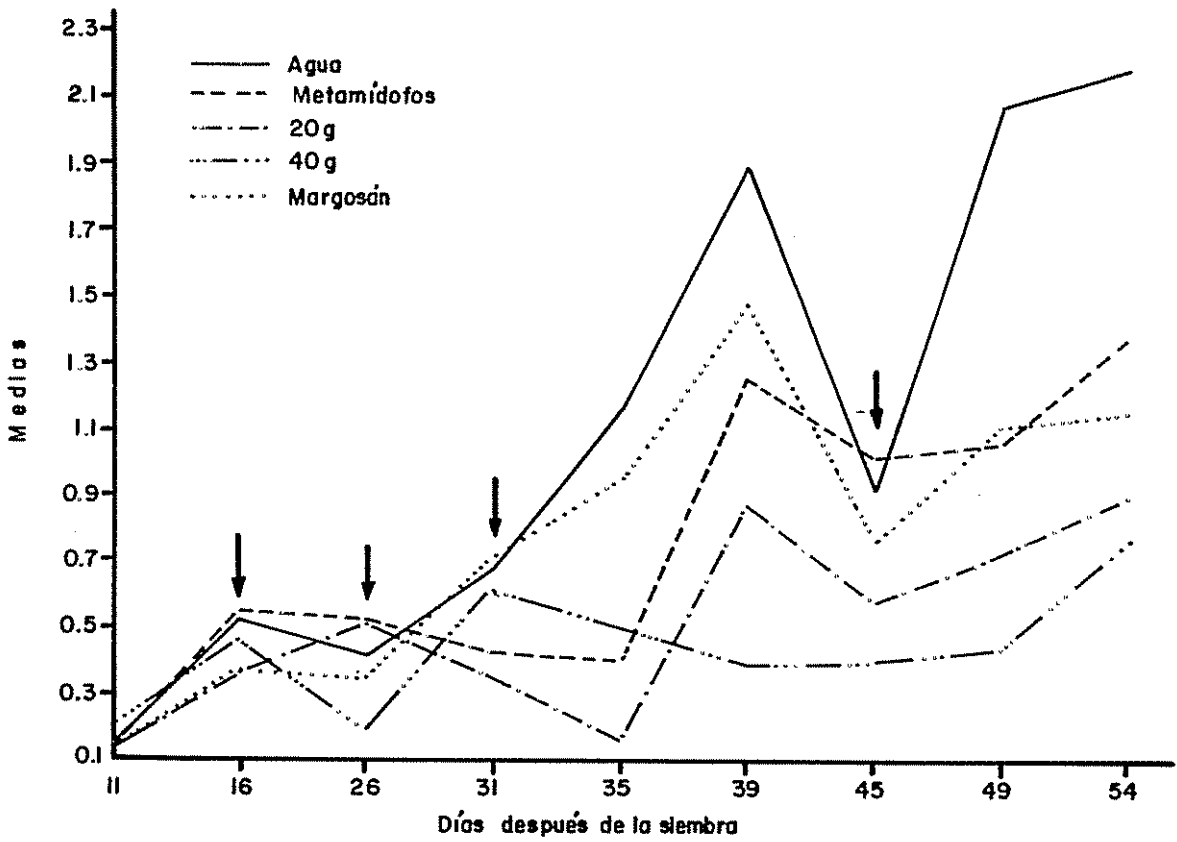


Figura 12 Fluctuación del daño relacionado con los diferentes tratamientos. Primer ciclo de campo

