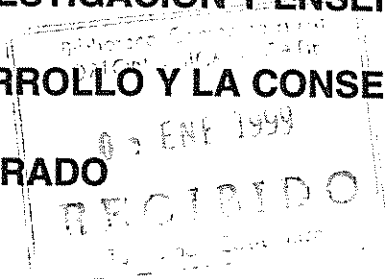


**CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA**  
**PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACION**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**



**EFFECTOS DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE  
LA ALIMENTACION Y EL DESARROLLO DE  
LARVAS DE *Hypsipyla grandella* (ZELLER)**

**POR**

**FERNANDO MANCEBO D.**



Turrialba, Costa Rica  
1998

**CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACION Y ENSEÑANZA  
(CATIE)**

*ESCUELA DE POSTGRADO*

**EFECTOS DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE  
LA ALIMENTACION Y EL DESARROLLO DE  
LARVAS DE *Hypsipyla grandella* (ZELLER)**

Tesis sometida a consideración para optar por el título de

*Magister Scientiae*

Por

**Fernando Mancebo D.**

Comité asesor:

**Dr. Luko Hilje Q. (Consejero)**

**Dr. Gerardo Mora L.**

**Dr. Rodolfo Salazar**



**Turrialba, Costa Rica.  
Diciembre, 1998**

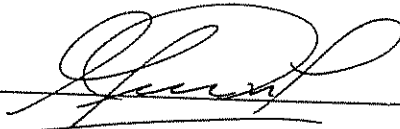
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Dirección de la Escuela de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

*MAGISTER SCIENTIAE*

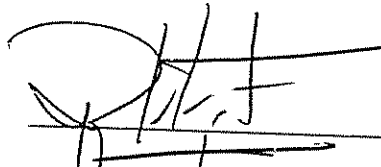
FIRMANTES:



\_\_\_\_\_  
Profesor Consejero

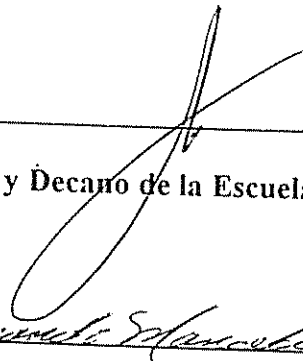


\_\_\_\_\_  
Miembro Comité Asesor



\_\_\_\_\_  
Miembro Comité Asesor

\_\_\_\_\_  
Miembro Comité Asesor



\_\_\_\_\_  
Director y Decano de la Escuela de Postgrado

\_\_\_\_\_  
Candidato

## DEDICATORIA

A mis padres, Eufrazio Mancebo y Martina De los Santos, por haberme regalado el don de la vida.

A todos mis hermanos, en especial a tres de ellos, mis hermanas Dannellys y Manuela, quienes a pesar del tiempo no se han acostumbrado a verme más allá de mi niñez y a mi hermano Amado, uno de mis mejores amigos.

A todos mis amigos.

A mi país, República Dominicana.

A mi pueblo, Mella (Provincia Independencia).

A mis ex-profesores de Mella.

A mis amigos de las promociones 96, 97 y 98, con quienes he compartido momentos tan importantes.

Al Instituto Politécnico Loyola y a la Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña “UNPHU”, instituciones responsables de mi formación profesional.

Al pueblo de Costa Rica, por su muestra de cordialidad.

A mis compañeros de FERQUIDO, en especial a los (as) muchachos (as) del DTF.

Especial dedicación a todos mis amigos, que por problemas de espacio me ha sido imposible hacerles sus merecidas menciones

## AGRADECIMIENTOS

A mi profesor consejero, Dr. Luko Hilje, con quien he tenido el honor de compartir estos dos años y de quien he aprendido no solo los conocimientos del mundo de las investigaciones, sino de otros aspectos de la formación humana y profesional, que muchas veces olvidamos

A FERQUIDO, empresa que me dio la oportunidad de desarrollar mis conocimientos profesionales. En especial al Dr. Amílcar Ubiera, por haber depositado en mí su confianza en un momento tan decisivo. También al Ing. Amílcar Romero por su gran ayuda en la obtención de una de mis becas, y a la Ing. Isabel Abreu, por sus buenos comentarios, en los momentos decisivos. Finalmente al Sr. Marcial Najri, Vicepresidente Ejecutivo de dicha empresa, por su disposición de brindar las facilidades, en caso de necesitarse, para la realización de mis estudios.

Al Dr. Eugenio de Jesús Marcano Martínez, por su tesoero esfuerzo y preocupación en la realización de mis estudios.

A FUNDATROPICA y al IICA, instituciones que me dieron la oportunidad, mediante sus respectivas becas, de realizar mis estudios en este centro.

A los Dres. Gerardo Mora y Rodolfo Salazar, miembros de mi comité, por sus valiosos aportes en la realización de mi tesis.

A Douglas Cubillo, Guido Sanabria, Arturo y Claudio, por su gran ayuda en los trabajos tanto de laboratorio como de campo.

Al Dr. Bernal Valverde y a los M. Sc. Phil Shannon y Carlos Vargas, por sus valiosos aportes y sugerencias en los experimentos y mantenimiento de la colonia.

Al Sr. Alfonso González, por su desinteresada ayuda y colaboración en la obtención y siembra de las plantas de cedro utilizadas en la prueba de invernadero.

A los señores Alexis y Gerardo de PROSEFOR, por su colaboración en la recolección de algunos de los materiales vegetales

Al personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton

A todos los compañeros del Laboratorio de Fitoprotección.

A Roger Villalobos (Proyecto Olafo, CATIE), por el apoyo brindado para desarrollar este trabajo, así como el aporte de las muestras de *Q. amara*.

A Daniel Coto por su colaboración y ayuda brindada.

A María Eugenia y Naikoa por su importante y desinteresada ayuda.

A Marvin Hernández por su apoyo de campo.

A Juan Carlos Brenes (CIPRONA) y Francisco López (CATIE), por la preparación de los extractos.

## CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	vi
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiii
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	1
2.1 Objetivo general	1
2.2 Objetivos específicos	1
III. HIPOTESIS	2
IV. REVISION DE LITERATURA	2
4.1 Importancia de <i>H. grandella</i> como plaga	2
4.2 Métodos de manejo	3

4.3 Sustancias inhibidoras	5
4.3.1 Fagodisuasivos	6
4.3.2 Inhibidores del desarrollo	11
V MATERIALES Y METODOS	15
5.1 Ubicación	15
5.2 Sustancias evaluadas	15
5.3 Preparación de los extractos	16
5.4 Larvas	17
5.5 Tratamientos y diseño experimental	17
5.5.1 Tamizado de sustancias	17
5.5.2 Bioanálisis	18
5.5.3 Aplicación en plantas (Invernadero)	19
5.6 Variables de respuesta	19
5.6.1 Porcentaje de área foliar consumida	20
5.6.2 Número de larvas muertas	20
5.6.3 Efecto sobre el desarrollo	20
5.6.4 Peso de pupas	20
5.7 Análisis estadístico	20
VI. RESULTADOS	23
6.1 Tamizado de sustancias	23
6.2 Bioanálisis	29
6.2.1 Extractos de <i>Quassia amara</i>	29
6.2.2 Derivados del nim ( <i>Azadirachta indica</i> )	34
6.2.3 Otros extractos vegetales	42
6.3 Aplicación en plantas (Invernadero)	47
VII. DISCUSION	51
VIII. CONCLUSIONES	60



IX. RECOMENDACIONES	61
X. LITERATURA CITADA	62
XI. ANEXOS	70

MANCEBO, F. 1998. Efectos de extractos vegetales sobre la alimentación y el desarrollo de larvas de *Hypsipyla grandella* (Zeller). Tesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica. 83 p.

**Palabras claves:** *Hypsipyla grandella*, Meliaceae, extractos vegetales, fagodisuasión, inhibición del desarrollo.

## RESUMEN

Se estudió el efecto inhibitorio sobre la alimentación o el desarrollo de varios extractos vegetales sobre la larva de *H. grandella*. Para ello inicialmente se hizo un tamizado general con 29 sustancias, exponiendo larvas del tercer instar de *H. grandella* a discos foliares de cedro impregnados con una sola concentración (10%) de cada sustancia; utilizando un diseño completamente al azar. Del tamizado se seleccionaron seis sustancias en las que se detectaron posibles efectos fagodisuasivos o inhibidores del desarrollo: extractos de madera y follaje de hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae), ruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae), tacaco cimarrón (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae), y dos productos comerciales (Azatín y Nim 80) derivados del árbol de nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae). Para cada una de estas seis sustancias se realizaron bioanálisis con concentraciones crecientes (0,1, 0,316, 1,0, 3,162 y 10%) a las cuales se expusieron larvas de tercer instar, seleccionadas de colonias a partir de follaje tierno de cedro y dieta artificial, y criadas en dicho follaje desde el estado de huevo, en un diseño de bloques completos al azar. Posteriormente se efectuó un experimento en el invernadero, colocando tres larvas del primer instar de *H. grandella* en brotes terminales de cedro tratados con la concentración más alta de cada sustancia (10%); las plantas se distribuyeron en un diseño completamente al azar, en un arreglo de campo de parcelas divididas en el tiempo, con diez plantas por cada tratamiento.

Los extractos de madera y follaje de hombre grande, a casi todas las concentraciones para el primero, y al 3,16% en el segundo, así como a la concentración de la ruda al 1% causaron fagodisuasión en la larva de *H. grandella*. El Nim 80, en casi todas sus concentraciones inhibió el desarrollo de la larva. El Azatín y el tacaco cimarrón, en casi todas sus concentraciones en el caso del primero, y al 10% en el segundo, provocaron mortalidad directa de la larva. Este último provocó la muerte retardada de larvas a las dosis más bajas. Algunas sustancias, dependiendo de su concentración, pueden tener efectos mixtos, como fagodisuasivas, inhibitorias del desarrollo o insecticidas sobre la larva de *H. grandella*.

MANCEBO, F. 1998. Plant extract effects on *Hypsipyla grandella* (Zeller) larval feeding and growth. Thesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica. 83 p.

**Key words:** *Hypsipyla grandella*, Meliaceae, plant extracts, deterrency, growth regulators.

### SUMMARY

The inhibitory effect of some plant extracts on mahogany shoot borer *Hypsipyla grandella* larval feeding and growth was studied. A general screening with 29 substances was carried out. *H. grandella* third instar larvae, arranged in a completely randomized design, were exposed to *Cedrela* leaf discs impregnated with one concentration of each substance (10%). Six substances with possible deterrent or inhibitor effects on growth were selected: *Quassia amara* wood and leaves extracts, *Ruta graveolens* leaves extract, *Sechium pittieri* fruit extract, and two commercial products (Azatin and Neem 80) derived from *Azadirachta indica*, (Meliaceae). Bioassays with increasing concentrations (0,1%, 0,316%, 1,0%, 3,162% and 10%) were carried out for each of these substances, exposing third instar larvae to them in a completely randomized block design. Larvae came from laboratory bred colonies since the egg stage, and were fed with *Cedrela* young leaves and artificial diet. At last, a greenhouse experiment was carried out in which *Cedrela* terminal shoots, treated with the highest concentration of each substance (10%) were exposed to three first instar *H. grandella* larvae. Plants were distributed in a completely randomized design, with a split plot arrangement through time, with 10 plants for each treatment.

Almost every concentration of *Q. amara* wood extracts and 3,16 % leaves extract, as well as 1% *R. graveolens* showed a deterrent effect on *H. grandella* larvae. Almost every concentration of Neem 80 inhibited larval growth. Nearly all tested concentrations of Azatin and 10% solution of *S. pittieri* caused direct larval mortality. This last product caused delayed larval death at the lowest concentration. Some substances, according to their concentration, can generate mixed effects, e.g., deterrent, growth inhibitor or insecticide activities over *H. grandella* larvae.

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con diferentes extractos vegetales, por parte de larvas del tercer instar de <i>H. grandella</i> , en tres experimentos.	24
Cuadro 2.	Número total de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> muertas en los diferentes extractos vegetales, en tres experimentos	27
Cuadro 3.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con madera y follaje de <i>Q. amara</i> , por parte de las larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i>	30
Cuadro 4.	Número total de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	33
Cuadro 5.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con Azatín y Nim 80, por parte de las larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> .	35
Cuadro 6	Número total de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con Azatín y Nim 80.	38
Cuadro 7	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con ruda y tacaco cimarrón, por parte de las larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> .	42
Cuadro 8	Número total de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	45
Cuadro 9	Proporción de plantas de cedro dañadas por larvas de primer instar de <i>H. grandella</i> tratadas con diferentes extractos vegetales, a los 16 días de las aplicaciones en el invernadero.	48

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con diferentes extractos vegetales, al exponer larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> . Experimentos I (A), II (B) y III (C).	25
Figura 2.	Porcentaje promedio de la mortalidad de larvas de <i>H. grandella</i> en los diferentes extractos vegetales. Experimentos I (A), II (B) y III (C).	28
Figura 3.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con el extracto de madera (A) y de follaje (B) de <i>Q. amara</i> , al exponer larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> por 24 h.	31
Figura 4.	Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> a concentraciones crecientes de extractos de madera (A) y follaje (B) de <i>Q. amara</i> .	32
Figura 5.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con Azatín (A) y Nim 80 (B), al exponer larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> por 24 h.	36
Figura 6.	Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> a concentraciones crecientes de extractos de Azatín (A) y Nim 80 (B).	37
Figura 7.	Mortalidad acumulada de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> a diferentes concentraciones de Azatín (A) y Nim 80 (B).	40
Figura 8.	Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con ruda (A) y tacaco cimarrón (B), al exponer larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> por 24 h.	43
Figura 9.	Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> a concentraciones crecientes de los extractos de ruda (A) y tacaco cimarrón (B).	44
Figura 10.	Mortalidad acumulada de larvas de tercer instar de <i>H. grandella</i> a diferentes concentraciones de tacaco cimarrón.	47

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Porcentaje diario acumulado de larvas de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	71
Anexo 2.	Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	71
Anexo 3.	Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	72
Anexo 4.	Duración promedio (días) de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	72
Anexo 5.	Peso promedio de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con madera y follaje de <i>Q. amara</i> .	73
Anexo 6.	Porcentaje diario acumulado de larvas de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con Azatín y Nim 80	73
Anexo 7.	Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con Azatín y Nim 80.	74
Anexo 8.	Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con Azatín y Nim 80.	74
Anexo 9.	Duración promedio (días) de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con Azatín y Nim 80	75
Anexo 10.	Peso promedio de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con Azatín y Nim 80.	75
Anexo 11.	Porcentaje diario acumulado de larvas de <i>H. grandella</i> muertas en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	76
Anexo 12.	Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	77
Anexo 13.	Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	77
Anexo 14.	Duración promedio (días) de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	78

Anexo 15.	Peso promedio de la pupa de <i>H. grandella</i> en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.	78
Anexo 16	Proporción promedio de perforaciones en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de <i>H. grandella</i> , a diferentes intervalos, en el invernadero.	79
Anexo 17	Proporción promedio de montículos en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de <i>H. grandella</i> , a diferentes intervalos, en el invernadero.	80
Anexo 18	Proporción promedio de brotes caídos en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de <i>H. grandella</i> , a diferentes intervalos, en el invernadero.	81
Anexo 19	Proporción promedio de ramas caídas en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de <i>H. grandella</i> , a diferentes intervalos, en el invernadero.	82
Anexo 20	Ingredientes y preparación de la dieta artificial para las larvas de <i>H. grandella</i> .	83

## I. INTRODUCCION

*Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) es considerada como una de las principales plagas forestales en América Latina y el Caribe que ataca maderas preciosas como las caobas y los cedros (*Swietenia* spp. y *Cedrela* spp.). El daño principal es causado por la perforación de los brotes nuevos, especialmente el brote terminal, lo cual provoca su deformación o ramificación, reduciendo de esta forma el valor comercial del árbol (Grijpma y Ramalho 1973).

Se han investigado varias opciones para el control de esta plaga (Grijpma 1973, Whitmore 1976a, 1976b, Newton *et al.* 1993), con resultados poco factibles operativa y económicamente. Dado el nivel de tolerancia tan bajo, de apenas una larva por árbol, se justificaría el empleo de un enfoque preventivo, basado en sustancias que afecten el comportamiento o la fisiología de *H. grandella*. En tal sentido, cabe la posibilidad de explorar el efecto inhibitor de dichas sustancias sobre la alimentación o el desarrollo. Algunos de los efectos indicados se han observado en pruebas preliminares (Shannon *et al.* 1997), y eventualmente existiría la posibilidad de utilizar extractos vegetales en forma rústica o semi-rústica, como se hace con el nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) para otras plagas (Schmutterer *et al.* 1982).

## II. OBJETIVOS

- 2.1 **Objetivo general:** Evaluar el efecto de algunos extractos vegetales sobre la alimentación y el desarrollo en larvas de *H. grandella*.
- 2.2 **Objetivos específicos:** Determinar la concentración mínima de cada extracto requerida para afectar la alimentación y el desarrollo de la larva de *H. grandella*.



### III. HIPOTESIS

Algunas sustancias vegetales actúan como fagodisuasivas o impiden el desarrollo de la larva de *H. grandella*.

### IV. REVISION DE LITERATURA

#### 4.1 Importancia de *Hypsipyla grandella* como plaga

*H. grandella* tiene una distribución muy amplia en el continente americano, desde Florida (EE. UU.) hasta Argentina, incluyendo las islas del Caribe. Se ha registrado en Argentina, Barbados, Belice, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Estados Unidos, Granada, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica, Martinica, México, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, Surinam, Trinidad, Tobago y Venezuela (Becker 1976).

La larva de este barrenador ataca al menos 17 especies de la familia Meliaceae: *Cedrela mexicana*, *C. odorata*, *C. angustifolia*, *C. tonduzii*, *C. salvadorensis*, *C. fissilis*, *C. lilloi*, *C. tubiflora*, *Swietenia macrophylla*, *S. mahagoni*, *Carapa guianensis*, *C. procera*, *Guarea caoba*, *G. trichilioides*, *Khaya senegalensis*, *K. nyasica* y *Trichilia sp.* (Becker 1976a). Entre ellas sobresalen, por su alto valor económico, las caobas (*Swietenia spp.*) y los cedros (*Cedrela spp.*).

El daño principal consiste en la perforación de los brotes nuevos, especialmente del brote terminal, el cual se deforma o ramifica, reduciéndose así el valor comercial del árbol; además, se retarda el crecimiento y, si los ataques son repetidos en plántulas o árboles jóvenes, puede causar su muerte (Grijpma y Ramalho 1973). Por otra parte, los frutos pueden ser severamente afectados, lo cual dificulta su multiplicación, desde el punto de vista comercial.

Aunque las caobas y cedros podrían alcanzar hasta 40 m de altura y diámetros de hasta 2 m bajo condiciones favorables (Pennington y Styles, en Newton *et al.* 1993), ello pocas veces es posible, ya que el ataque del insecto generalmente se presenta desde el estado de plántula. Además, debido a que el nivel de tolerancia de daño se alcanza con apenas una larva por árbol, y a que la fecundidad de la hembra es de 200-300 huevos (Grijpma 1971, Samaniego y Sterringa 1976), los cuales deposita en grupos de 1-3 por árbol (Grijpma 1974, en Newton *et al.* 1990), bastan pocas hembras para infestar toda una plantación.

Estas situaciones han desestimulado la siembra de caoba y cedro en todo el continente. Por ejemplo, como resultado del ataque de *H. grandella*, los intentos de reforestación con meliáceas fueron abandonados en Puerto Rico, pues entre 1935-1943 unos 835.000 árboles de caoba y 1.000.000 de cedro fueron destruidos por el ataque de este insecto; en Guatemala fueron diezmadas 250 ha de dichas especies, en plantaciones de dos años de edad; en Perú, fueron atacadas plantaciones de cuatro meses de edad, en 10% para caoba y 60% para cedro; en Cuba, el 90% de 1.800.000 plántulas de cedro vendidas a productores, murió como consecuencia de sus ataques (Newton *et al.* 1993).

#### 4.2 Métodos de manejo

El uso de insecticidas para el combate de *H. grandella* ha tenido poca aceptación, tanto por su alto costo, como por factores operativos, entre los que sobresalen la rápida penetración de la larva al brote tras emerger del huevo, el lavado por las lluvias, y los métodos de aplicación (Newton *et al.* 1993)

Por tanto, sería deseable desarrollar un enfoque y prácticas de manejo integrado de plagas (Newton *et al.* 1993, Speight 1996). Para ello es un requisito el conocimiento del comportamiento de alimentación de la larva y de búsqueda por parte de los adultos; del impacto de ataque, umbrales económicos y densidades críticas; de la respuesta del árbol al ataque; de las variaciones genéticas en susceptibilidad entre especies de meliáceas, así como

dentro de una misma especie, según el lugar y región geográfica de proveniencia; de la bioquímica de los árboles; y de los agentes de control biológico (Speight 1996). Los programas de manejo integrado de plagas generalmente enfatizan el control biológico, el mejoramiento genético y las prácticas silviculturales, acerca de los cuales se ha realizado considerable investigación con *H. grandella* (Grijpma 1973, Whitmore 1976a, 1976b).

En cuanto al control biológico, aunque se han identificado al menos 11 especies de parasitoides, de las familias Braconidae, Ichneumonidae, Trichogrammatidae y Tachinidae, así como algunos patógenos, ellos no controlan de manera eficiente las poblaciones de la plaga cuando se establecen plantaciones con fines comerciales (Newton *et al.* 1993).

En relación con el mejoramiento genético, para seleccionar árboles tolerantes o resistentes al daño, existen varias posibilidades. Hay especies resistentes, como son la mayoría de los miembros de la subfamilia Melioideae (*Guarea* spp. y *Melia* spp.), las cuales no son atacadas (Newton *et al.* 1993), al igual que sucede con *Toona ciliata* y *Khaya ivorensis* (Grijpma 1973, Grijpma y Ramalho 1973); dicha resistencia es de naturaleza química (Grijpma y Roberts 1976). La otra opción es la búsqueda de razas o líneas tolerantes, que podrían existir en poblaciones silvestres de ciertas especies (Newton *et al.* 1993). Por ejemplo, en Costa Rica se ha documentado que existe variación en la resistencia y capacidad de recuperación de *C. odorata* al ataque de *H. grandella*, según la procedencia de los árboles (Cornelius *et al.* 1995). Aquellos árboles de zonas secas y estacionales fueron menos atacados, pero en cuanto a la capacidad de recuperación no hubo diferencias entre las procedencias; como respuesta, el 70% de los árboles emitió más de un brote, lo que podría provocar futuras bifurcaciones y deformaciones, y solamente el 12% mostró una recuperación deseable, con un solo brote dominante.

Las prácticas silviculturales se refieren a la calidad del sitio seleccionado para plantar las meliáceas, podas de formación, métodos de siembra y diversificación de las plantaciones. Entre ellas destacan las dos últimas. En cuanto a la selección del sitio elegido, en Puerto Rico se observó que las plantaciones de caoba ubicadas en las zonas más altas de las

montañas mostraron menos daños que las que se encontraban en otras condiciones topográficas, lo cual se atribuyó al posible efecto del viento sobre la dispersión de los adultos (Weaver y Bauer 1986, en Newton *et al.* 1993).

Por su parte, el efecto de la densidad de plantación ha sido un aspecto algo controversial. Holdridge (1943, en Newton *et al.* 1993) sugirió el establecimiento de *C. odorata* con amplios espaciamientos, y recomendó una densidad final de 10 árboles/ha, con fines comerciales, lo cual se basó en la suposición de que a densidades similares en bosques naturales donde los árboles de esta especie crecen exitosamente, las plántulas pueden “escapar” rápidamente al ataque (Newton *et al.* 1993). El crecimiento rápido permite que los árboles alcancen mayores dimensiones en altura y diámetro, en menor tiempo, y esto les permite evadir o reducir el efecto del ataque (López *et al.* 1997). Sin embargo, Gara *et al.* (1976a) encontraron que los árboles de crecimiento más rápido producen más hojas frescas y, por consiguiente, están más sujetos al ataque. En experimentos realizados en Brasil mediante un sistema de enriquecimiento del bosque natural con árboles de *S. macrophylla* (Yared y Carpenazzi 1981) no hubo daños del insecto, lo cual se atribuyó a la combinación de las bajas densidades de plantaciones iniciales (100 árboles/ha), al sombreado lateral y al mantenimiento de algunas de las condiciones ecológicas del bosque original (Newton *et al.* 1993).

En cuanto a la diversificación de plantaciones, en Costa Rica *C. tonduzii* fue plantada entre tres hileras de *Cordia alliodora*, y 10 años después la incidencia del daño del insecto no sobrepasaba al 10%, mientras que en Guatemala, en experiencias de gran escala con *S. macrophylla* y *C. odorata* interplantadas con *Cybistax donnell-smithii* y *Tabebuia microphylla*, siete años después la incidencia era menor de 10% (Hilje *et al.* 1991).

#### 4.3 Sustancias inhibidoras

Una posibilidad poco o nada explotada para el manejo de *H. grandella* es la utilización de

sustancias que impidan o inhiban la oviposición de las hembras, o la alimentación y el desarrollo de las larvas.

Un repelente es una sustancia que provoca reacciones de alejamiento en el insecto, mientras que un disuasivo o supresor inhibe ciertas actividades, como la alimentación y la oviposición, una vez que el insecto hace contacto con la sustancia (Matthews y Matthews 1978). Un inhibidor del desarrollo puede actuar ya sea como hormona reguladora de desarrollo, o causando efectos subletales en las larvas, lo cual impide o dificulta su desarrollo pleno.

Jacobson (1980) hizo una revisión general de las sustancias fagodisuasivas e inhibidoras del desarrollo derivadas de plantas, entre las cuales mencionó los fenoles, quinonas, alcaloides y otras sustancias nitrogenadas, así como ácidos y lactonas, y el grupo de los terpenos.

Dada la afinidad y especificidad de *H. grandella* hacia representantes de la familia Meliaceae, es posible que en la naturaleza existan plantas que contengan sustancias con efectos inhibidores, como las documentadas para insectos que son plagas agrícolas (Grainge y Ahmed 1988, Stoll 1989).

Incluso algunos representantes de la familia Meliaceae poseen estos tipos de sustancias. Por ejemplo, Rodríguez y Vendramim (1996) evaluaron el efecto de los extractos acuosos de 11 especies de meliáceas sobre el desarrollo del gusano cogollero de maíz (*Spodoptera frugiperda*, Noctuidae), y hallaron que los extractos del tallo de *Cedrela fissilis* y del fruto de *Guarea guidonia* inhibieron el crecimiento de la larva, mientras que los de la hoja de *Trichilia casaretti*, del tallo de *T. catigua* y del fruto de *G. guidonia* inhibieron su alimentación.

**4.3.1 Fagodisuasivos.** Según Warthen (1990), los disuasivos naturales probablemente juegan un papel como factores de resistencia dentro de la planta. Tales sustancias le dan una ventaja adaptativa al organismo que las producen, y son llamadas alomonas o aleloquímicos.

Pueden actuar contra los insectos en varias vías, particularmente como repelentes, alejando al insecto de la planta; supresores, inhibiendo la iniciación de la alimentación o la oviposición; disuasivos, inhibiendo la continuación de dichos procesos; anorexigénicos, provocando la pérdida del apetito; y antibióticos, interfiriendo metabólicamente con el crecimiento normal y el desarrollo (Warthen 1990). Tanto las sustancias repelentes como las fagodisuasivas actúan a bajas concentraciones y son percibidas por receptores especializados (Schoonhoven 1982)

Un fagodisuasivo es una sustancia que inhibe la alimentación de los insectos, en un lugar donde éstos se alimentarían si dicha sustancia no estuviera presente (Dethier *et al.* 1960). La sustancia no mata directamente al insecto, sino que éste permanece cerca de la estructura tratada y muere por inanición (Munakata 1977, en Warthen 1990). Kubo y Nakanishi (1977, en Warthen 1990) sugieren que la inhibición de la alimentación puede ser temporal o permanente.

La selección de una planta hospedante por insectos herbívoros es gobernada por la presencia de atrayentes y fagodisuasivos. Frecuentemente, cuando los compuestos puros son estudiados individualmente a la misma concentración en que ocurren en las plantas, son menos activos que la planta en sí (Warthen 1990). Tales sustancias son siempre disuasivas, pero a altas dosis. Sin embargo, cuando todos los componentes individuales son combinados, hay un efecto aditivo que produce una disuasión comparable con el efecto causado por la planta misma.

Las sustancias fagodisuasivas parecen ser uno de los tres grupos de compuestos naturales que poseen perspectivas de aplicación en el manejo de plagas. Los otros dos grupos son los compuestos sexuales volátiles y las feromonas, que actualmente tienen limitada aplicación comercial. Los científicos han efectuado gran cantidad de trabajos exploratorios sobre sustancias fagodisuasivas. Los tipos de sustancias biológicamente activas investigadas son tan variadas como los tipos de sustancias elaboradas por las plantas superiores, desde simples monoterpenos, hasta glucósidos complejos y alcaloides (Warthen y Morgan 1990).

Aunque existe un interés creciente de la industria agroquímica en la búsqueda de principios activos de origen vegetal (Pillmoor *et al.* 1993), ha sido escaso en cuanto a los repelentes y disuasivos, debido a que su producción es tan compleja como la de un insecticida y su efecto no anula un problema de plaga, sino que lo transfiere a otro productor (Schoonhoven 1982). Sin embargo, en la actualidad hay intentos para desarrollarlos contra ciertas plagas (Pickett *et al.* 1997).

Dichas sustancias serían de particular importancia contra plagas con un umbral económico tan bajo como el de *H. grandella*, y para especies de alto valor comercial como la caoba y el cedro, con un enfoque preventivo, durante el periodo crítico de protección; éste sería de 5-8 años, según la zona geográfica, cuando ya sea posible obtener una troza de valor comercial (Cibrián *et al.* 1995). Además, aunque la industria agroquímica no mostrara interés, quizás sería posible su utilización en forma rústica, como se hace con el nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) para otras plagas, en varios países (Schmutterer 1982).

Se ha documentado que *H. grandella* puede responder a olores o sabores (Grijpma y Gara 1973a, Callahan 1976, Schoonhoven 1976). Por ejemplo, Grijpma y Gara (1973a), al estudiar el comportamiento de los adultos de *H. grandella* en la selección de sus hospedantes, determinaron que lo hacen mediante respuestas olfativas, al captar emanaciones volátiles de las hojas frescas. Además, al estudiar la preferencia de las larvas, hallaron grandes diferencias entre las especies de Meliaceae evaluadas, con *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla* como las más preferidas, mientras que *Toona ciliata* no fue consumida (Grijpma y Gara 1973b).

A dicha familia también pertenece el nim (*A. indica*), en cuya semilla existen varios limonoides, entre los que sobresale la azadiractina. Esta actúa como un regulador de crecimiento de varios insectos, impidiendo que las formas inmaduras alcancen el estado adulto (Schmutterer 1982). Algunos de los otros limonoides posiblemente tienen efectos fagodisuasivos, como lo sugiere el hecho de que la alimentación de la hembra de *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) se redujo mucho cuando se utilizó la

sustancia a una concentración de 12%. Este también retardó el crecimiento y el desarrollo en tres biotipos de este insecto pues, en las plantas asperjadas con el aceite de nim al 3%, apenas el 3-9% de las larvas del primer instar alcanzaron el estado adulto, mientras que en el testigo lo hizo el 67-88% (Saxena *et al.* 1982). Además, las hojas contienen principios químicos que inhiben la actividad alimentaria de la langosta *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) (Volkonsky 1937, en Schoonhoven 1982).

Entre los múltiples efectos que produce el nim en los diferentes insectos están la interrupción o inhibición del desarrollo de huevos, larvas o pupas; bloqueo de la muda en larvas o ninfas; interrupción del apareamiento y la comunicación sexual; repelencia de larvas y adultos; disuasión de la oviposición; esterilización de los adultos; intoxicación de larvas y adultos; fagodisuasión; y la inhibición de la formación de la quitina (Ruskin 1992, Tewari 1992). Dichos efectos son distintos, dependiendo del insecto. En los miembros del orden Orthoptera, por ejemplo, el efecto más importante parece ser el fagodisuasivo, aunque recientemente se ha descubierto que en *S. gregaria* provoca una conversión de su hábito gregario a un comportamiento solitario; en Homoptera los efectos son varios, entre los cuales cabe destacar los fagodisuasivos y como reguladores de crecimiento; estos dos efectos son importantes en los miembros del orden Lepidoptera, cuyas larvas son muy sensibles a los extractos de esta planta (Ruskin 1992).

Kraus *et al.* (1982) encontraron que algunos compuestos aislados de la semilla de nim causaron fagodisuasión en larvas de 4º instar de *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae); estos compuestos fueron el 1,3-diacetilvilasinina, el 3-desacetilsalanina, salanol y nimbandiol. Otros compuestos tales como ochinolida A y B, y nimboldina A y B, derivados del fruto de *Melia azedarach* (Meliaceae), tuvieron una fuerte actividad fagodisuasiva en este insecto

En estudios preliminares sobre los órganos sensoriales gustativos de larvas de los lepidópteros *Pieris brassicae* (Pieridae), *Lymantria dispar* (Lymantriidae = Liparidae) e *H. grandella* y sus reacciones al ser expuestas a la azadiractina, se encontró que a una



concentración de 0,1 M de esta sustancia (disuelta en una solución 0,01 M de NaCl), las neuronas sensibles a la disuasión fueron estimuladas en las tres especies (Schoonhoven 1982)

Para determinar el efecto de los extractos de hojas de nim sobre *Crocidolomia binotalis* (Lepidoptera: Pyralidae), se realizó un experimento en el que larvas de 5º instar fueron expuestas sobre discos de hojas frescas de repollo de 2.5 cm de diámetro tratadas con dicho extracto. A las 24 h se observó que el consumo por larva fue cinco veces menor en los discos tratados con el extracto etanólico de nim al 5% que en los discos sin tratar. Las larvas estuvieron en ayuno durante 3 h. Este efecto fagodisuasivo también fue notado cuando las larvas fueron colocadas en plantas cuyas hojas fueron tratadas por ambas caras con un extracto metanólico de nim a concentraciones de 0,625, 1,25, 2,5, 5, y 10%. En todas las concentraciones se observó que las larvas se enterraban en el suelo apenas probaban, y después de vez en cuando salían a alimentarse solo de las partes no tratadas, tales como tallos, ápices, etc. (Fagoonee 1982).