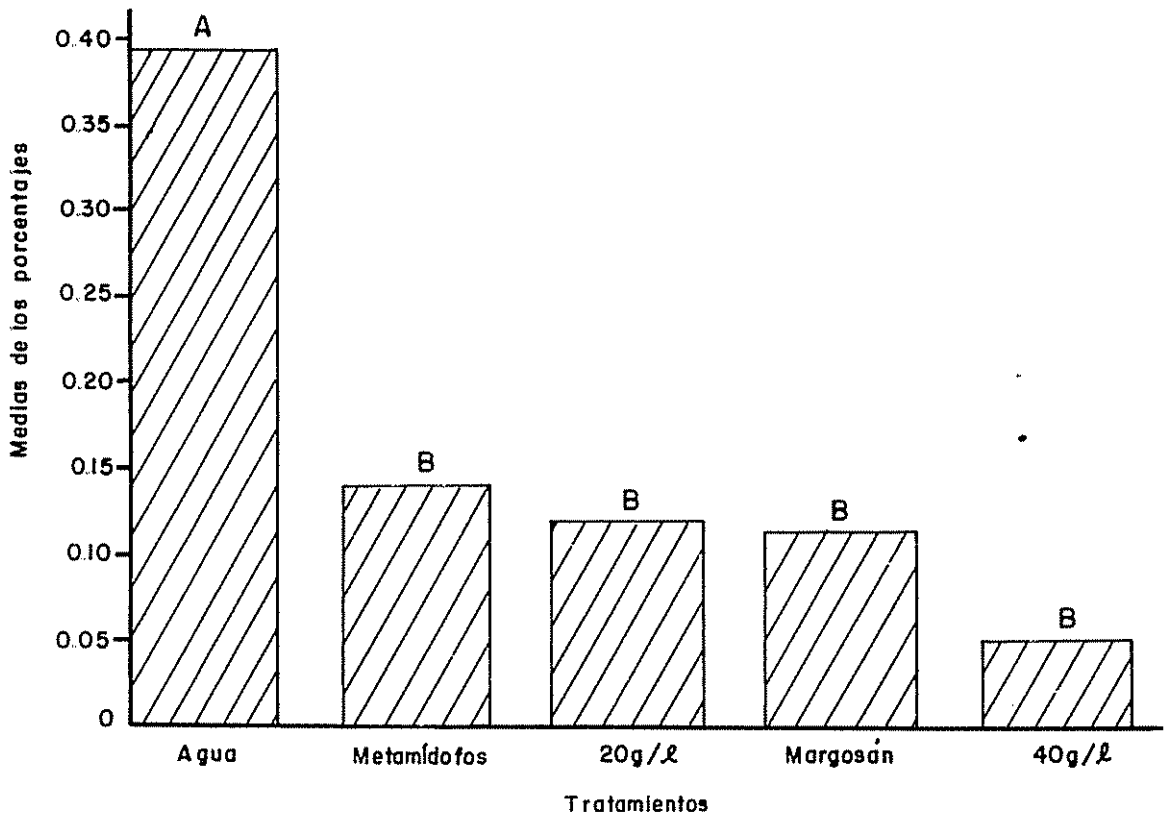


Figura 13 Incremento de daño por tratamiento . Primer ciclo de campo

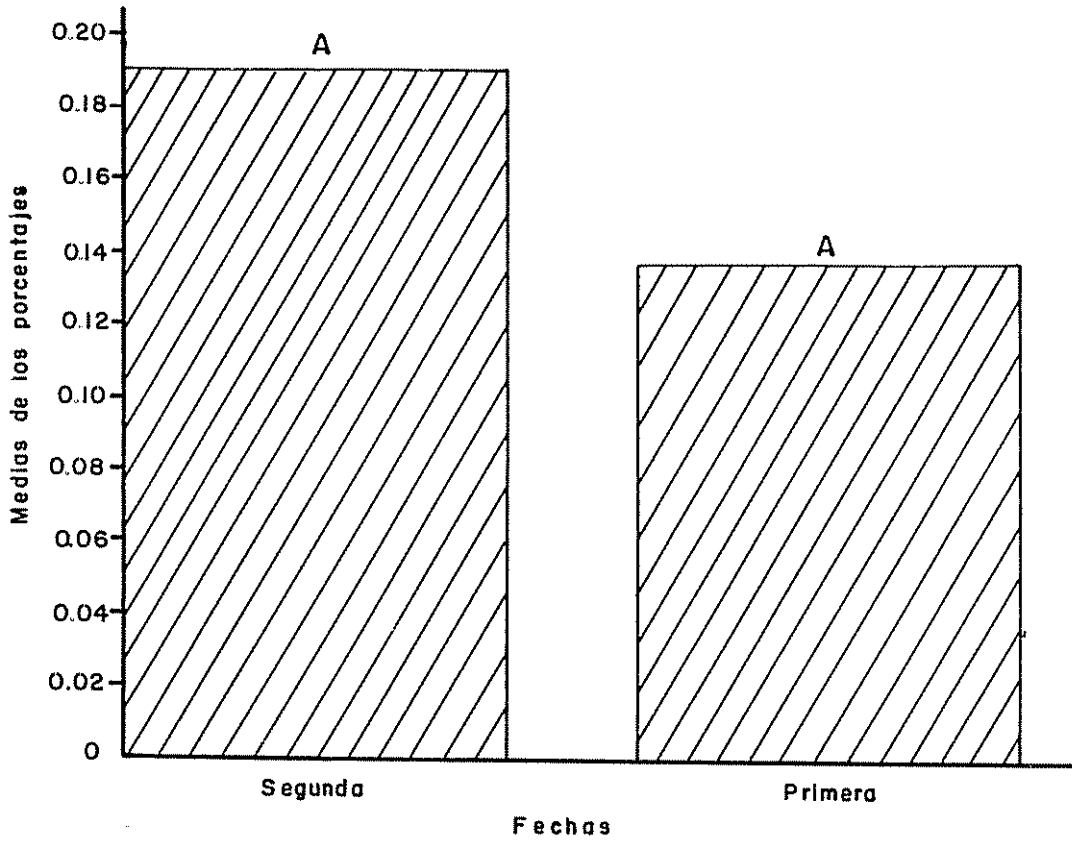


Figura 14 Incremento de daño para las fechas posteriores a la aplicación. Primer ciclo de campo

Cuadro 22. Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño para las fechas posteriores a las aplicaciones. Primer ciclo de campo.

	Medias	Fechas
a	0,18950	Segunda
a	0,13650	Primera

Medias con la misma letra no son diferentes significativamente.

4.5.2. Segundo ciclo

En el segundo ciclo se hicieron tres aplicaciones comprendidas en los primeros 40 días después de la siembra. Para los datos del daño se hizo un análisis de covarianza en parcelas divididas en el tiempo, utilizando como covariable los valores de daño de las fechas previas a las aplicaciones, con el propósito de determinar la variación del daño antes de aplicar los tratamientos. El análisis nos muestra una diferencia significativa y muy significativa entre las fechas y los tratamientos respectivamente. La covariable en este caso no fue significativa, lo que nos indica que las poblaciones iniciales fueron uniformes y que el daño inicial evaluado no tuvo diferencias significativas (Cuadro 23). La prueba de Duncan para los diferentes tratamientos muestra que el testigo agua es el único que difiere significativamente de los otros tratamientos que muestran menor porcentaje de daño, aunque el mejor comportamiento lo tiene Metamidofos, seguido del extracto acuoso a la dosis de 40 g/l más adherente (Cuadro 24, Figura 15). Los productos a base de neem no difieren significativamente entre ellos.

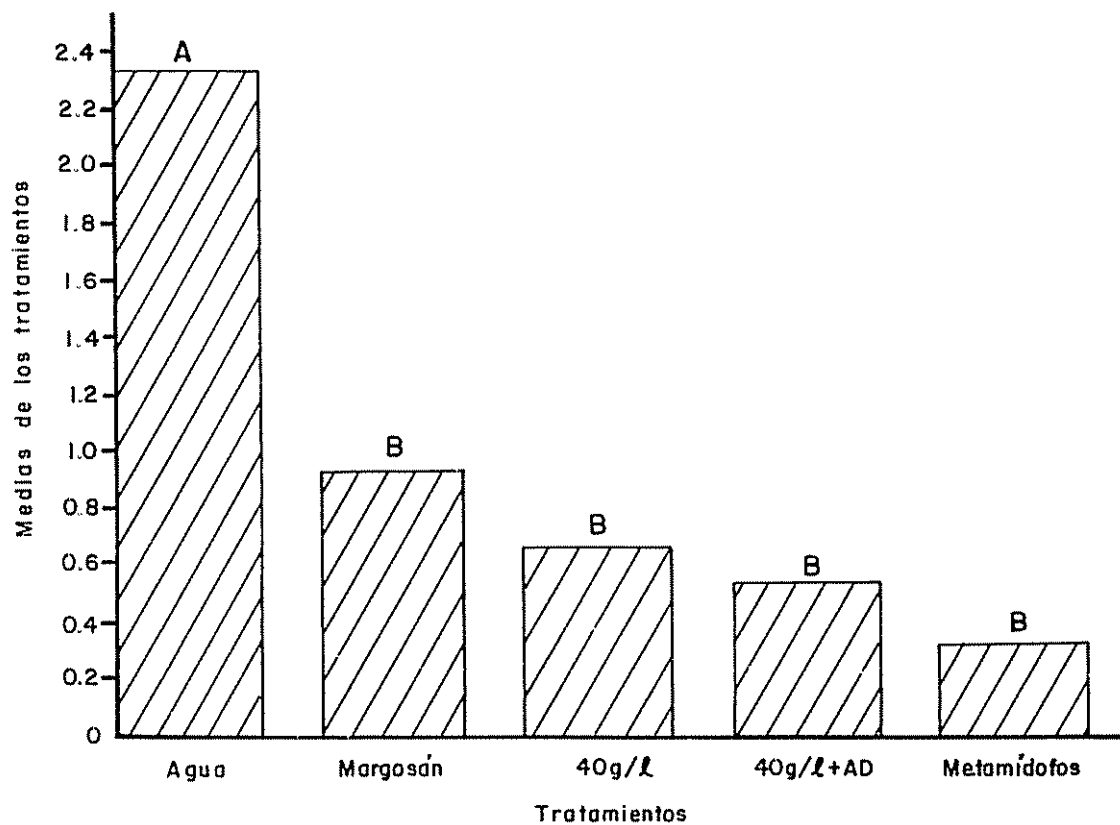


Figura 15 Total de daño por tratamiento en las fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo

Los promedios de daño de las fechas presentan una diferencia significativa entre la primera y tercera fecha, con mayor porcentaje de defoliación en la primera, lo que nos indica que el promedio de daño bajó durante el período de estudio (Cuadro 25, Figura 16). Es claro ver la diferencia entre el producto químico y el testigo, sin embargo se puede apreciar que los extractos acuosos no difieren con Metamidofos y el extracto acuoso con adherente no parece tener significancia con respecto al que no tenía adherente.

La fluctuación del daño presenta un comportamiento un poco diferente al del primer ciclo. Al inicio el daño es bastante uniforme, posteriormente se incrementa bruscamente para el testigo, mientras los otros tratamientos mantienen un promedio de daño bastante uniforme. Con la segunda aplicación, todos los tratamientos presentan baja en el daño, a excepción del testigo que continúa subiendo hasta alcanzar el pico máximo a los 25 días, posteriormente el daño se mantiene para los tratamientos a base de neem. El efecto en Metamidofos es un aumento drástico del daño, para volver a bajar después de la tercera aplicación. El testigo, luego de ese pico máximo, baja drásticamente, talvez por algún factor que podría ser los enemigos naturales, y comienza a subir nuevamente. En ningún momento alcanzó poblaciones muy bajas. En general el daño tiende a subir un poco después del último recuento, (Figura 16).

Podemos apreciar entonces, que aunque no hubo diferencias significativas entre los diferentes productos, (Figura 17) si se logró bajar el porcentaje de daño y mantenerlo sin alteraciones bruscas. Información similar se menciona por Reed y Reed (1985) con adultos de

Cuadro 23. Análisis de covarianza de la variable daño. Segundo ciclo de campo.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV	
Bloques	3	0,1813	0,0604	2,37	0,2988	12,55	-
Tratamiento	4	1,8351	0,4588	10,41	0,0007**		-
Error (a)	12	0,6946	0,0579	1,51	0,1771		
Fecha	2	0,2218	0,1109	4,48	0,0202*		
Trat*fecha	8	0,6048	0,0756	1,77	0,1251		
Cova	1	0,0604	0,0604	2,07	0,1610		
Error (b)	29	0,8469	0,0292				
Total	59	6,1441	0,1041				

* Significativo $P < 0,05$

** Muy significativo $P < 0,01$

Cuadro 24. Prueba de Duncan. Medias de la variable daño, para los distintos tratamientos. Segundo Ciclo de campo.

	Medias	Tratamiento
a	2,3250	Agua
b	0,9250	Margosan-o
b	0,6625	Ext.acuoso 40 g/l
b	0,5883	Ext.acuoso 40 g/l Ad
b	0,3275	Metamidofos

Medias con la misma letra no son diferentes significativamente.

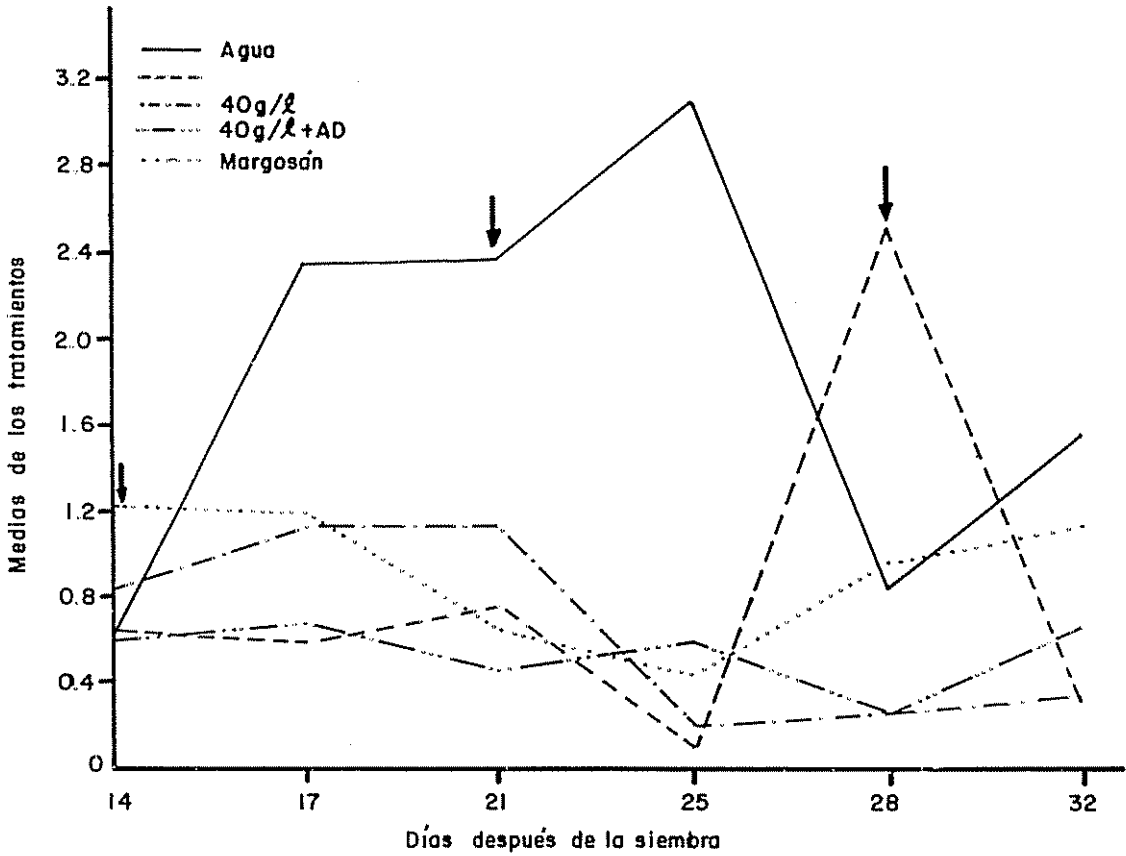


Figura 16 Fluctuación del daño relacionado con los diferentes tratamientos. Segundo ciclo de campo