Se estudiaron los efectos que sobre la alimentación de *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) poseen los extractos de hojas y frutos de *A. indica* (en proporción 1:1), frutos secos de *Piper guineense* (Piperaceae) y una suspensión de hojas frescas trituradas de *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae). Estas sustancias fueron aplicadas en forma de tintura, en ambas caras de las hojas, los peciolos y el tallo de las leguminosas *Canavalia ensiformis* y de *Vigna unguiculata*. También se probaron las combinaciones de cada dos de ellos, para determinar efectos sinérgicos. Las plantas tratadas con *A. indica* no se defoliaron, mientras que en el testigo el 50% del área foliar fue consumida. Las plantas tratadas con los extractos de *P. alliacea* y *P. guineense* sufrieron 16,7% y 25% de defoliación, respectivamente, mientras que en sus respectivos testigos las defoliaciones fueron 66,7% y 73,3%. En relación con las mezclas, al final del tercer día de evaluación, las plantas no tratadas habían sido completamente defoliadas, mientras en las tratadas con *A. indica* + *P. alliacea* no hubo defoliación y apenas el 16,7% fueron defoliadas en el tratamiento *A. indica* + *P. guineense* (Olaifa y Akingbohunge 1987).

Para el manejo de *H. grandella* se ha documentado la presencia de sustancias fagodisuasivas promisorias en la madera del hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae) (Shannon *et al.* 1997). Dichos autores hallaron grandes diferencias en la respuesta de la larva de dicho insecto a concentraciones crecientes de un extracto metanólico, y a la mayor concentración (10%) el porcentaje de consumo del follaje tratado fue casi nulo.

**4.3.2 Inhibidores del desarrollo.** Schmutterer (1982) reseñó los trabajos efectuados con nim, entre los que sobresale el realizado por Leuschner en 1970 en Kenia, con *Antestiopsis orbitalis bechuana* (Hemiptera: Pentatomidae). Se investigó el extracto metanólico crudo de las hojas de nim, aplicado tópicamente a dosis mayores de 50 (g en ninfas de 4º y 5º instares de dicho insecto. Estas mostraron defectos morfogénéticos similares a los causados por sustancias hormonalmente activas, naturales o sintéticas.

Schlüter (1982), mediante observaciones histológicas en larvas de 4º instar de *E. varivestis* tratadas con fracciones puras de extractos de semillas de nim, encontró que algunas no se convirtieron en pupa, debido a que la epidermis, que normalmente secreta la cutícula pupal, fue destruida en las larvas tratadas, mientras que en las no tratadas no hubo problemas.

Rembold *et al.* (1984) utilizaron azadiractina purificada de las semillas y aplicadas de manera tópica en larvas de último instar de *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Phycitidae) y de 3º instar de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), y a dosis de 0,2, 0,5, 1, 2,5 y 5 µl/larva, disueltas en 1 µl de metanol. Dicha sustancia causó retraso en el desarrollo de la larva de *E. kuehniella*, así como malformaciones en las pupas y los adultos. A dosis mayores de 1 µl, muchas permanecieron como larvas, incluso cinco semanas después del tratamiento, y muchas otras murieron al convertirse en pupa; las tratadas con solo metanol y las testigos emergieron como adultos dentro de las dos semanas subsiguientes a la aplicación. En *A. mellifera*, a 0,5 µl/larva hubo mortalidad muy alta y la ganancia de peso fue muy pobre, en comparación con el testigo

Maurer (1984) estudió los efectos de los extractos metanólicos de la semilla de esta planta sobre larvas de *E. kuehniella*, y halló que a concentraciones inferiores o iguales a 4 ppm apareció un instar larval adicional entre el 4° y 5° instares.

En otro estudio de la azadiractina, se determinaron los efectos fagodisuasivos y sobre el desarrollo en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaeidae), utilizando dietas que contenían diferentes dosis de esta sustancia. Se observó que en la dieta con 0,2 ppm de dicha sustancia, las larvas de 1<sup>er</sup> instar de la primera especie mostraron pesos 17 veces menores que el testigo, y 85 veces menos en las tratadas a 1 ppm. En las ninfas de 5° instar de *O. fasciatus*, con dosis de aplicaciones tópicas de apenas 0,01 µg/larva, se inhibió severamente la muda al estado adulto (Redfern *et al.* 1982).

Haasler (1984), estudió los efectos de los extractos de la semilla de nim sobre *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) y encontró que las larvas de 5° instar alimentadas con dietas que contenían concentraciones de 1 y 2 ppm del extracto, presentaron actividad alimentaria y ganancia de peso reducidos, metamorfosis retardada, mortalidad al intentar completar varias mudas, y en algunos individuos que empezaban a mudar el proceso se detuvo, presentando una nueva cutícula debajo de la vieja.

Ascher *et al.* (1984), trabajando con varios disolventes para la extracción de los compuestos de la semilla del nim, encontraron que los extractos con disolventes polares, tales como agua, metanol, etanol y acetona, tuvieron efecto al 0,01%, siendo el extracto metanólico el más activo para evitar el empupamiento y la emergencia de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). El efecto como regulador de crecimiento se demostró con dicho insecto cuando las larvas fueron expuestas a tratamientos con diferentes concentraciones de suspensiones y emulsiones de nim. En las hojas de alfalfa (*Medicago sativa*, Leguminosae), tratadas en platos de petri con el extracto al 0,6%, se encontró que el 75% de las larvas no pudieron mudar normalmente, y al 1% el 85% no mudó (Meisner y Ascher 1984).

Se estudió la respuesta de larvas de 3<sup>er</sup> instar de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) a las aplicaciones de azadiractina, y se observó que a dosis de 0,01-1 µg/g de peso de larva se produjeron varios efectos biológicos, entre los cuales sobresalieron la prolongación de dicho instar, la reducción del número de larvas convertidas en pupas y el menor peso de las que se convirtieron en pupa, así como malformaciones de éstas (Bidmon *et al.* 1987).

Mwangi y Rembold (1987) utilizaron el extracto metanólico de los frutos secos de *Melia volkensii* (Meliaceae), contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), y encontraron que con dosis inferiores a 30 µg/ml esta tenía efectos de regulador de crecimiento, induciendo a la prolongación de los instares larvales.

Huang *et al.* (1998), al evaluar el efecto del alfa pineno, sustancia ampliamente distribuida en la mayoría de los aceites esenciales de las coníferas, contra larvas y adultos de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y adultos de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), encontraron que aunque no tuvo ningún efecto en este último en cuanto al crecimiento y al alimento consumido, tuvo buen efecto contra larvas y adultos de *T. castaneum*, a una concentración de 0,86 g/l.

Actualmente se cuenta en el mercado con productos derivados del nim. Por ejemplo, el Margosan-O (W.R. Grace & Co., Massachusetts), originalmente desarrollado con recursos de USDA (Larson, 1987), fue el primer producto comercial derivado del nim, registrándose en los EE.UU. en 1985 (Mordue y Blackwell 1993). El Azatín, cuyo ingrediente activo es la azadiractina al 3%, fue desarrollado por AgriDyne; ésta funciona como un potente regulador de crecimiento contra más de 130 especies de insectos de importancia económica, entre los cuales se citan las moscas blancas, minadores, áfidos, lepidópteros y coleópteros. Este producto empezó a desarrollarse en 1981 y recibió el registro por parte de la EPA en 1992 (AgriDyne Technologies s.f.). Otros productos comerciales a base de nim son Bioneem y Neemesis (Ringer Corp., Minneapolis); Safer's ENI (Safer Ltd., Canada); Wellgro y RD-Repelin (ITC Ltd., India); Neemguard (Gharda Chemicals, India); Neemark (West Coast Herbochem, India) y Neemazal (Trifolio M GmbH, Germany).

En algunos países como Nicaragua y República Dominicana, se usan productos menos refinados, derivados de esta planta; por ejemplo en República Dominicana, se elabora el insecticida nim, que se extrae mezclando las semillas molidas del árbol con agua (Brechelt 1992). Por su parte, en Nicaragua, se utiliza la torta molida o la semilla molida sin cáscara o con cáscara procesada (Gruber y Méndez, 1992).

## V. MATERIALES Y METODOS

**5.1 Ubicación.** El experimento fue realizado en el Laboratorio de Entomología de la Unidad de Fitoprotección del CATIE, en Turrialba, Costa Rica. Tanto para el tamizado de sustancias como para el bioanálisis se utilizó una cámara bioclimática (Percival I-35L), a 22°C, 80-90% de humedad relativa y fotoperíodo de 12:12 (L:O). El experimento de aplicación en plantas se realizó en un invernadero, con condiciones de 18,5 y 45°C (mínima y máxima) y 42-98% (HR).

**5.2 Sustancias evaluadas.** En el tamizado general se evaluó la actividad de los siguientes 29 sustancias de origen vegetal, incluyendo extractos crudos y productos comerciales. La abreviatura de cada sustancia aparece entre paréntesis.

1. Follaje de ruda (**Ruda**) (*Ruta graveolens*, Rutaceae)
2. Follaje de menta (**Menta**) (*Satureja obovata*, Labiatae)
3. Follaje de sorosí (**Soros**) (*Momordica charantia*, Cucurbitaceae)
4. Follaje de culantro de castilla (**CCast**) (*Coriandrum sativum*, Umbelliferae)
5. Follaje de culantro coyote (**CCoyo**) (*Eryngium foetidum*, Umbelliferae)
6. Follaje de madero negro (**Mader**) (*Gliricidia sepium*, Leguminosae)
7. Follaje de apazote (**Apaz**) (*Chenopodium ambrosioides*, Chenopodiaceae)
8. Follaje de zacate limón (**Zacat**) (*Cymbopogon citratus*, Poaceae)
9. Follaje de eucalipto (**Eucal**) (*Eucalyptus deglupta*, Myrtaceae)
10. Follaje de gavilana (**Gavil**) (*Neurolaena lobata*, Compositae)
11. Follaje de orégano (**Oreg**) (*Lippia graveolens*, Lamiaceae)
12. Fruto de chile picante (**ChPic**) (*Capsicum frutescens*, Solanaceae)
13. Botones florales de clavo de olor (**Clavo**) (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae)
14. Madera de hombre grande (**QMad**) (*Quassia amara*, Simaroubaceae)
15. Aceite esencial follaje chile muelo (**ChMu**) (*Drymis granadensis*, Winteraceae)
16. Bulbo de ajo (**Ajo**) (*Allium sativum*, Alliaceae)
17. Nim 80 (**Nim80**) (*Azadirachta indica*, Meliaceae)
18. Bio-Nim (**BNim**) (*A. indica*, Meliaceae)
19. Margosán (**Marg**) (*A. indica*, Meliaceae)
20. Azatín (**Azat**) (*A. indica*, Meliaceae)
21. Extracto crudo de nim (**Nim-E**) (*A. indica*, Meliaceae)
22. Follaje de flor de muerto (**Taget**) (*Tagetes* sp. Compositae)
23. Liquefruta BP. (**Liquf**) (Jarabe de aceite natural de ajo)
24. Eugenol U. S. P. (**Eugen**) (Guayacolato de glicerido)
25. Follaje de hombre grande (**QFoll**) (*Q. amara*, Simaroubaceae)
26. Nim 20 (**Nim20**) (*A. indica*, Meliaceae)
27. Fruto de tacaco cimarrón (**Tacac**) (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae)
28. Biome (**Biome**) (Aceites vegetales y extractos de plantas)
29. Detur (**Detur**) (Aceite de semilla de jojoba)

Las casas manufactureras de los productos comerciales evaluados son: Nim 20 y Nim 80 (COPINIM, Nicaragua), Bio-Nim (Ringer Corp., Minneapolis), Margosan-O (W. R. Grace Co., Massachusetts), Azatin (AgriDyne Technologies, Utah), Liqufruta BP (LRC Products Ltd, Inglaterra), Eugenol U.S.P. (Rite-Dent Manufacturing Corp.), Biomet (Biomet Ltda., Medellín, Colombia) y Detur (AMVAC Chemical Corporation, Los Angeles, CA., USA)

**5.3 Preparación de los extractos.** Las muestras de material vegetal se recolectaron en los predios del CATIE y de la Sede Universitaria Regional del Atlántico (SURA), en Turrialba. Las excepciones fueron las muestras de *Q. amara*, obtenidas en la reserva indígena de Kéköldi (Talamanca), así como las de *Tagetes* sp. y chile muelo (Cerro de la Muerte).

La preparación de los extractos se realizó en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica. Para los extractos vegetales crudos (Juan Carlos Brenes, 1997, CIPRONA, com. pers.), las muestras del material vegetal pertinente fueron secadas en un horno a 40°C. Se tomaron 100 g del tejido seleccionado y se molieron en seco y se mezclaron con metanol al 70% por 24 h. El material sólido que resultó de la disolución después de filtrar, se colocó de nuevo en metanol al 70% por 24 h. La disolución obtenida se filtró a través de papel Whatman No. 4, para aumentar el rendimiento de la extracción. Los extractos fueron mezclados y concentrados al vacío, en un baño de agua a 40°C, utilizando un evaporador rotatorio. Posteriormente, el residuo fue liofilizado, para eliminar el agua remanente.

Los aceites esenciales fueron extraídos por hidrodestilación (Ciccio 1996). Se colocaron 500-800 g del material vegetal de interés en un balón, se agregó agua hasta un volumen de 3 l y se puso a hervir en un aparato tipo Clevenger. Después se destiló por 2,5 h, hasta separar el aceite esencial del agua. El aceite extraído se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró a través de un trozo de algodón, para obtener la muestra. Esta se mantuvo refrigerada, a menos de 10°C, hasta su empleo.

**5.4 Larvas.** Las larvas de *H. grandella* se tomaron de colonias criadas en follaje tierno de cedro (*Cedrela odorata*), tomadas de una plantación en el CATIE, así como en una dieta artificial (Vargas y Shannon, inédito). Las larvas seleccionadas fueron tomadas de colonias criadas desde el estadio de huevo en follaje fresco de cedro.

**5.5 Tratamientos y diseño experimental.** Se realizaron tres tipos de experimentos, dos en el laboratorio (tamizado de sustancias y bioanálisis) y uno en el invernadero (aplicación en plantas).

**5.5.1 Tamizado de sustancias** Por razones operativas, las 29 sustancias citadas previamente debieron evaluarse en tres experimentos, realizados en fechas diferentes. El primer experimento incluyó las sustancias 1-16 (30-XI-1997), el segundo las 17-24 (3-XII-97) y el tercero las 25-29 (7-VII-98). Todas se evaluaron a una concentración del 10%, debido a que la única referencia previa, con *Q. amara*, indicaba un fuerte efecto fagodisuasivo a dicha concentración (Shannon *et al.* 1997); por tanto, *Q. amara* funcionó como un testigo relativo. La preparación de las sustancias se hizo el mismo día de su aplicación, y se usó agua destilada como vehículo de aplicación.

En los tres experimentos se utilizaron como testigos el agua y el agente tensoactivo o "surfactante", que fue el Nu film 17 (96% de ingrediente activo), a una concentración de 0,03% (60 ml/ 200 l de agua). Se empleó un diseño completamente al azar, con ocho larvas por cada tratamiento, cada una de las cuales fue considerada como una repetición; en el testigo se utilizaron 16 larvas. Los extractos se aplicaron con el agente tensoactivo, para favorecer su distribución sobre la superficie de la hoja.

Las larvas de 3<sup>er</sup> instar se colocaron individualmente en frascos de vidrio de 30 ml, sobre bandejas, donde se mantuvieron en ayuno por 3 h. En cada frasco, encima de la larva, se depositó un disco de hoja de 2,3 cm de diámetro, cortado con un sacabocados, el cual se tomó de hojas de cedro frescas y tiernas, pero bien formadas y sin la nervadura central. Los discos se sumergieron por 10 seg en la solución del respectivo tratamiento y se dejaron secar



por 30 min. Bajo la tapa de cada recipiente se prensó un trozo de papel toalla, mojado levemente para mantener suficiente humedad.

Las ocho larvas pertenecientes a cada tratamiento se colocaron juntas en una bandeja, y se aleatorizaron. Para esto se sortearon las tapas de cada recipiente, las cuales se rotularon previamente con un código que incluía el nombre de cada tratamiento y el número de cada repetición.