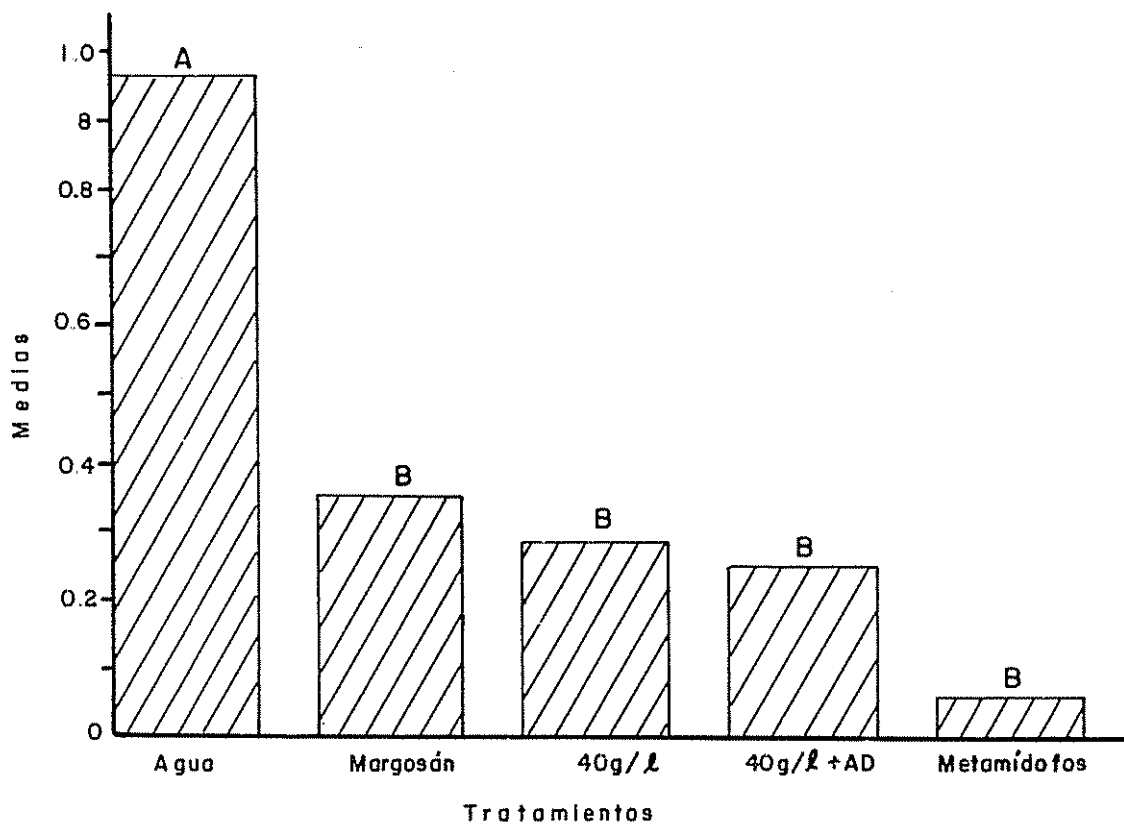


Figura 17 Incremento de daño por tratamiento. Segundo ciclo de campo

crisomélidos, donde la diferencia entre los productos a base de neem no fue significativo, pero el daño fue menor.

La diferencia de resultados entre los productos con respecto a la primera prueba, nos inclina a pensar que puede haber un efecto de las radiaciones ultravioletas. Sin embargo, en el primer período aunque hubo diferencias entre los productos, el daño foliar tuvo un incremento paulatino hasta final del estudio para todos los tratamientos. Es decir el efecto de la lluvia puede disminuir la acción del producto en el tiempo, pero al momento de la evaluación se logra detectar la diferencia entre los productos. En cambio, la radiación ultravioleta puede disminuir el efecto por igual para todos los tratamientos. Se ha determinado que la radiación ultravioleta reduce drásticamente el contenido de azadirachthin (Smutterer y Hellpap, s.f.). Es posible también que en estas condiciones del estudio, se necesiten dosis mas altas y frecuencia de aplicaciones mas cortas. Hongo (1986), recomienda intervalos menores entre aplicaciones. En el caso de los crisomélidos los estadios larvales pudieran ser mas susceptibles, entoces aplicaciones en las etapas de plántulas y aplicaciones a las raíces, como posible efecto sistémico, tendrían que ser evaluados.

Por los resultados pareciera ser que la época seca incide de una manera mas negativa que las precipitaciones, talvez por la descomposición de los productos más rápidamente, por efecto de las radiaciones solares.

Cuadro 25. Prueba de Duncan. Medias de la variable daño para cada fecha posterior a la aplicación. Segundo ciclo de campo.

	Medias		Fechas
a	1,1880		1ª fecha
b a	0,8825	-	2ª fecha
b	0,7965		3ª fecha

Medias con la misma letra no son diferentes significativamente

El incremento de daño entre las fechas previas y posteriores a las aplicaciones, fue analizado por medio de un Andeva el cual muestra que hubo valores significativos y muy significativos para las fechas y los tratamientos respectivamente (Cuadro 26). Las fechas muestran diferencias significativas entre ellas. La primera y la tercera fecha difieren de la segunda, que tiene menor porcentaje de daño, pero esta última no muestra diferencias con respecto a la tercera. Podemos decir entonces que entre la primera y segunda fecha es que existe diferencia realmente en el incremento del daño. (Cuadro 27, Figura 18). Los tratamientos, igual que en el primer ciclo, difieren todos del testigo agua, aunque en este caso no difieren entre si (Cuadro 28).

Los promedios mensuales de precipitación durante el período de estudio se pueden apreciar en la Figura 19.

Cuadro 26. Análisis de varianza para el incremento de daño. Segundo ciclo de campo.