Después de 24 h de exposición a las respectivas sustancias, en los discos impregnados con éstas, las larvas se separaron de los discos y se colocaron en frascos que contenían un volumen aproximado de  $5,78 \pm 0,69$  ml de la dieta artificial (Anexo 20), hasta que el insecto completó su desarrollo. La dieta se reemplazó al cambiar de color o apariencia, para todas las larvas, pues ya no era apropiada para su consumo.

**5.5.2 Bioanálisis.** Se seleccionaron los seis extractos que dieron los resultados más promisorios en el tamizado, por sus efectos sobre la alimentación o el desarrollo larval: Azatín, Nim 80, madera y follaje de *Q. amara*, follaje de ruda, y fruto de tacaco cimarrón. Cada extracto se evaluó individualmente en fechas diferentes, a las siguientes cinco concentraciones: 0,1, 0,316, 1,0, 3,162 y 10%. La preparación de las sustancias se hizo el mismo día de su aplicación, y se utilizó agua destilada como vehículo de aplicación.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con submuestreo; la unidad experimental estuvo conformada por siete larvas, excepto en el testigo, en el que se emplearon 14 larvas; cada una de las cuales era considerada una submuestra. Se utilizaron cuatro bandejas, que representaban cada uno de los cuatro bloques, en cada una de las cuales estaba presente cada tratamiento. Las larvas pertenecientes a cada tratamiento se colocaron juntas en una bandeja, y se aleatorizaron. Para esto se numeraron al azar las cuatro bandejas, en cuyo orden de salida se colocaron en la cámara bioclimática durante todo el experimento; los tratamientos se aleatorizaron dentro de cada bandeja y después se asignaron al azar los números correspondientes a cada larva. Los demás procedimientos,

incluyendo la aleatorización de las tapas rotuladas, fueron análogos a los del tamizado general.

**5.5.3 Aplicación en plantas (invernadero).** Se utilizaron plantas de cedro de unos seis meses de edad, procedentes de semillas recolectadas en Abangares, Guanacaste, Costa Rica (Código BL 072/97A, PROSEFOR, CATIE); éstas se pusieron a germinar el 15-IV-98, las plántulas se transfirieron el 2-VI-98 a macetas No. 2800 (21 l de suelo, 27 cm de diámetro y 25 cm de profundidad), y el experimento se efectuó el 15-X-98.

Para corroborar los efectos observados en el bioanálisis sobre larvas de *H. grandella* de primer instar, las plantas fueron tratadas con Azatín, Nim 80, madera o follaje de *Q. amara*, follaje de ruda o fruto de tacaco cimarrón, a la misma concentración (10%). La preparación de las sustancias se hizo el mismo día de su aplicación, y se usó agua destilada como vehículo de aplicación.

Las macetas (tratamientos) se dispusieron en un diseño completamente al azar (DCA), con un arreglo de campo en parcelas divididas en el tiempo, con diez plantas por cada tratamiento; los testigos fueron agua y el agente tensoactivo. La parte terminal de cada planta se asperjó con cada sustancia, mediante un atomizador DeVilbiss 15, de punta ajustable (The DeVilbiss, EE UU.), conectado a una bomba de vacío marca GAST, modelo DOA-P104-AA (GAST Manufacturing Corp. Benton Harbor, Michigan), con una presión constante de  $0,7 \text{ kg/cm}^2$ . Cada brote se inoculó con tres larvas, colocadas con un pincel fino, a los 30 min de asperjada la sustancia. Tres días antes de las aplicaciones, las ramas inferiores de los arbolitos, fueron removidas, dejando solamente unas ocho ramas superiores por cada arbolito; estas a su vez fueron podadas a la altura del tercer par de hojas más viejas.

**5.6. Variables de respuesta.** Tanto para el tamizado de sustancias como para el bioanálisis, se registraron las siguientes variables:

**5.6.1 Porcentaje del área foliar del disco consumida** Se calculó a las 24 h, según la escala visual del programa Distrain 1.0 (Tomerlin y Howell 1988), en la cual el evaluador se adiestró previamente.

**5.6.2 Número de larvas muertas** Se evaluaron en dicho intervalo y luego cada 24 h, determinando el instar en el cual ocurrió la muerte. En todas las evaluaciones, el criterio de mortalidad de la larva fue considerado por la ausencia de movimiento, y para asegurar dicha evaluación la larva fue suavemente movida con un pincel; el cambio de color a una tonalidad negruzca fue un criterio adicional para dicha evaluación. La larva muerta era colocada en un recipiente limpio, después de transcurrir por lo menos dos días de haber diagnosticado la muerte.

**5.6.3 Efecto sobre el desarrollo** Para el bioanálisis, se determinó el tiempo de duración de los diferentes instares larvales y de la pupa, para lo cual cada día se anotó la fecha en que ocurrieron las mudas larvales, la conversión en pupa y la emergencia del adulto.

**5.6.4 Peso de pupas** Un día después del empupamiento, las pupas fueron pesadas en una balanza electrónica (Ohaus<sup>TM</sup>) y transferidas a frascos limpios, donde permanecieron hasta la emergencia de los adultos.

Para el experimento en el invernadero, se determinó el número de perforaciones en el brote terminal y en las axilas de las ramas, las cuales se debían a la alimentación y penetración de la larva. Además, se contabilizaron el número de montículos, así como el de brotes y ramas desprendidos al alimentarse las larvas. Se realizaron cuatro evaluaciones, a los 2, 4, 8 y 16 días después de la aplicación.

**5.7 Análisis estadístico.** En todos los casos se realizaron análisis de varianza (ANAVA), utilizando la prueba de F, y para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la prueba de jerarquización múltiple de Tukey, con un valor de significancia fijo de 5% ( $\alpha=0,05$ ). El paquete estadístico utilizado correspondió a SAS (SAS Institute 1985).

En el ANAVA del bioanálisis, se utilizó como término de error para los tratamientos, la interacción entre los tratamientos y las repeticiones, debido a que cada larva dentro de una unidad experimental correspondía a una submuestra. Para determinar si los datos tenían una distribución normal, los residuos de cada una de las variables se graficaron contra los valores predichos de éstas y los residuos se analizaron mediante la prueba de normalidad. También se efectuó la prueba de homogeneidad de varianzas.

Para la variable consumo de discos estas dos últimas pruebas indicaron dispersiones de los datos, lo que indujo a la transformación logarítmica, de raíz cuadrada y arcosenica de los datos; sin embargo, todo el análisis se realizó con los datos originales, pues con la transformación arcosenica el ajuste no fue significativo, y con las otras dos transformaciones los datos mostraron mayor dispersión.

Se utilizaron además pruebas de correlaciones entre el consumo de discos foliares y la mortalidad de larvas, para determinar en qué proporción explica la primera variable a dicha mortalidad larval.

Se utilizaron tres modelos lineales diferentes, dependiendo de los experimentos:

**Tamizado de sustancias.** En esta fase de los experimentos, el modelo correspondiente representa un diseño completamente aleatorizado,

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = Variable aleatoria observada.

$\mu$  = Promedio general.

$\tau_i$  = Efectos de los tratamientos (cada una de las sustancias evaluadas).

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental.

**Bioanálisis.** Se utilizó un modelo lineal, en el que se representó la interacción entre los tratamientos y las repeticiones como término de error para los tratamientos, para así separar la influencia del error de muestreo sobre el error experimental.

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \beta\tau_{ij} + \lambda_k$$

$Y_{ij}$  = Variable aleatoria observada.

$\mu$  = Promedio general.

$\tau_i$  = Efecto de la i-ésima concentración del extracto.

$\beta_j$  = Efecto del j-ésimo bloque.

$\beta\tau_{ij}$  = Error experimental.

$\lambda_{ijk}$  = Error de muestreo.

**Experimento en invernadero.** En el modelo para este experimento se representa el efecto anidado de la planta dentro del tratamiento, lo cual indica que cada planta colocada individualmente en la maceta correspondiente, puede tener respuestas diferentes al ataque de las larvas.

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta\tau_{j(i)} + \lambda_k + \tau\lambda_{ik} + \theta_{kj(i)}$$

Los términos de dicha ecuación tienen los siguientes significados:

$Y_{ijk}$  = Variable aleatoria observada.

$\mu$  = Promedio general.

$\tau_i$  = Efecto del i-ésimo extracto.

$\beta\tau_{j(i)}$  = Error de la parcela grande (extractos).

$\lambda_k$  = Efecto de la k-ésima evaluación.

$\tau\lambda_{ik}$  = Efecto del i-ésimo extracto y la j-ésima evaluación.

$\theta_{kj(i)}$  = Error de la parcela pequeña (evaluación).

$\beta_j$  = Efecto de la j-ésima repetición.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 TAMIZADO DE SUSTANCIAS

**Efecto fagodisuasivo.** Hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al porcentaje de consumo, al exponer la larva de *H. grandella* al disco foliar, para el primero ( $F= 5,19$ , g.l.= 18, 141,  $p \leq 0,0001$ ), el segundo ( $F= 11,76$ , g.l.= 9, 78,  $p \leq 0,0001$ ) y el tercer experimentos ( $F= 9,06$ , g.l.= 7, 64,  $p \leq 0,0001$ ).

En el experimento I, con excepción de la ruda y los dos extractos de *Q. amara*, no hubo diferencias entre las medias de los tratamientos. Los menores porcentajes de consumo foliar correspondieron a los dos tratamientos de madera de *Q. amara*, con un promedio de 2% para el extracto metanólico y 4,88% para el de metanol más agua (Cuadro 1, Fig. 1A). Estos no difirieron entre sí; tampoco difirieron de los tratamientos de ruda, madero negro, zacate limón, sorosí y orégano. El extracto de *Q. amara* más agua tampoco difirió de los tratamientos de culantro de castilla y chile picante, mientras que la ruda solo difirió de los tratamientos de apazote, chile muelo y el agente tensoactivo, que fueron los tres tratamientos con los valores de consumo más altos.

En el experimento II los tratamientos de Eugenol, Azatín y Nim 80, cuyos porcentajes de daño fueron los más bajos, no difirieron entre sí, pero sí del testigo absoluto (Cuadro 1, Fig. 1B). Los demás tratamientos no difirieron del testigo. El Azatín y el Eugenol difirieron de todos los demás, mientras que el Nim 80 difirió de los tratamientos de agua y Liqufruta, cuyos porcentajes de daño fueron los más altos (Cuadro 1, Fig. 1B).

En el experimento III, los tratamientos de follaje de *Q. amara* y tacaco cimarrón tuvieron los valores más bajos de consumo y no difirieron entre sí, pero sí de los demás tratamientos, excepto del Nim 20; este último no difirió de los demás (Cuadro 1, Fig. 1C).

**Cuadro 1. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con diferentes extractos vegetales, por parte de las larvas de tercer ínstar de *H. grandella*, En tres Experimentos.**

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Experimento I</b>				
Agua	16	36,31 ± 18,64 ab	0 - 70	51,32
A.tens	8	42,12 ± 17,18 a	16 - 68	40,79
Apaz	8	46,00 ± 15,68 a	24 - 70	34,10
Mader	8	21,00 ± 16,57 abcd	0 - 46	78,90
CCast.	8	30,25 ± 15,16 abc	0 - 54	50,13
Ajo	8	34,88 ± 18,57 ab	4 - 67	53,26
Menta	8	36,62 ± 19,94 ab	12 - 66	54,45
Zacat	8	21,38 ± 15,16 abcd	0 - 42	70,95
Eucal	8	37,25 ± 15,79 ab	18 - 61	42,39
Clavo	8	34,75 ± 12,52 ab	24 - 60	36,03
Soros	8	25,75 ± 16,85 abcd	0 - 45	65,44
Orég	8	29,00 ± 19,19 abcd	0 - 51	66,18
ChPic	8	31,12 ± 7,75 abc	20 - 45	24,91
Ruda	8	12,25 ± 11,54 bcd	0 - 32	94,17
CCoyo	8	37,62 ± 17,39 ab	0 - 52	46,23
ChMu	8	44,62 ± 12,86 a	32 - 64	28,82
Gavil	8	34,12 ± 18,40 ab	0 - 62	53,93
Q+M	8	2,00 ± 3,34 d	0 - 9	166,90
Q+M+A	8	4,88 ± 5,72 cd	0 - 15	117,29
<b>Experimento II</b>				
Agua	16	33,12 ± 14,01 a	0 - 62	42,29
A.tens	8	29,25 ± 6,43 ab	20 - 36	21,99
Nim80	8	14,38 ± 7,63 bc	5 - 23	53,10
BNim	8	21,75 ± 14,79 ab	0 - 37	68,01
Marg	8	19,62 ± 14,01 ab	0 - 40	71,39
Azat	8	2,88 ± 2,42 c	0 - 7	84,05
Nim-E	8	25,75 ± 8,68 ab	14 - 38	33,71
Taget	8	29,88 ± 11,17 ab	15 - 48	37,38
Liquif	8	34,00 ± 8,14 a	23 - 48	23,94
Eugen	8	0,00 ± 0,00 c	0 - 0	
<b>Experimento III</b>				
Agua	16	43,81 ± 17,76 a	0 - 70	40,53
A.tens	8	36,12 ± 24,73 a	12 - 85	68,46
Metanol	8	43,38 ± 19,03 a	32 - 90	43,88
Nim20	8	27,25 ± 11,89 ab	8 - 42	43,63
QFoll	8	5,62 ± 4,34 b	0 - 12	77,16
Tacac	8	9,50 ± 7,91 b	0 - 21	83,26
Biome	8	45,25 ± 9,13 a	30 - 63	20,18
Detur	8	39,50 ± 14,46 a	20 - 57	36,61

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de

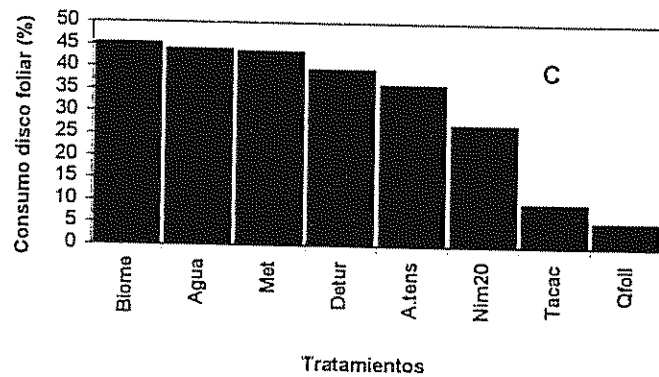
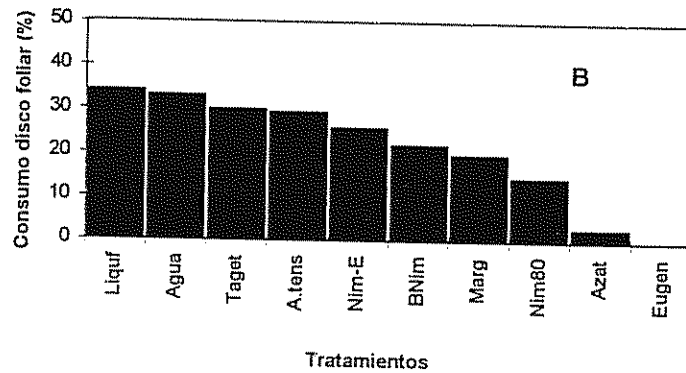
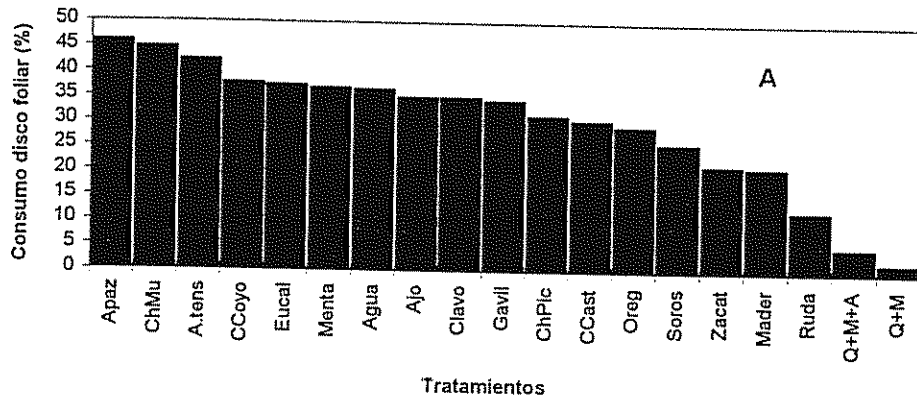


Figura 1. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con diferentes extractos vegetales, al exponer larvas de tercer instar de *H. grandella*. Experimentos I (A), II (B) y III(C).



**Efecto sobre el desarrollo.** Con respecto a la mortalidad de larvas, hubo diferencias en el primero ( $F=2,44$ , g.l.= 18, 140,  $p<0,005$ ), segundo ( $F= 7,48$ , g.l.= 9, 76,  $p\leq 0,0001$ ) y tercer experimentos ( $F= 13,99$ , g.l.= 7, 64,  $p\leq 0,0001$ ).

En el experimento I, el mayor número de larvas muertas correspondió al tratamiento Quassia+metanol+agua, donde solo una larva sobrevivió; éste difirió de todos los demás. Al día siguiente de las aplicaciones se habían registrado las dos primeras larvas muertas. Además, en el momento de separar las larvas de los discos, se observó que éstas se encontraban en la tapa del frasco o se alejaban, evitando el contacto con el disco.

Los tratamientos de sorosí, Quassia+metanol, ruda, clavo de olor, orégano, gabilana y zacate limón no difirieron del anterior (Cuadro 2, Fig. 2A). No hubo diferencias entre estos últimos tratamientos y los demás. Los tres primeros siguieron al anterior con respecto a la mortalidad larval. En el primero hubo dos larvas muertas al día siguiente y las otras dos larvas murieron a partir del sexto día. En Quassia+metanol las muertes ocurrieron entre el primer y tercer día de las aplicaciones, mientras que en la ruda, entre el primer y tercer días habían muerto tres larvas; la cuarta larva muerta fue registrada al sexto día. En cuatro de las larvas se observó el alejamiento del disco tratado, incluyendo a las tres larvas que murieron a partir del tercer día de las aplicaciones.

En el experimento II, el Eugenol, el Azatín y el Bio-Nim difirieron del testigo absoluto, y los demás tratamientos no difirieron de éste. El agente tensoactivo y el agua fueron los que tuvieron los valores más bajos de mortalidad. En el Eugenol todas las larvas murieron al siguiente día de las aplicaciones. En el Azatín solo una sobrevivió y tres larvas murieron al día siguiente de la exposición; al tercer día ya había más de un 50% de mortalidad. En el tratamiento de Bio-Nim también solo una larva sobrevivió, y solamente dos murieron entre el primer y tercer días después de las aplicaciones (Cuadro 2, Fig. 2B).

En el caso de Nim 80, al día siguiente de las aplicaciones habían muerto dos larvas, y el cuarto día la mortalidad alcanzó a cinco. La primera larva muerta con el Margosan fue

registrada al tercer día y las restantes larvas murieron días después. Con el extracto crudo de nim las tres primeras muertes ocurrieron entre el tercer y cuarto días después de las aplicaciones. En los tratamientos de Tagetes y Liqufruta, las dos larvas que murieron en cada uno de ellos se registraron como tales a partir del cuarto día de las aplicaciones.

**Cuadro 2. Número total de larvas de tercer instar de *H. grandella* muertas en los diferentes extractos vegetales, en tres experimentos.**

Tratamiento	N	Mortalidad	
		Nº	%
<b>Experimento I</b>			
Agua	16	1 a	6,25
A.tens	8	1 a	12,50
Apaz	8	1 a	12,50
Mader	8	1 a	12,50
CCast	8	1 a	12,50
Ajo	8	3 ab	37,50
Menta	8	1 a	12,50
Zacat	8	2 ab	25,00
Eucal	8	1 a	12,50
Clavo	8	3 ab	37,50
Soros	8	4 ab	50,00
Orég	8	3 ab	37,50
ChPic	8	1 a	12,50
Ruda	8	4 ab	50,00
CCoyo	8	1 a	12,50
ChMu	8	0 a	0,00
Gavil	8	2 ab	25,00
Q+M	8	4 ab	50,00
Q+M+A	8	7 b	87,50
<b>Experimento II</b>			
Agua	16	2 ab	12,50
A.tens	8	1 a	12,50
Nim80	8	6 bcd	75,00
BNim	8	7 cd	87,50
Marg	8	6 bcd	75,00
Azat	8	7 cd	87,50
Nim-E	8	5 abcd	62,50
Taget	8	2 abc	25,00
Liquf	8	2 abc	25,00
Eugen	8	8 d	100,00
<b>Experimento III</b>			
Agua	16	1 ab	6,25
A.tens	8	2 ab	25,00
Metanol	8	1 ab	12,50
Nim20	8	8 d	100,00
QFoll	8	4 bc	50,00
Tacac	8	7 cd	87,50
Biome	8	0 a	0,00
Detur	8	0 a	0,00

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

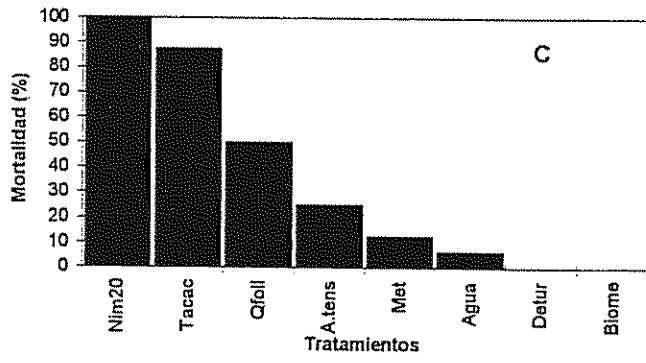
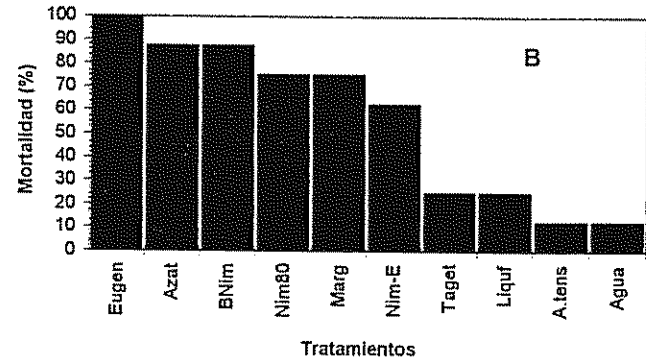
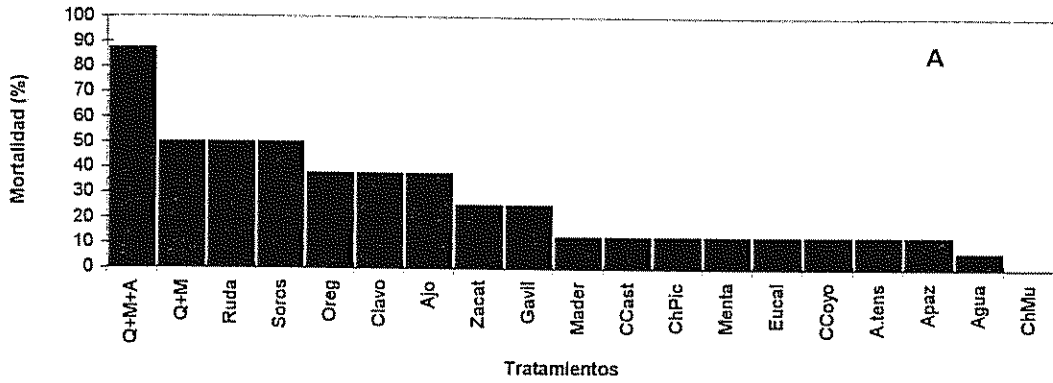


Figura 2. Porcentaje promedio de la mortalidad de larvas de *H. grandella* en los diferentes extractos vegetales. Experimentos I (A), II(B) y III(C).

En el experimento III, el Nim 20 y el tacaco cimarrón, difirieron del agua. Los tratamientos restantes no tuvieron diferencias con esta última. Entre los tratamientos tacaco cimarrón y Nim 20 no hubo diferencias, y tampoco las hubo entre el primero y el follaje de *Q. amara*. Con el Nim 20 todas las larvas murieron, y empezaron a morir a partir del tercer día de las aplicaciones, y luego la mortalidad fue gradual. Con el tacaco cimarrón solo una sobrevivió, y las demás murieron entre el primer y tercer días después de las aplicaciones; la única larva sobreviviente mostró inapetencia por la alimentación durante los primeros días de haber sido colocada en la dieta artificial. En el tratamiento de follaje de *Q. amara* tres larvas murieron entre el tercer y cuarto días de las aplicaciones, y la otra larva permaneció viva por 13 días; las dos últimas larvas registradas como muertas, así como una de las sobrevivientes, estaban alejadas del disco

La mortalidad entre los testigos fue muy parecida en este experimento, registrándose solo dos larvas muertas en el agente tensoactivo y una en cada uno de los otros dos testigos (agua y metanol). Los tratamientos de Biomel y Detur no causaron mortalidad (Cuadro 2, Fig. 2C).

En los tres experimentos hubo correlación entre el consumo de disco y la mortalidad de las larvas ( $p \leq 0,0001$ ), aunque el valor de  $R^2$  fue bajo.

## 6.2 BIOANALISIS

### 6.2.1 Extractos de *Quassia amara*

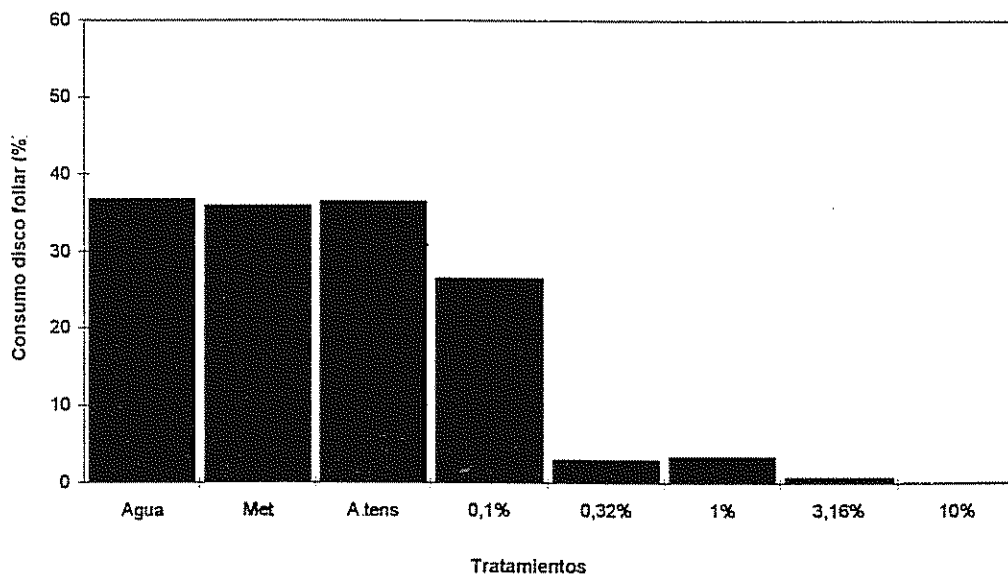
**Efecto fagodisuasivo.** En cuanto al porcentaje de consumo de los discos foliares, hubo diferencias entre los tratamientos, tanto en el experimento con el extracto de madera ( $F = 68,42$ ,  $g.l. = 7, 21$ ,  $p \leq 0,0001$ ), como en el de follaje ( $F = 75,66$ ,  $g.l. = 7, 21$ ,  $p \leq 0,0001$ ) (Cuadro 3, Fig. 3).

En relación con la madera de *Q. amara*, los menores valores correspondieron a las concentraciones de 10, 3,16, 1 y 0,32%; estos no difirieron entre sí, pero sí con los demás (Cuadro 3); la concentración al 0,1% no difirió de los testigos. El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió al modelo potencial (Fig. 4A).

**Cuadro 3. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con madera y follaje de *Q. amara*, por parte de las larvas de tercer instar de *H. grandella*.**

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>QMad</b>				
10%	28	0,14 ± 0,36 a	0 - 1	249,44
3,16%	28	0,68 ± 0,82 a	0 - 3	120,68
1%	28	3,36 ± 1,75 a	1 - 7	52,04
0,32%	28	2,93 ± 4,40 a	0 - 23	150,41
0,1%	28	26,50 ± 13,85 b	4 - 69	52,25
A.tens	28	36,43 ± 15,03 b	0 - 62	41,25
Metanol	28	35,86 ± 16,51 b	0 - 74	46,04
Agua	56	36,75 ± 15,77 b	0 - 69	42,90
<b>QFoll</b>				
10%	28	2,75 ± 2,76 d	0 - 11	100,26
3,16%	28	5,32 ± 3,68 d	0 - 12	69,20
1%	28	25,18 ± 10,30 c	1 - 43	40,92
0,32%	28	33,71 ± 11,39 bc	16 - 56	33,79
0,1%	28	42,89 ± 15,66 ab	0 - 76	36,51
A.tens	28	52,50 ± 23,47 a	0 - 91	44,71
Metanol	28	43,53 ± 14,01 ab	16 - 70	32,18
Agua	56	53,75 ± 17,76 a	0 - 95	33,04

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.



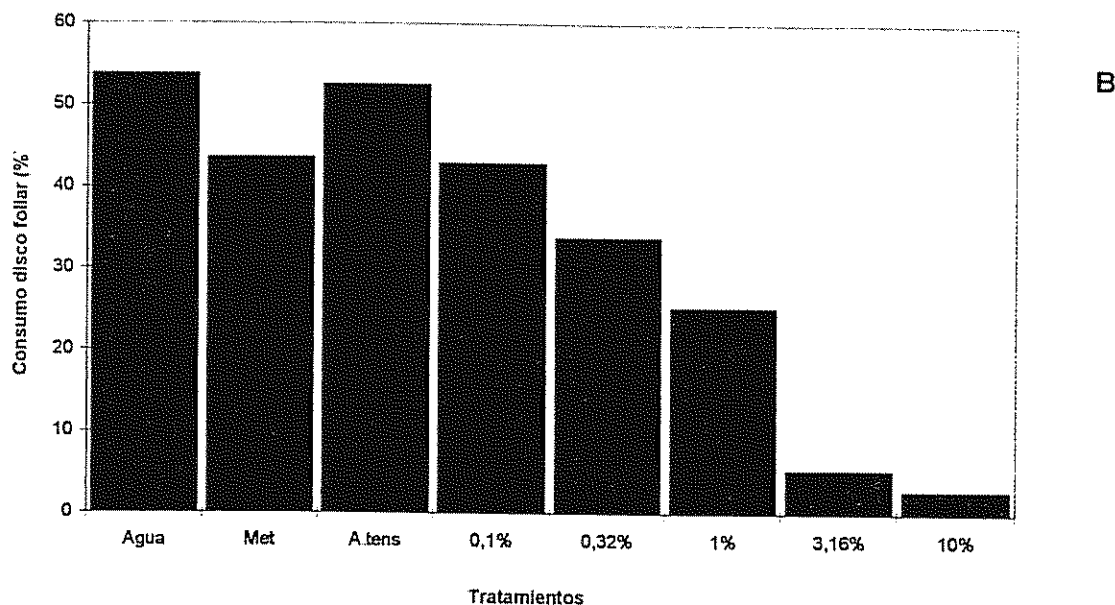


Figura 3. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con el extracto de madera (A) y de follaje (B) de *Q. amara*, al exponer larvas de tercer instar de *H. grandella* por 24 h.

En cuanto al follaje de *Q. amara*, los tratamientos con las mayores concentraciones (10 y 3,16%), cuyos promedios fueron los más bajos, no difirieron entre sí, pero sí con los demás. Les siguió la concentración al 1%, la cual no difirió con el tratamiento al 0,32%, pero sí con los testigos. Los mayores valores de consumo correspondieron a la menor concentración y a los tres testigos, los cuales no difirieron entre sí (Cuadro 3, Fig.3B). Al incrementarse la concentración del extracto se redujo el consumo de los discos. El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió al modelo potencial (Fig. 4B).