Fuente	gl	Sc	CM	F	P	CV
Bloque	3	0,1063	0,0354	1,04	0,3830	15.96
Tratamiento	4	0,8119	0,2029	5,96	0,0005**	
Fecha	2	0,1819	0,0909	2,67	0,0791*	
Error	50	1,7033	0,0341			
Total	59	2,8035	0,0475			

* Significativo $P < 0.05$

** Muy significativo $P < 0.01$

Cuadro 27. Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño para las tres fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo.

	Medias	Fechas
a	0,5855	Primera
b a	0,3565	Tercera
b	0,2100	Segunda

Medias con la misma letra no son diferentes significativamente.

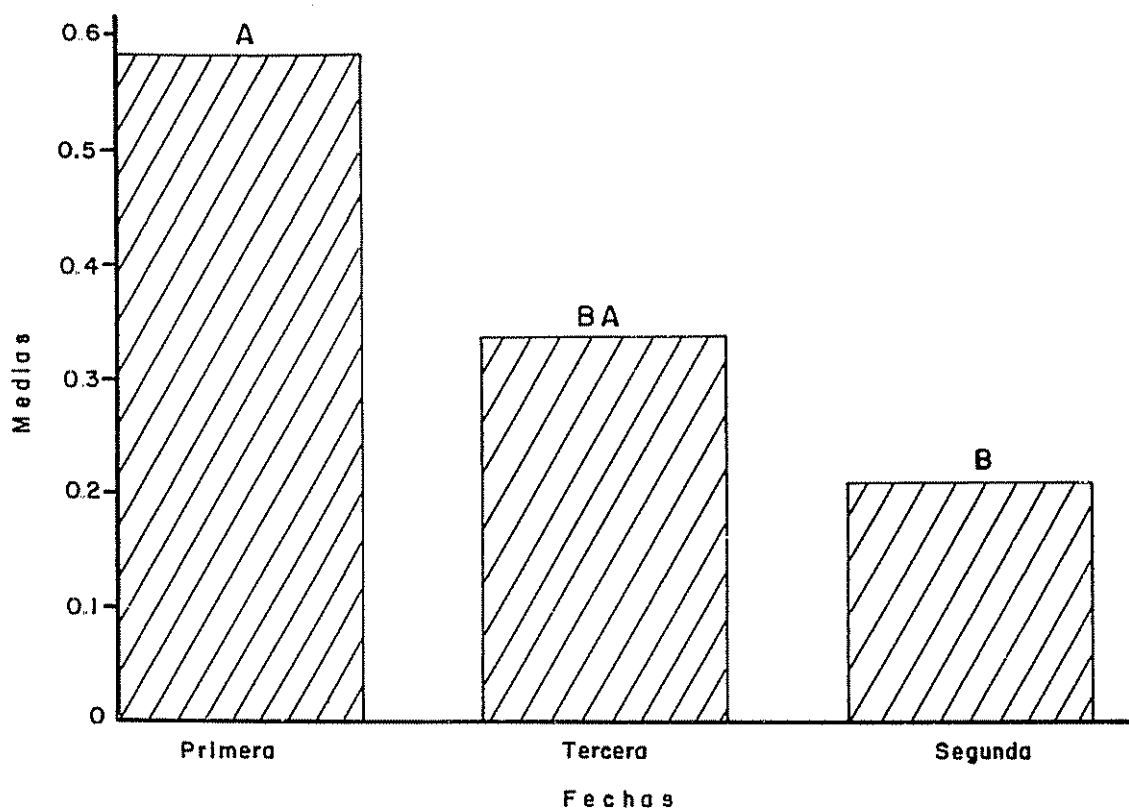


Figura 18 Incremento de daño para las tres fechas posteriores a la aplicación. Segundo ciclo de campo

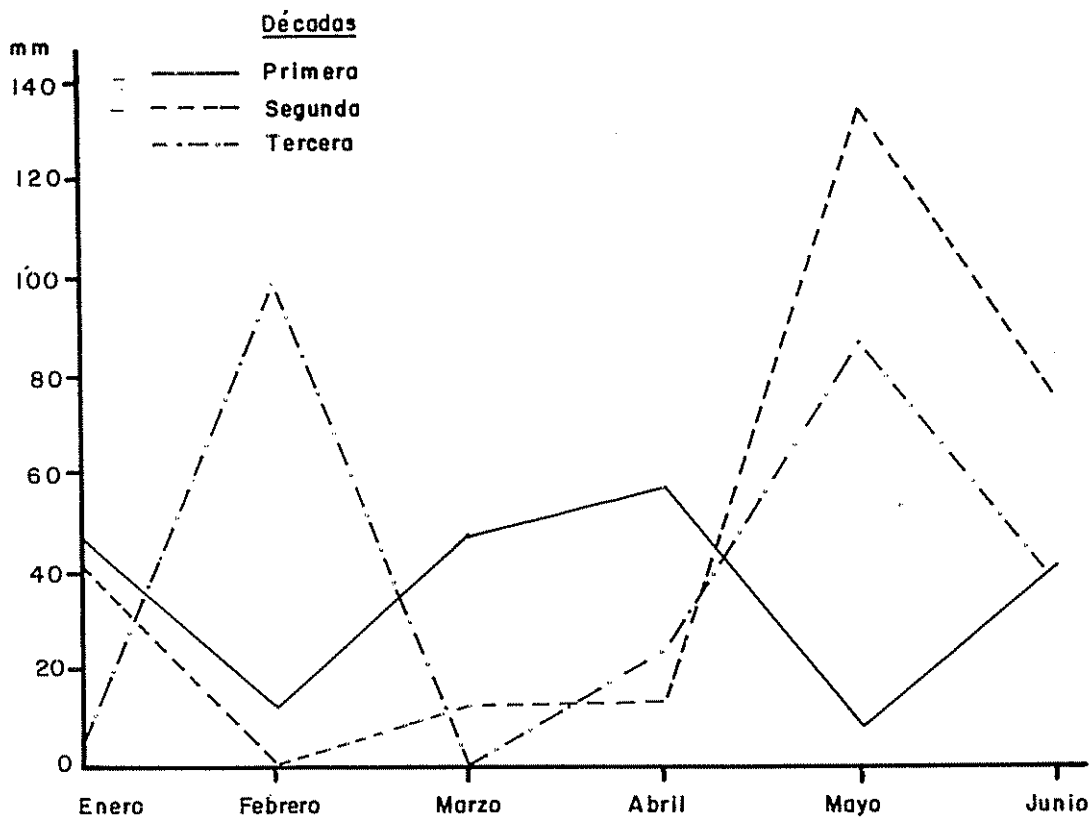


Figura 19 Promedios mensuales de precipitación en el CATIE,
Turrialba, Costa Rica, 1989

Cuadro 28. Prueba de Duncan. Medias del incremento de daño por cada tratamiento, en las fechas posteriores a las aplicaciones. Segundo ciclo de campo.