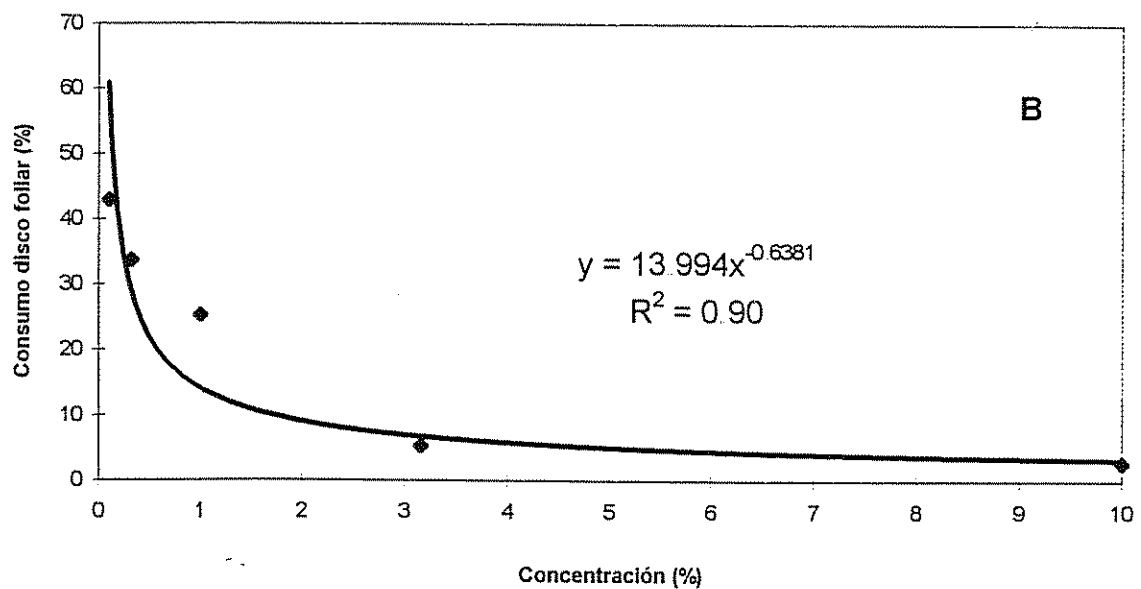
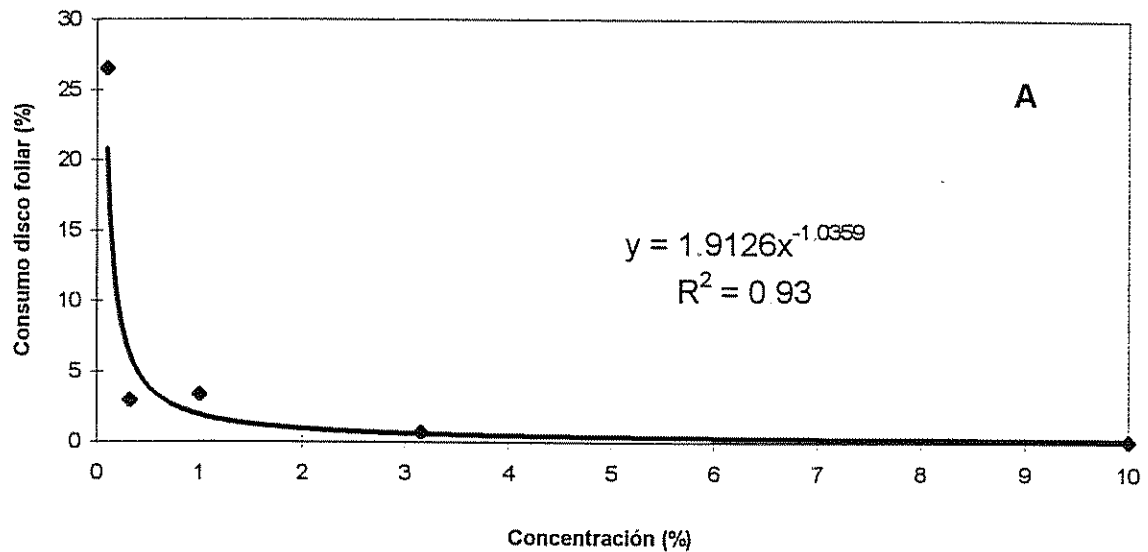


Figura 4. Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de *H. grandella* a concentraciones crecientes del extracto de madera (A) y follaje (B) de *Q. amara*. La línea continua muestra la tendencia esperada (teórica).

**Efecto sobre el desarrollo.** Con respecto a la mortalidad, con el extracto de madera de *Q. amara* hubo diferencias entre los tratamientos ( $F= 4,27$ ,  $g.l.= 7, 21$ ,  $p \leq 0,01$ ). El mayor valor correspondió a la concentración del 1%, el cual difirió de los testigos y la concentración al 0,1%; éste no tuvo diferencias con las concentraciones al 10, 3,16 y 0,32%, las cuales tampoco tuvieron diferencias con los demás tratamientos (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Número total de larvas de tercer instar de *H. grandella* muertas en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.**

Tratamiento	N	Mortalidad	
		N°	%
<b>Q Mad</b>			
10%	28	8 ab	28,57
3,16%	28	8 ab	28,57
1%	28	14 b	50,00
0,32%	28	8 ab	28,57
0,1%	28	2 a	7,14
A.tens	28	3 a	10,71
Metanol	28	0 a	0,00
Agua	56	6 a	10,71
<b>Q Foll</b>			
10%	28	3 a	10,71
3,16%	28	6 a	21,43
1%	28	5 a	17,86
0,32%	28	0 a	0,00
0,1%	28	3 a	10,71
A.tens	28	3 a	10,71
Metanol	28	1 a	3,57
Agua	56	1 a	1,79

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

En todos los tratamientos donde hubo muerte de larvas, ésta ocurrió en fechas diferentes (Anexo 1), pero en las cuatro concentraciones más altas del extracto al menos el 20% de larvas habían muerto al 4° día después de las aplicaciones.

No hubo diferencias en la duración de los instares larvales cuarto ( $F= 0,91$ ,  $g.l.= 7, 21$ ,  $p \geq 0,05$ ) y quinto ( $F= 1,71$ ,  $g.l.= 7, 21$ ,  $p \geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F= 1,22$ ,  $g.l.= 7, 21$ ,  $p \geq 0,05$ ) entre los tratamientos (Anexos 2-4). Tampoco hubo diferencias con relación con el peso de la pupa ( $F= 1,34$ ,  $g.l.= 7, 21$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Anexo 5).



Con el follaje de *Q. amara* la mortalidad no difirió entre los tratamientos ( $F= 2,17$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Cuadro 4). La concentración al 3,16% fue la única que causó una mortalidad total mayor al 20%, y esto se logró después del 7° día a partir de las aplicaciones. En la concentración al 0,32% no se registraron larvas muertas, mientras que en los demás tratamientos se habían registrado muertes en algunos de ellos desde el primer día de las aplicaciones; para el 4° día habían muerto en todos los tratamientos, excepto en el testigo, donde solo murió una larva después del 7° día desde la aplicación (Anexo 1).

No hubo diferencias en la duración de los instares larvales cuarto ( $F= 1,42$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \geq 0,05$ ) y quinto ( $F= 2,26$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F= 0,93$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Anexos 2-4). Tampoco las hubo en el peso de la pupa ( $F= 0,83$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Anexo 5).

### 6.2.2 Derivados del nim (*Azadirachta indica*)

**Efecto fagodisuasivo.** Con el Azatín hubo grandes diferencias entre los tratamientos, con respecto al porcentaje de consumo de los discos foliares ( $F= 123,56$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \leq 0,0001$ ). Las cinco concentraciones utilizadas fueron eficaces, y no hubo diferencias entre ellas, pero sí con las demás. Les siguió el metanol, el cual difirió de los otros dos testigos, y estos últimos no difirieron entre sí (Cuadro 5, Fig. 5A). El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió al modelo potencial (Fig. 6A).

Cuadro 5. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con Azatin y Nim 80, por parte de las larvas de tercer instar de *H. grandella*.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Azatin</b>				
10%	28	0,39 ± 0,88 c	0 - 4	222,76
3,16%	28	0,93 ± 1,24 c	0 - 4	134,09
1%	28	1,75 ± 2,14 c	0 - 9	122,09
0,32%	28	2,54 ± 2,18 c	0 - 8	86,19
0,1%	28	6,00 ± 4,46 c	0 - 20	74,26
A.tens	28	31,93 ± 18,13 a	0 - 75	56,79
Metanol	28	17,18 ± 8,14 b	0 - 38	47,37
Agua	56	30,46 ± 15,42 a	0 - 67	50,61
<b>Nim 80</b>				
10%	28	31,39 ± 14,44 b	0 - 58	45,98
3,16%	28	42,14 ± 15,05 ab	18 - 84	35,72
1%	28	50,71 ± 17,19 ab	0 - 80	33,90
0,32%	28	49,78 ± 17,44 ab	0 - 81	35,03
0,1%	28	39,21 ± 14,16 ab	10 - 66	36,12
A.tens	28	57,11 ± 13,78 a	37 - 92	24,12
Metanol	28	57,54 ± 15,33 a	28 - 94	26,65
Agua	56	51,36 ± 21,05 ab	0 - 98	40,98

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

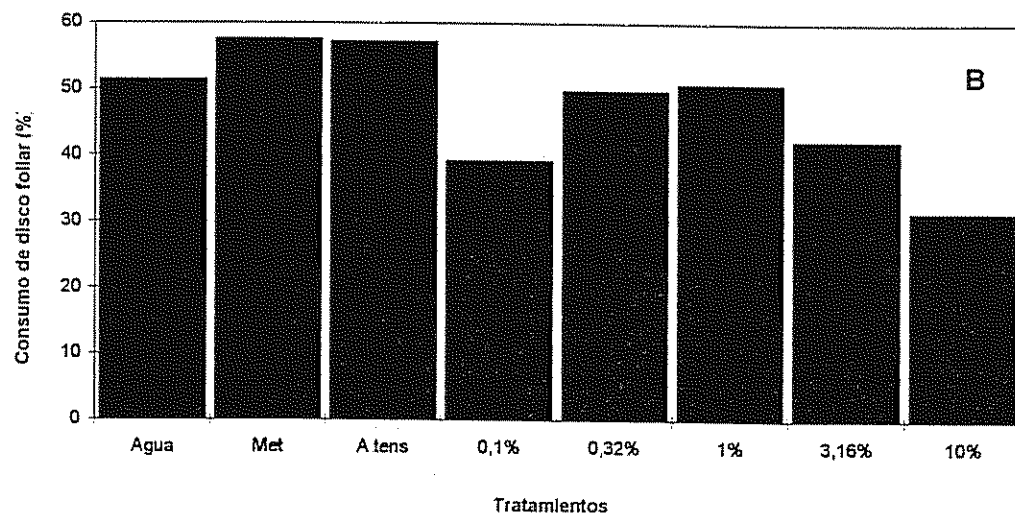
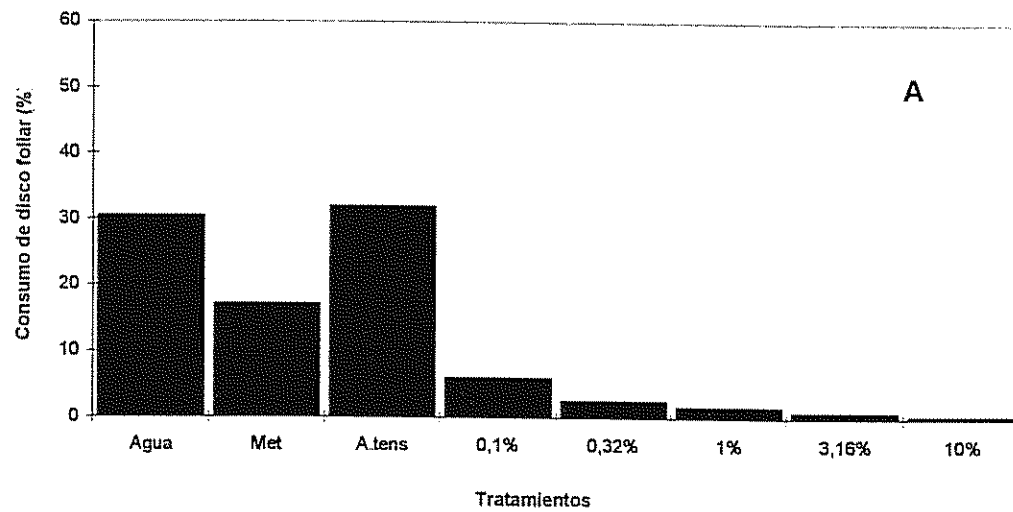


Figura 5. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con Azatin (A) y Nim 80 (B), al exponer larvas de tercer instar de *H. grandella* por 24 h.

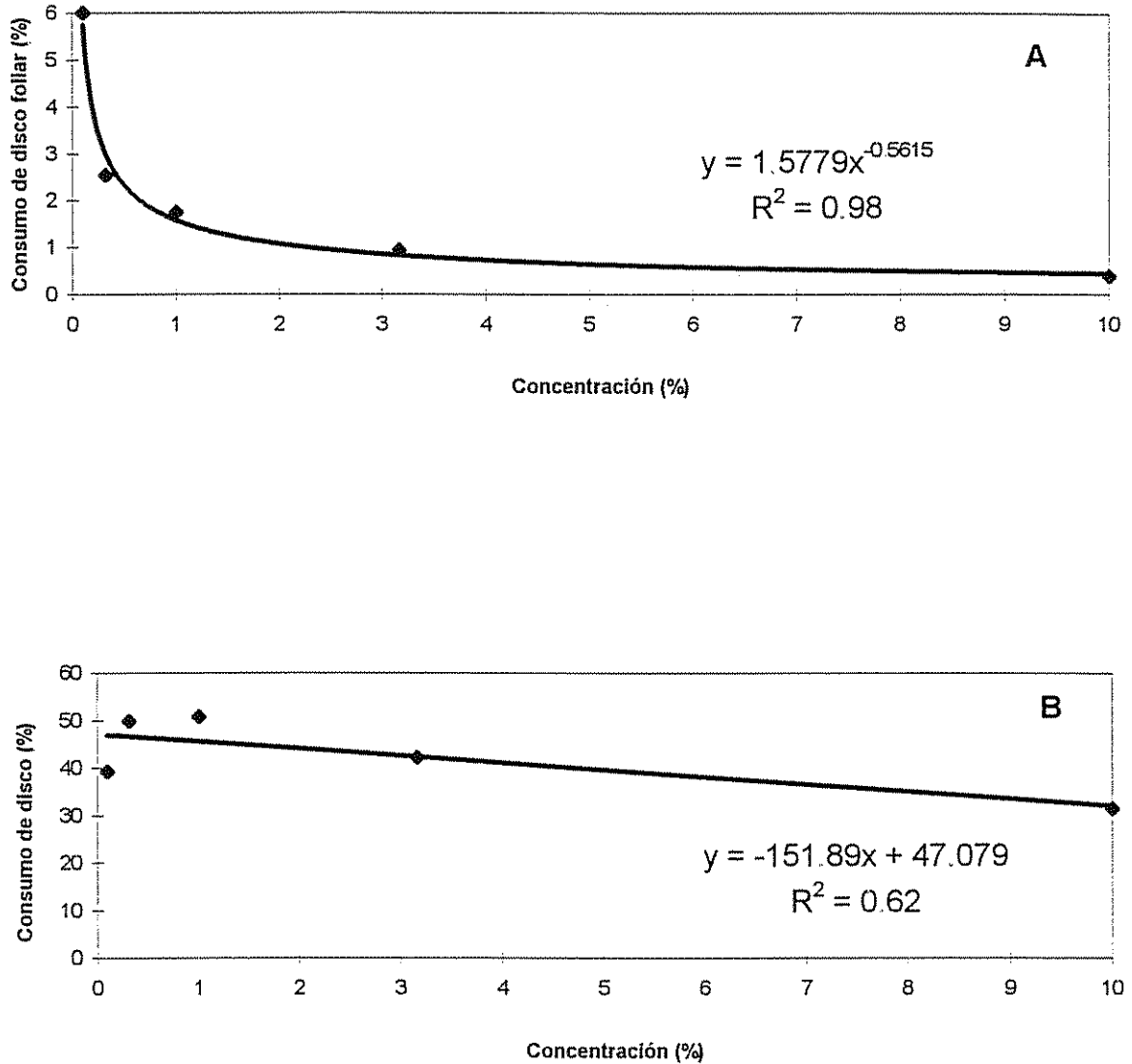


Figura 6. Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de *H. grandella* a concentraciones crecientes del extracto de Azatin (A) y Nim 80 (B). La línea continua muestra la tendencia esperada (teórica).

Con el Nim 80 las diferencias entre los tratamientos fueron significativas ( $F= 3,49$ ,  $g.l.= 7$ ,  $21$ ,  $p \leq 0,05$ ). El tratamiento con el menor valor de consumo correspondió a la mayor concentración, el cual solo difirió de dos testigos (agente tensoactivo y metanol), que fueron los tratamientos con un mayor valor de consumo foliar; sin embargo, se comportó de manera similar a los demás, incluso al agua, con los cuales no tuvo diferencias. Tampoco las hubo entre los demás tratamientos (Cuadro 5, Fig. 5B). El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió a un modelo lineal (Fig. 6B).

**Efecto sobre el desarrollo.** Con el Azatín hubo grandes diferencias ( $F= 15,42$ ,  $g.l.=7$ ,  $21$ ,  $p \leq 0,0001$ ) en la mortalidad de larvas (Cuadro 6). Los tratamientos donde ésta fue mayor fueron aquellos que incluyeron a dicho producto, los cuales no difirieron entre sí, pero sí con los testigos; no hubo diferencias entre estos últimos.

Cuadro 6. Número total de larvas de tercer instar de *H. grandella* muertas en los tratamientos con Azatín y Nim 80.

Tratamiento	N	Mortalidad	
		Nº	%
<b>Azatín</b>			
10%	28	27 b	96,43
3,16%	28	25 b	89,29
1%	28	24 b	85,71
0,32%	28	22 b	78,57
0,1%	28	19 b	67,86
A.tens	28	6 a	21,43
Metanol	28	7 a	25,00
Agua	56	14 a	25,00
<b>Nim 80</b>			
10%	28	27 bc	96,43
3,16%	28	28 c	100,00
1%	28	22 b	78,57
0,32%	28	5 a	17,86
0,1%	28	0 a	0,00
A.tens	28	4 a	14,29
Metanol	28	1 a	3,57
Agua	56	3 a	5,36

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Al primer día después de las aplicaciones las dos mayores concentraciones habían causado más del 50% de mortalidad, mientras que la siguiente concentración (1%) al 2° día había sobrepasado dicho valor; las dos menores concentraciones causaron el 50% de mortalidad al 3° y 6° días después de las aplicaciones, respectivamente (Fig. 7A, Anexo 6). En estos dos tratamientos la mortalidad ocurrió gradualmente, hasta el 3° y 4° días, luego de los cuales hubo poca respuesta de mortalidad, la cual subió después del 7° día desde las aplicaciones. Una respuesta similar también se observó en las tres mayores concentraciones, las cuales causaron la mayor mortalidad al 2° día, a partir del cual hubo muy poca mortalidad.