	Medias	Tratamientos
a	0,9667	Agua
b	0,3542	Margosan-o
b	0,2875	Ex.acuoso 40 g/l
b	0,2508	Ex.acuso 40 g/l + adh
b	0,0608	Metamidofos

Medias con la misma letra no son diferentes significativamente.

4.6 Presencia de áfidos

En el primer ciclo se presentaron poblaciones de áfidos de la especie *Aphis craccivora* (identificación por Roger Meneses, 1989, Costa Rica). Las poblaciones se iniciaron aproximadamente a la tercera semana de edad y se mantuvieron bajas hasta alcanzar poblaciones altas a la sexta semana generalizándose en todo el cultivo. Al inicio no se quiso hacer ninguna aplicación por considerar que podría interferir en los resultados de neem. Sin embargo, al aumentar las poblaciones, se decidió la aplicación de Orthene 95%, en una dosis de 30g/ bomba de 16 de litros, en vista que no se hayó en el mercado local un producto específico para áfidos. El propósito era tratar de salvar la cosecha.

A pesar de esta medida, el efecto de la virosis y las altas poblaciones de este insecto, no permitieron evaluar cosecha por el grave efecto que causaron en las plantas.

En el segundo ciclo las poblaciones de áfidos fueron muy bajas, pero siempre se presentó una infección generalizada de virosis. *Aphis craccivora*, se menciona como un vector importante del Virus Mosaico del caupí y generalmente se concentra en leguminosas y en condiciones de sequía (Eastop, 1983; Smith, 1972). Esta especie no fue afectada por los extractos de neem y el hecho de no haber aplicado un producto químico en el inicio de la infestación, mas el período seco que se presentó, ayudó a que las poblaciones se incrementaran rápidamente.

4.7 Presencia de virosis

Para ambos ciclos de cultivo, la presencia de virosis fue muy alta. Aunque su diagnóstico serológico no fue posible, se cree que la raza que predominó fue el Mosaico del frijol de costa (VMFC), aunque también hubo mezcla de dos o tres grupos como el Mosaico Rugoso del frijol y Moteado Clorótico (4). El virus moscuco severo del caupí ya ha sido reportado para este cultivo (CAB, 1979).

En el primer ciclo los primeros síntomas de virosis se inician a los 30 días, coincidiendo con las primeras poblaciones de áfidos. Posteriormente hubo una infección generalizada en todo el campo. Posiblemente las primeras infecciones se originaron de poblaciones infectivas de crisomélidos que se presentan con las primeras plántulas. En el segundo ciclo el comportamiento es similar. Se inicia cerca de los 35 días y luego se generaliza, pero con menor incidencia que en el primer ciclo.

(4) Rivera, C. 1989. Comunicación personal, U.C.R., San José, Costa Rica.

Aunque neem tuvo un efecto sobre el daño causado por crisomélidos, no influyó en la incidencia de virosis. Consideramos que la enfermedad está relacionado directamente con el nivel de inóculo inicial que presenten poblaciones de crisomélidos. Poblaciones de estos insectos que económicamente no son importantes en su daño foliar, pueden sin embargo ser fuertes transmisoras de virosis. Además las características de gran movilización que poseen estas especies, las hacen excelentes vectores de enfermedades Thresh, (1974).

La diseminación del virus no tuvo un patrón definido, quizás por el movimiento continuo de los adultos de una planta a otra, facilitando así nuevas infecciones González, (1978).

Tradicionalmente en "La Montaña" se ha sembrado leguminosa para diferentes estudios y permanentemente existen campos cultivados, razón que determina una fuente de inóculo permanente del patógeno.

Sería muy importante probar dosis y frecuencia de aplicaciones de los diferentes extractos, para comprobar efectivamente si tiene alguna influencia en la transmisión de virosis. El mayor efecto de los virus en caupi y especialmente del (CPMV), es sobre la producción de granos, cuando las plantas son infectadas al inicio de su desarrollo, por esta razón aplicaciones tempranas, inmediatamente después de la germinación, pueden brindar una mejor protección, disminuyendo el inóculo inicial del virus.

4.8 Especies de Crisomelidos

En los dos ciclos, las dos especies que predominaron fueron: *Cerotoma ruficornis rogersi* y *Diabrotica balteata*. Su densidad varió intermitentemente pero en el primer ciclo las poblaciones de *Diabrotica* fueron mayores al inicio pero luego *Cerotoma* fue la que predominó. En el segundo ciclo *Cerotoma* fue la que inició las poblaciones pero al final de la cuarta semana predominaron adultos de *Diabrotica*.

Las especies estudiadas se comportaron similarmente a observaciones hechas en estudios con estos insectos. Pareciera que existe una competencia entre ambos, que permite que su aparición sea de una manera alternada (González, 1978; Shannon y King, 1980).

Otras especies de crisomelidos también se encontraron, sin embargo sus poblaciones no fueron evaluadas.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

5.1.1 Condiciones de laboratorio

1- El extracto etanólico se comportó como el mejor repelente contra las dos especies en estudio.

2- Margosan-o no presentó ninguna característica de repelencia con ninguna de las dos especies en estudio.

3- El efecto antialimentario de los productos a base de neem que fueron evaluados, fue significativo en comparación con los testigos.

5.1.2 Condiciones de campo

1- Los extractos acuosos no mostraron diferencias significativas entre ellos respecto a disminuir el daño foliar de los crisomélidos.

2- El extracto acuoso aplicado en el campo con adherente, no mostró diferencias con respecto al que no tenía adherente.

3- Los extractos acuosos en el campo se comportaron en general, mejor que Margosan-o

4- Los productos a base de neem, lograron bajar el porcentaje de daño por crisomelidos, pero no disminuyeron la incidencia de virosis.

5.2 Recomendaciones

1- Realizar mayor número de pruebas en laboratorio y/o invernadero, con el propósito de ajustar parámetros como tiempo, número de adultos, dosis, concentraciones, etc.

2- Realizar estudios con los estados larvales.

3- Realizar pruebas de dosis y frecuencias de aplicaciones.

4- Hacer pruebas de campo con el extracto etanólico.