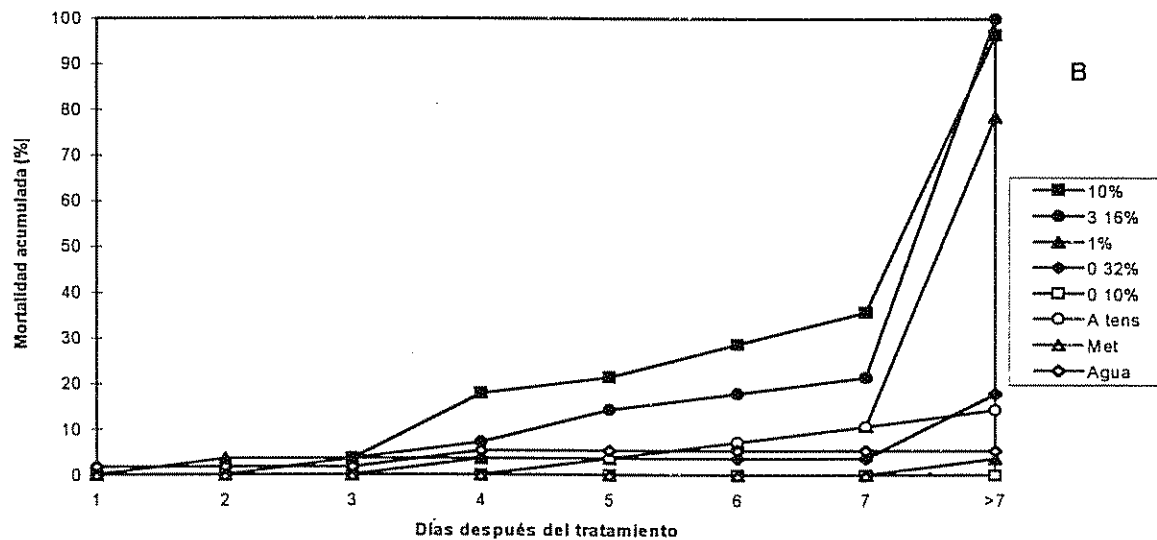
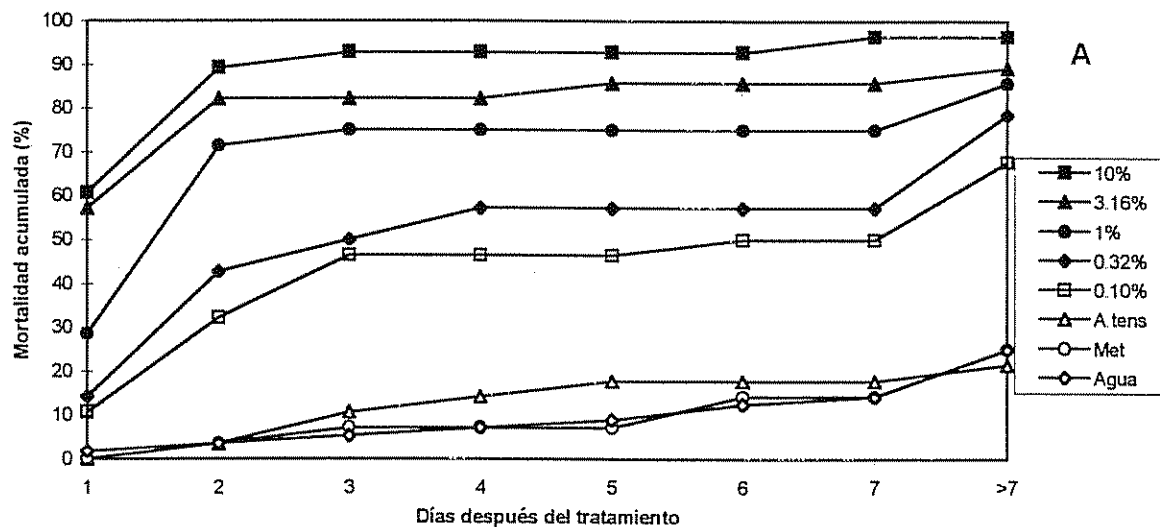


Figura 7 Mortalidad acumulada de larvas de tercer instar de *H. grandella* a diferentes concentraciones de Azatín (A) y Nim 80 (B).

No hubo diferencias en la duración de los instares larvales cuarto ( $F= 1,88$  g.l. = 7, 21,  $p \geq 0,05$ ) y quinto ( $F= 1,01$  g.l. = 7, 21,  $p \geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F= 0,28$  g.l. = 7, 21,  $p \geq 0,05$ ). Cabe destacar que la duración de la única larva que sobrevivió a la mayor concentración fue el doble del tiempo normal; sin embargo, por tratarse de apenas una larva, es difícil conocer las tendencias generales (Anexos 7, 8, 9). Tampoco hubo diferencias entre los tratamientos en cuanto al peso de la pupa ( $F= 1,14$  g.l. = 7, 21,  $p \geq 0,05$ ) (Anexo 10).

Con el Nim 80 hubo grandes diferencias en la mortalidad de larvas ( $F= 106,28$ , g.l. = 7, 21,  $p \leq 0,0001$ ). Las tres mayores concentraciones mostraron los mayores valores de mortalidad; ésta fue total al 3,16%, la cual difirió con los demás tratamientos, excepto con el de 10%, en el que solo una larva sobrevivió. Las dos menores concentraciones no difirieron de los testigos (Cuadro 6).

La mortalidad fue gradual a través del tiempo. En los primeros tres días su valor en general fue bajo, y aún al 7° día en ninguno de los tratamientos se había alcanzado el 40% de mortalidad. Las larvas murieron después del 7° días desde las aplicaciones (Fig. 7B, Anexo 6). Fue llamativo que a las tres mayores concentraciones, en el momento de la muda la exuvia quedaba adherida a la larva, formando una especie de constricción que no le permitía liberarse de ella, luego de lo cual la larva moría.

No hubo diferencias en la duración de los instares larvales cuarto ( $F= 2,70$  g.l. = 7, 21,  $p \geq 0,05$ ) y quinto ( $F= 2,40$  g.l. = 6, 21,  $p \geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F= 0,40$  g.l. = 6, 21,  $p \geq 0,05$ ) (Anexos 7-9); a la mayor concentración sobrevivió apenas una larva. Para el peso de la pupa hubo diferencias entre los tratamientos ( $F= 9,78$  g.l. = 6, 21,  $p \leq 0,001$ ), pero el único que lo hizo con claridad fue la mayor concentración (10%); no obstante, el dato se basó en la única larva sobreviviente



### 6.2.3 Otros extractos vegetales

**Efecto fagodisuasivo.** Hubo grandes diferencias entre los tratamientos con respecto al consumo de los discos foliares, tanto para la ruda ( $F= 26,23$ , g.l.= 7, 21,  $p \leq 0,0001$ ) como para el tacaco cimarrón ( $F= 82,95$ , g.l.= 7, 21,  $p \leq 0,0001$ ) (Cuadro 7, Fig. 8).

**Cuadro 7.** Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con ruda y tacaco cimarrón, por parte de las larvas de tercer instar de *H. grandella*.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Ruda</b>				
10%	28	6,21 ± 7,44 bc	0-30	119,65
3,16%	28	3,39 ± 3,28 c	0-11	96,71
1%	28	8,46 ± 7,98 bc	0-28	94,27
0,32%	28	13,11 ± 7,44 b	0-32	56,80
0,1%	28	25,25 ± 13,12 a	0-45	51,98
A.tens	28	28,85 ± 9,90 a	9-48	34,30
Metanol	28	24,21 ± 15,69 a	0-48	64,82
Agua	56	22,80 ± 11,87 a	0-45	52,05
<b>Tacaco cimarrón</b>				
10%	28	2,50 ± 2,24 d	0-9	89,44
3,16%	28	4,86 ± 3,22 cd	0-13	66,23
1%	28	8,21 ± 5,58 cd	0-23	67,93
0,32%	28	13,25 ± 6,81 c	0-35	51,42
0,1%	28	30,18 ± 11,03 b	11-46	36,54
A.tens	28	45,04 ± 16,29 a	24-89	36,18
Metanol	28	38,36 ± 13,74 ab	0-63	35,82
Agua	56	41,82 ± 12,66 a	0-69	30,27

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

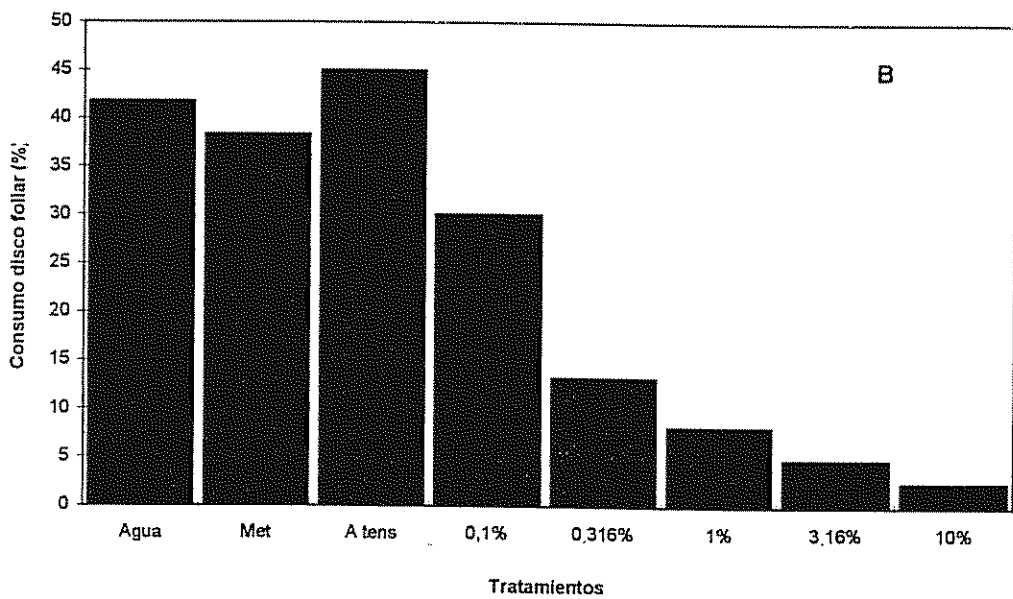
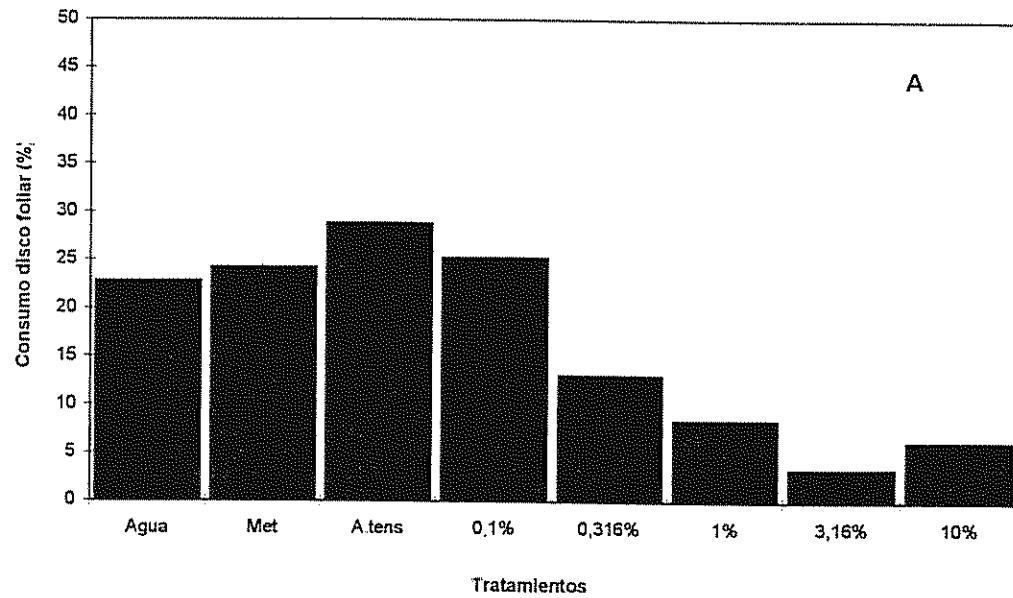


Figura 8. Porcentaje promedio de consumo de discos foliares de cedro tratados con ruda (A) y tacaco cimarrón (B), al exponer larvas de tercer instar de *H. grandella* por 24 h.

Con la ruda el menor consumo correspondió a las cuatro mayores concentraciones (Fig. 8A), las cuales difirieron de los testigos y de la menor concentración (0,1%), que no difirieron entre sí; las tres mayores concentraciones no difirieron entre sí. La concentración al 0,32% no difirió de las tres superiores, excepto del 3,16%, que tuvo el menor valor de consumo. El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió al modelo potencial (Fig. 9A).

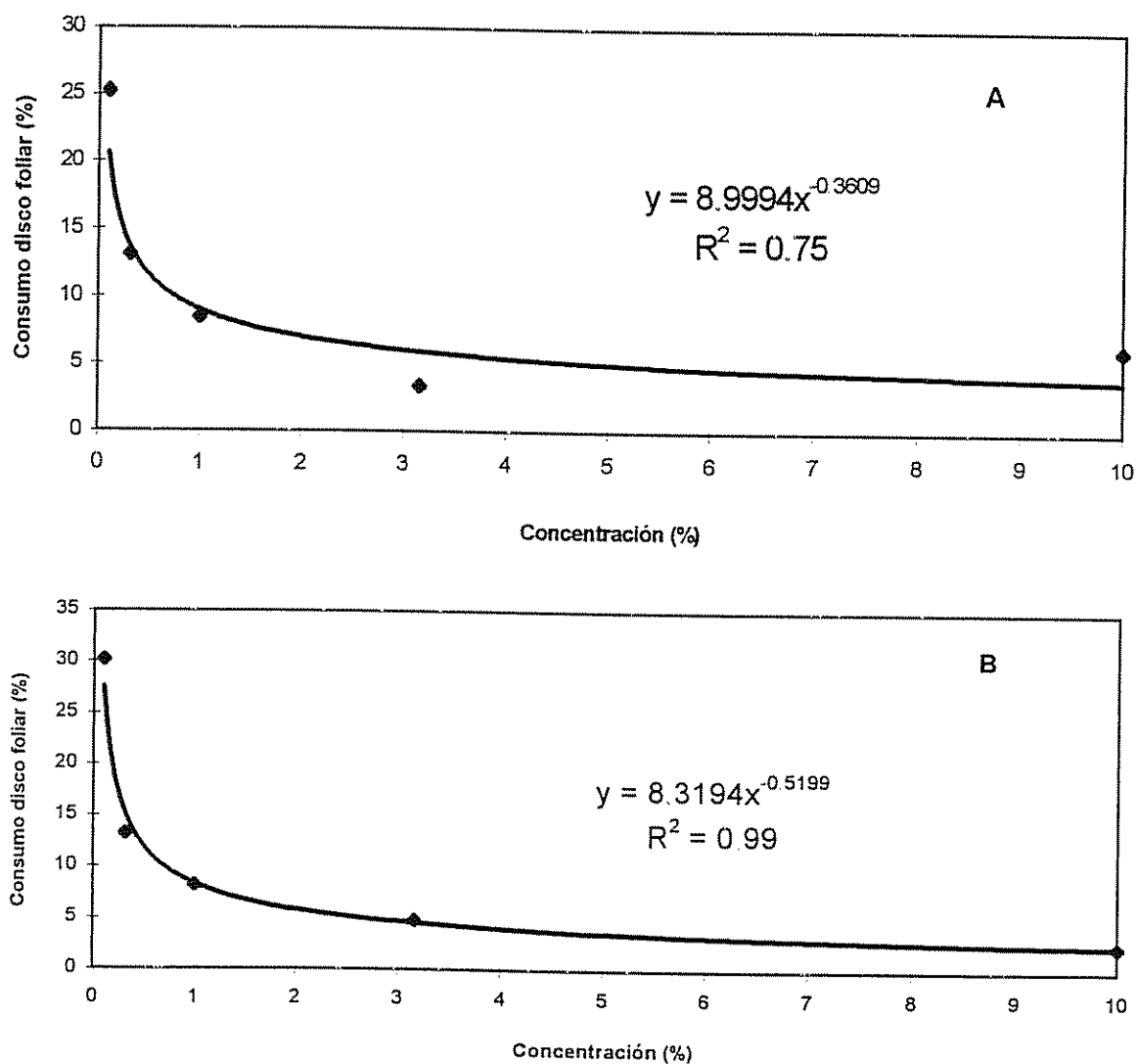


Figura 9. Relación entre el consumo de discos foliares de cedro por larvas de tercer instar de *H. grandella* a concentraciones crecientes de los extractos de ruda (A) y tacacó cimarrón (B). La línea continua muestra la tendencia esperada (teórica).