5- Evaluar la transmisión de virosis por crisomélidos y su relación con las frecuencias de aplicaciones.

6. LITERATURA CITADA

- AGROQUIMICOS 1987. El utilísimo Neem. Agricultura de las Américas. Año 36
3:28-34.
- BECK, S.D. 1965. Resistance of plants to insects. Annual Review of
Entomology (EE.UU.) 10: 207-232.
- BUSVINE, J.R. 1971. A critical review of the techniques for testing
insecticides. 2 ed. Londres, CAB 229-261 p.
- BUTTERWORTH, J.H.; MORGAN, E.D. 1968. Isolation of a substance that
suppresses feeding in locusts. Chemical Communications (G.B.) :
23-24.
- _____ ; MORGAN, E.D. 1971. Investigation of the locust
feeding inhibition of the seed of the neem tree, *Azadirachta
indica*. Journal of Insect Physiology (EE.UU.) 17: 969-977.
- _____ ; MORGAN, E.D. 1971. Investigacion of the seeds of the
neem tree, *Azadirachta indica*. Journal of Insect Physiology
(EE:UU.) 17: 601-606.
- CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA. 1983. Resumen
de datos metereológicos desde la iniciación de observaciones hasta
diciembre de 1982. Turrialba, Costa Rica. 1 p.
- COMMONWEALT AGRICULTURAL BUREAUX, ASSOCIATION OF APPLIED BIOLOGISTS.
1979. Description of plant viruses. Cowpea severe mosaic virus.
No. 209. p.
- DETHIER, V.G. 1947. Chemical insect attractants and repellents.
Blakiston, Philadelphia. 289 p.
- _____. 1956. Repellents. Annual Review of Entomology (EE.UU.)
1: 181-202.
- _____ ; BARTON, B.L.; SMITH, C.N. 1960. The designation of
chemical in terms of the responses they elicit from insects.
Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 53(1): 139-136.
- DREYER, M. 1984. Effects of aqueous neem extracts and neem oil on the
main pests of cucurbita pepo in Togo. In Natural peticides from the
neem tree and other tropical plants. Ed. H. Schmutterer; K.R. S.
Ascher. Alemania. GTZ. p 435-451.
- EASTOP, V.F. 1983. The biology of the principal aphid virus vectores.
In Plant virus epidemiology. Oxford Blackwell Scientific
Publications. p. 116-132.

- FUENTES, G.; KAZAN, P.; WILLE, A. 1970. Introducción al estudio del orden Coleoptera. Edición provisional. San José, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía, p. (Publicaciones de la Universidad de Costa Rica en Serie Agronómica N°14).
- GAMEZ, R. 1972. Los virus del frijol en Centro América 2. Algunas propiedades y transmisión por Crisomelidos del virus del mosaico rugoso del frijol. Turrialba (C.R.) 22: 249-257.
- _____. 1976. Los virus del frijol en Centro América 4. Algunas propiedades y transmisión por insectos Crisomelidos del virus del moteado amarillo del frijol. Turrialba (C.R.) 26(2): 160-166.
- _____; MORENO, R.A. 1983. Epidemiology of beetleborne viruses of grain legume in Central America. In Plant virus epidemiology. Oxford, Blackwell Scientific Publications. p. 103-113.
- GIL, J.S.; LEWIS, C.T. 1971. Systemic action of an insect feeding deterrent. Nature (G.B.) 232:402-403.
- GONZALEZ, A.C.E. 1978. Identidad, transmisión por insectos crisomelidos y epifitología de virus del frijol de costa (*Vigna unguiculata* L. Walp) en Costa Rica. Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica. 77 p.
- GRANT, I. P.; SEEGER, R.; WATANABE, I. 1983. Increasing biological nitrogen fixation in flooded rice using neem. In Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Ed. Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. p 493-506.
- HARE, D.J.; LOCAN, P.A.; WRIGHT, R.J. 1983. Suppression of colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say), (Coleoptera: Chrysomelidae) populations with antifeedant fungicide. Environmental Entomology (EE.UU.) 12: 1470-1477.
- HELLPAP, C. 1983. Effects of neem kernel extracts on the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. In Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Ed. Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. p 353-363.
- _____. 1985. Ecología poblacional y control biológico-biotécnico de *Spodoptera en Nicaragua*. Ph.D Thesis. Frankfurt, Universidad de J. W. Alemania. 133 p.
- HOLDRIGE, 1978. Ecología basada en zonas de vida. Trad. al español por H. Jiménez. San José, Costa Rica, IICA, 216 p.
- HONGO, H.; KAREL, A.K. 1986. Effect of plant extracts on insect pests of common blons. Journal of Applied Entomology (Alemania) 102: 164-169.

- HORN, D.J. 1988. Ecological Approach to pest management. New York, Guilford Press. 285 p.
- IUBIJARO, M.F. 1984. Preservation of cowpea, *Vigna unguiculata* (L) Walp with the neem seed, *Azadirachta indica* A. Jus. Neem. Newsletter 1(4): 47.
- JACOBSON, M. 1966. Chemical insect attractants and repellents. Annual Review Entomology (EE.UU.) 11:403.
- _____. 1982. Plants, insects and man-their interrelationships. Economic Botany (EE.UU.) 36(3): 346-354.
- JILANI, G.; SAXENA, R.C.; RUEDA, B.P. 1988. Repellent and growth-inhibiting effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and "Margosan-0" on red flour beetle (Coleoptera: terebrionidae). Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 81(4): 1226-1230.
- JOSHI, B.G.; RAMAPRASAD, G. 1975. Neem kernel as an antifeedant against the tobacco Caterpillar (*Spodoptera litura* F.). Phytoparasitica (Israel) 3(1): 59-61.
- _____; SITARAMAIAH, S. 1979. Neem kernel as an ovipositional repellent for *Spodoptera litura* (F.) Moths. Phytoparasitica (Israel) 7(3): 199-202.
- _____; RAMAPROSAS, G.; SITARAMAIAK, S. 1982. Effect of a neem seed kernel suspension on *Telenomus remus* on egg parasite of *Spodoptera litura*. Phytoparasitica (Israel) 10:61-63.
- KAREL, A.K.; RWEYIMONUM, C.L. 1984. Yield losses in field beans following foliar damage by *Oothea begnignis* (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology (EE.UU.) 77:762-765.
- KENNEDY, J.S. 1947. The excitant and repellent effects on mosquitoes of sublethal contacts with DDT. Bulletin of the Entomological Research (G.B.) 37: 593-607.
- KING, A.B.S. 1980. El efecto de diferentes densidades de *Diabrotica balteata* (Lec) y de *Ceratomyza ruficornis rogersi* (Jac) (Coleoptera: Chrysomelidae) en el rendimiento de frijol común. In Reunión Anual del PCCMCA (26, 1980, Guatemala). Memorias. Guatemala.
- KING, A.B.S.; SAUNDERS, J.L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Londres, CATIE/TDRI/ODA. 182 p.
- KOGAN, M. 1986. Plant defense strategies and host-plant resistance. In. Ecological theory and integrated pest management practice. Ed. por M. Kogan; J. Wiley. p 83-134.

- LADD, JUNIOR, T.L. ; JACOBSON, M.; BURIFF, C.R. 1978. Japanese beetles: Extracts from neem tree seed as feeding deterrents. *Journal of Economic Entomology* (EE.UU.) 71: 810-813.
- _____. JUNIOR. 1981. Neem seed extracts as feeding deterrents for the japanese beetle *Popillia japonica*. In *International Neem Conference* (1, 1980, Rottach-Eger). p 141-156 pp.
- _____. JUNIOR. 1984. The influence of azadirachtin on the growth and development of immature forms of the japanese beetle, *Popillia japonica*. In *Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants*. Ed. Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. p 425-434.
- LAVIE, D.; JAIN, M.K.; SHPAN-GABRIELITH, S.R. 1967. Alocust phagorepellent from two *Melia* species. *Chemical Communications* (G.B.). : 910-911.
- LEWIS. A.C.; VAN EMDEN, H.F. 1986. Assays for insect feeding. In *Insect-plant Interactions*. Ed. J. Miller; T. Miller. (New York, Springer-Verlag. p 95-119.
- NICARAGUA. MINISTERIO DE DESARROLLO AGROPECUARIO Y REFORMA AGRARIA. 1987. Proyecto: Estudio sobre producción del insecticida botánico de semillas del árbol Nim. Managua, Nicaragua, Dirección General de Agricultura. 34 p.
- _____. 1989. Evaluación subproyecto Nim-3. Managua, Nicaragua, Dirección General de Tecnología Agropecuaria. 13 p.
- US. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1982. Manejo y control de plaga de insectos. Tradu. al español por M. Rodríguez de la Torre. 3º edición. México, D.F., Limusa. 522 p.
- OLKOWSKI, W. 1987. Pest management library-old. & New. *IPMP*, 9(6-7): 14.
- _____. 1987. Update: Neem. A new era in pest control products? *IPMP*, 9(10): 1-8.
- _____.; OLKOWSKI, H. 1988. New Botanical Pesticids from the Meliaceae. *I.P.M.P.*, 10(9): 1-6.
- REED, D.K.; WARTHEN JUNIOR, J.D.; VEBEL, E.C.; REED, G.L. 1982. Effects of two triterpenoids from Neem on feeding by cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, (EE.UU.) 75(6): 1109-1113.
- _____.; REED, G.L. 1985. Control of vegetable insects with neem seed extracts. *Ind. Academy of Science*. 94: 335- 339.

- ROUT, G. 1986. Comparative efficacy of neem seed powder and some common plant product admixtures against *Sitophilus oryzae* (Linn) Neem. Newsletter 3(2): 13-14.
- SAXENA, R. C.; LIQUIDO, N.J.; JUSTO, H.D. 1981. Neem seed oil a potential antifeedant for the control of the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. In Internatioanal Neem Conference (1, 1980. Rollach-Eger) p. 171-178.
- SCHMUTTERER, H. 1981. Some properties of components of the neem tree (*Azadirachta indica*) and their use in pest control in developing countries. Mededelinger van de zandboumetenschappen Famlteit gent (Bélgica) 46(1): 39-47
- _____.; ZEBITZ, C.P.W.1984. Effect of methanolic extracts from seeds of single neem trees of African and Asian origin, on *Epilachna varivestis* and *Aedes aegypti*. In Natural pesticides the neem tree and other tropical plants. Ed. H. Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. p 83-90.
- SCHMUTTERER, H; HELLPAP, C. s.f. Effects of neem on pests of vegetables and fruit trees. 34 p.
- SCHWINGER, M.; EHHAMMER, D.; KRAUS, W. 1984. Methodology of the *Epilachna varivestis* bioassay of antifeedants demonstrated with some compounds from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*. In Natural pesticides the neem tree and other tropical plants. Ed. H.Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. p 181-198.
- SELMAN, B.J. 1973. Beetles-phytophagous. Coleoptera. In Virus and invertebrates. Ed.A.J. Gebbs, New York, American Observer Publishing Co.; New York. p 157-177.
- SHANNON, P.J.; ANDREW, B.S. KING. 1980. El efecto de barreras y del carbofurán en la incidencia de los vectores *Diabrotica balteata* (Lec) y *Cerotoma ruficornis rogersi* Jac. (Coleoptera: Crysomelidae) y la difusión del virus mosaico del frijol de costa (VMFC) en Turrialba, Costa Rica. In XXVI Reunión Anual del PCCMCA (26, 1980, Guatemala). Memorias. Guatemala. 7 p.
- SHARMA, H.C.; LEUSCHNER, K.; SANKARAM, A.V.B.; GONASEKHAR, D.; MARTNANDAMURTHI, M; BHASKARIAH, K.; SUBRAMAMYAM, M.; SULTANA, N. 1984. Insect antifeedants and growth inhibitors from *Azadirachta indica* and *Plumbago zeylanica*. In Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Jus) and other tropical plants. Ed. H. Schmutterer; K.R.S. Ascher. Alemania, GTZ. 291 p.
- SMITH, K.M. 1972. A textbook of plant virus diseases. 3^o ed. New York, Academic Press. p 228-230.
- SOFAMA. (s.f). Nota adicional al folleto: Que es Nim. Managua, Nicaragua. 30 P.

- STANLEY, D.B. 1964. Resistance of plants to insects. Wisconsin, University of Wisconsin, Department of Entomology. p 207-232.
- THRESH, J.M. 1974. Vector relationship and the development of epidemics: the epidemiology of plant viruses. *Phytopathology (EE.UU.)* 64: 1050-1056.
- VALVERDE, R. 1978. Epifitología e importancia agronómica del mosaico del frijol de costa (*Vigna unguiculata* (L) Walp). Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica. 52 p.
- ZEHNDER, G.; WARTHEN, J.D. 1988. Feeding inhibition and mortality effects of Neem-seed extract on the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology (EE.UU.)* 81(4): 1040-1044.