Con el tacaco cimarrón el menor consumo también se presentó a las tres mayores concentraciones (Fig. 8B), las cuales no difirieron entre sí, pero sí con los testigos y la menor concentración. Les siguió la concentración al 0,32%, la cual no difirió de las anteriores, excepto de la mayor concentración. Los mayores valores de consumo correspondieron a los testigos, los cuales no difirieron entre ellos pero sí con los demás; sin embargo, un testigo (metanol) no difirió de la menor concentración (Cuadro 7). El mejor ajuste de la curva de respuesta correspondió al modelo potencial (Fig. 9B).

**Efecto sobre el desarrollo.** Con la ruda los tratamientos no difirieron en cuanto a la mortalidad de las larvas ( $F= 1,14$ ,  $g l= 7, 21$ ,  $p \geq 0,05$ ), aunque su mayor valor correspondió a la mayor concentración (Cuadro 8). Las muertes ocurrieron desde el primer día después de las aplicaciones, pero en ninguno de los tratamientos se alcanzó un valor superior al 50% (Anexo 11).

**Cuadro 8. Número total de larvas de tercer instar de *H. grandella* muertas en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.**

Tratamiento	N	Mortalidad	
		N°	%
<b>Ruda</b>			
10%	28	13 a	46,43
3,16%	28	9 a	32,14
1%	28	10 a	35,71
0,32%	28	6 a	21,43
0,1%	28	7 a	25,00
A.tens	28	5 a	17,86
Metanol	28	6 a	21,43
Agua	56	17 a	30,36
<b>Tacaco cimarrón</b>			
10%	28	25 c	89,29
3,16%	28	13 b	46,43
1%	28	8 ab	28,57
0,32%	28	7 ab	25,00
0,1%	28	2 a	7,14
A.tens	28	4 a	14,29
Metanol	28	2 a	7,14
Agua	56	4 a	7,14

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

No hubo diferencias entre los tratamientos, para la duración de los instares larvales cuarto ( $F= 0,65$ ,  $g.l= 7, 21$ ,  $p\geq 0,05$ ) y quinto ( $F= 0,77$ ,  $g.l= 7, 21$ ,  $p\geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F= 1,07$ ,  $g.l= 7, 21$ ,  $p\geq 0,05$ ) (Anexos 12-14), y tampoco las hubo en el peso de la pupa ( $F= 0,35$ ,  $g.l= 7, 21$ ,  $p\geq 0,05$ ) (Anexo 15). Sin embargo, hubo un efecto entre los bloques tanto para el peso de la pupa ( $F= 5,33$ ,  $g.l= 3, 21$ ,  $p\leq 0,01$ ) como para la duración de dicho estadio ( $F=3,28$ ,  $g.l= 3, 21$ ,  $p\leq 0,05$ ). La repetición 4 tuvo el menor peso promedio, el cual difirió de las repeticiones 1 y 3, y entre éstas y la repetición 2 no hubo diferencias. En la duración de la pupa hubo diferencias entre las repeticiones 1 y 2, de las cuales la última tuvo el mayor valor.

Con el tacaco cimarrón hubo grandes diferencias en la mortalidad de larvas ( $F= 29,21$ ,  $g.l= 7, 21$ ,  $p\leq 0,0001$ ) (Cuadro 8). Su mayor valor ocurrió en la mayor concentración, la cual difirió de las demás. Le siguió la concentración de 3,16%, la cual no difirió de las dos subsiguientes (1 y 0,32%), pero sí de los testigos y de la de 0,1%; las tres menores concentraciones (1, 0,32 y 0,1%) no difirieron entre sí, ni de los testigos. A la mayor concentración (10%) hubo más de un 50% de mortalidad al 2° día después de las aplicaciones, y a pesar de que en el primer día no hubo larvas muertas, para el día 3 la mortalidad había alcanzado casi su máximo valor; después murió apenas una larva, al 7° día. En general, conforme disminuyó la concentración del extracto, la mortalidad fue más gradual, a través del tiempo (Fig 10, Anexo 11).

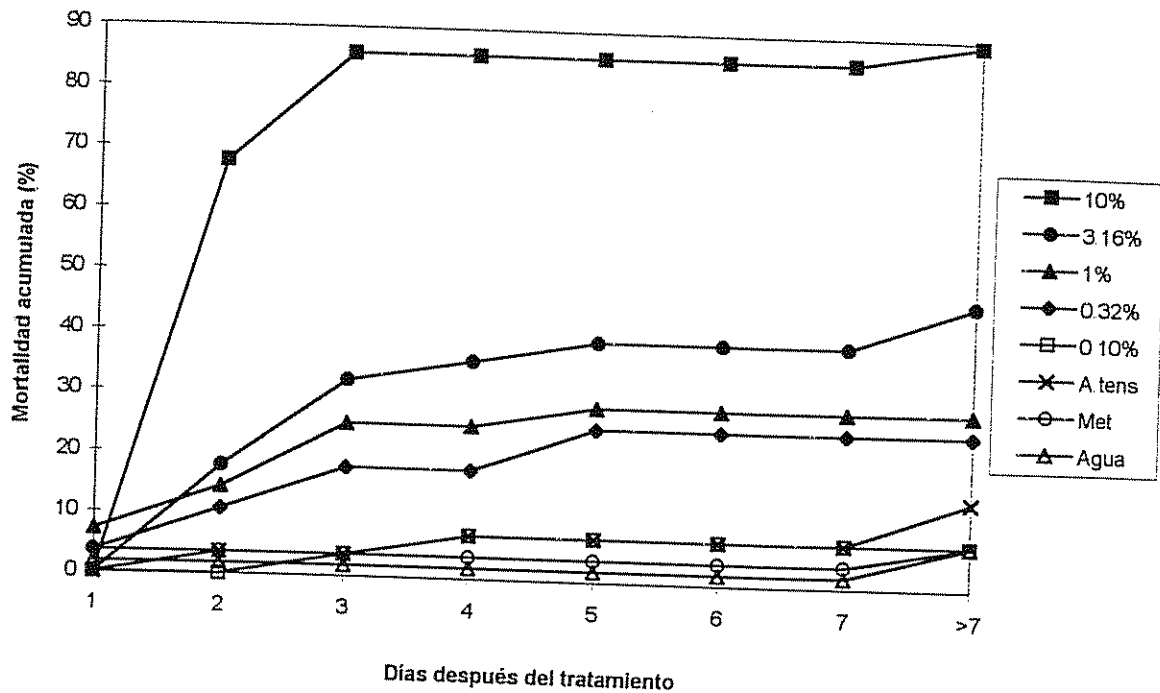


Figura 10. Mortalidad acumulada de larvas de tercer instar de *H. grandella* a diferentes concentraciones de tacaco cimarrón.

No hubo diferencias entre los tratamientos, para la duración de los instares larvales cuarto ( $F=0,45$ ,  $g.l.=7, 20$ ,  $p \geq 0,05$ ) y quinto ( $F=1,04$ ,  $g.l.=7, 20$ ,  $p \geq 0,05$ ), ni de la pupa ( $F=1,27$ ,  $g.l.=7, 19$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Anexos 12-14), ni tampoco las hubo en el peso de la pupa ( $F=1,73$ ,  $g.l.=7, 20$ ,  $p \geq 0,05$ ) (Anexo 15).

### 6.3 APLICACIÓN EN PLANTAS (INVERNADERO)

En la última evaluación, se encontraron grandes diferencias con respecto al daño provocado por la larva ( $F=5,46$ ,  $g.l.=7, 72$ ,  $p \leq 0,0001$ ). Los tratamientos con Azatín y madera de *Q. amara* fueron los que presentaron los menores daños, con apenas una planta atacada en cada uno de ellos, difiriendo con todos los demás, excepto con la ruda, que fue el tratamiento que les siguió. Este último no difirió de los demás tratamientos, entre los cuales no hubo

diferencias (Cuadro 9). En el Azatín y el extracto de madera de *Q. amara*, los daños correspondientes se ubicaron en la zona de intersección de una de sus ramas inferiores con el tallo. En el caso del Azatín este correspondió a un pequeño montículo provocado por una larva cuyo ataque se presentó una semana después de las aplicaciones, lo que significa un ataque tardío; mientras que en la madera de *Q. amara*, el montículo encontrado fue considerado como pequeño.

**Cuadro 9. Proporción de plantas de cedro dañadas por larvas de primer instar de *H. grandella* tratadas con diferentes extractos vegetales, a los 16 días de las aplicaciones en el invernadero.**

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
Agua	10	0,80 ± 0,42 a	0 - 1	52,70
A. tens	10	0,90 ± 0,32 a	0 - 1	35,14
QMad	10	0,10 ± 0,32 b	0 - 1	316,23
QFoll	10	0,90 ± 0,32 a	0 - 1	35,14
Azatín	10	0,10 ± 0,32 b	0 - 1	316,23
Nim80	10	0,80 ± 0,42 a	0 - 1	52,70
Ruda	10	0,50 ± 0,53 ab	0 - 1	105,41
Tacac	10	0,70 ± 0,48 a	0 - 1	69,07

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

Al considerar las perforaciones causadas por las larvas, debido a sus penetraciones en los brotes, lugares de intersección de las ramas con el tallo, entre otras estructuras vegetales, hubo diferencias con respecto a los efectos principales, tanto para los tratamientos ( $F= 3,57$ ,  $g.l= 7, 72$ ,  $p<0,01$ ), como para las evaluaciones ( $F= 23,84$ ,  $g.l.=3, 216$ ,  $p\leq 0,0001$ ). También las hubo entre las interacciones evaluaciones y extractos ( $F= 2,14$ ,  $g.l.= 21, 216$ ,  $p<0,01$ ). Los tratamientos con las menores cantidades de perforaciones fueron el Azatín y el extracto de madera de *Q. amara*. Estos difirieron solamente del tratamiento de follaje de *Q. amara* (Anexo 16).

En cuanto a las interacciones entre las evaluaciones y los extractos, dos días después del tratamiento (ddt) no hubo diferencias entre la madera de *Q. amara*, el Azatín, la ruda y el

tacaco cimarrón, pero éstos difirieron de los testigos y del follaje de *Q. amara* y el Nim 80; éstos no difirieron entre sí. A 4 ddt, los menores números de perforaciones correspondieron al Azatín, la madera de *Q. amara* y el Nim 80, los cuales no difirieron entre sí, pero sí con los testigos y el follaje de *Q. amara*, la ruda y el tacaco cimarrón; los dos últimos difirieron del testigo absoluto (agua), el cual no lo hizo con el follaje de *Q. amara* ni con el agente tensoactivo. Sin embargo, tanto a los 8 y 16 no había perforaciones en ninguno de los tratamientos, excepto en el follaje de *Q. amara*, donde había una, pero no hubo diferencias entre ellas.

En cuanto a los montículos provocados por la alimentación de la larva, hubo diferencias entre los tratamientos ( $F= 4,44$ ,  $g.l.= 7, 72$ ,  $p<0,001$ ), así como entre las evaluaciones ( $F=13,41$ ,  $g.l.= 3, 216$ ,  $p\leq 0,0001$ ), y sus interacciones ( $F= 1,68$ ,  $g.l.= 21, 216$ ,  $p<0,05$ ). Los menores valores se registraron en el Azatín y la madera de *Q. amara*, los cuales difirieron de los testigos y del follaje de *Q. amara*. Los dos primeros no difirieron entre sí, y tampoco lo hicieron con el Nim 80 ni la ruda; estos dos últimos no difirieron de los restantes. Por otra parte, el tacaco cimarrón no difirió de la madera de *Q. amara* (Anexo 17).

A los 2 ddt no hubo diferencias entre los tratamientos, mientras que a los 4 ddt los de Azatín y madera de *Q. amara* tenían la menor cantidad por planta, difiriendo de los demás, excepto de la ruda; ésta no difirió de los testigos ni del Nim 80, pero sí del follaje de *Q. amara* y el tacaco cimarrón, en los cuales estaba la mayor cantidad; los dos últimos no difirieron de los testigos. A los 8 ddt no hubo grandes diferencias entre las medias, en comparación con la evaluación anterior, con excepción de la ruda y el tacaco cimarrón; el primero difirió del Azatín y de la madera de *Q. amara*, mientras que el tacaco cimarrón difirió solamente de estos dos últimos. A los 16 ddt, el Azatín y la madera de *Q. amara* mantuvieron los menores valores, los cuales difirieron de todos los demás; les siguió la ruda, que difirió del follaje de *Q. amara* y del agente tensoactivo, pero no de los restantes. Tampoco hubo diferencias entre los tratamientos de Nim 80, ruda, tacaco cimarrón y el testigo absoluto (agua)



Con respecto a los brotes caídos, hubo diferencias en los efectos principales, tanto para los tratamientos ( $F= 3,32$ ,  $g.l.= 7, 72$ ,  $p<0,01$ ) como para las evaluaciones ( $F= 5,31$ ,  $g.l.=3,216$ ,  $p<0,001$ ). También las hubo para las interacciones entre las evaluaciones y los extractos ( $F= 2,43$ ,  $g.l.= 21, 216$ ,  $p<0,001$ ). Los menores valores se presentaron en el Azatín, en el que no hubo caídas en ninguna de las evaluaciones; éste difirió del testigo absoluto (agua) y del Nim 80. No hubo diferencias entre los demás tratamientos.

A los 2 ddt no hubo diferencias entre los tratamientos de Azatín, ruda, tacaco cimarrón ni los testigos, pero difirieron de los demás; sin embargo, no las hubo entre el Nim 80, el follaje de *Q. amara* y el agente tensoactivo. A los 4 ddt no hubo diferencias entre el agente tensoactivo, la madera de *Q. amara* y el Azatín. La ruda tuvo los mayores valores, difiriendo de todos los demás tratamientos; le siguieron el Nim 80 y el follaje de *Q. amara*, los cuales no difirieron entre sí, ni con el testigo absoluto. El tacaco cimarrón no difirió de la madera de *Q. amara* ni de los testigos, pero sí de los demás tratamientos (Anexo 18). A los 8 ddt no hubo diferencias entre el Azatín, la madera de *Q. amara* y la ruda. Estas difirieron de las restantes; entre estas últimas no hubo diferencias. A los 16 ddt, no hubo diferencias entre los tratamientos, excepto en el agente tensoactivo, que las tuvo con todos los demás.

En el caso de las ramas caídas, hubo diferencias en los efectos principales, tanto en los tratamientos ( $F= 4,01$ ,  $g.l.= 7, 72$ ,  $p<0,001$ ) como en las evaluaciones ( $F= 8,46$ ,  $g.l.= 3, 216$ ,  $p<0,0001$ ). También las hubo con respecto a las interacciones entre las evaluaciones y los tratamientos ( $F= 1,78$   $g.l.= 21, 216$ ,  $p<0,05$ ). Tanto en el tratamiento de madera de *Q. amara*, como en el Azatín y el Nim 80 no hubo ramas caídas durante el experimento; sin embargo, éstos no difirieron de los demás, excepto con el follaje de *Q. amara*, que tuvo los mayores valores; este último no difirió de los testigos (Anexo 19). A los 2 y 4 ddt no hubo diferencias entre los tratamientos, mientras que a los 8 ddt solamente el follaje de *Q. amara* difirió de los demás. A los 16 ddt, no hubo caídas en la ruda, y ésta no difirió del tacaco cimarrón; el mayor valor lo tuvo el follaje de *Q. amara*, el cual no difirió del testigo absoluto. Los dos testigos no difirieron entre sí.

## VII. DISCUSION

Las 29 sustancias evaluadas en estos experimentos se seleccionaron según sus efectos demostrados y debidamente documentados contra otros insectos, como sucedió con los extractos de *Q. amara* (Metcalf y Flint 1965, Evans y Raj 1988, Ocampo 1995, Cubillo *et al.* 1997) y los derivados del nim (Schmutterer *et al.* 1982, Gruber y Méndez 1992, Mordue y Blackwell 1993), o por su disponibilidad, ya que habían sido preparados para realizar experimentos con otros insectos (Gómez *et al.* 1997).

Por tanto, aunque sus efectos sobre las larvas de *H. grandella* se desconocían *a priori*, salvo para *Q. amara* (Shannon *et al.* 1997), se pretendió discriminar entre tres tipos de efectos, que podrían manifestarse, solos o combinados: fagodisuasión, inhibición del desarrollo y toxicidad

Aunque en el tamizado general la mayoría de las sustancias no mostró claramente ninguno de estos efectos, no se puede descartar que los puedan tener. Por razones de tipo práctico dichas sustancias fueron evaluadas a una sola dosis, elegida con base en resultados previos en un experimento con *Q. amara* sobre *H. grandella* (Shannon *et al.* 1997). Si bien algunas sustancias, como el Eugenol, tuvieron un efecto tóxico casi inmediato, no fueron seleccionadas para las evaluaciones posteriores, pues la prioridad era hallar sustancias que causaran fagodisuasión o inhibición del desarrollo. Por otra parte, en la prueba que correlaciona el consumo de discos y la mortalidad de larvas, indica que hubo una baja cantidad de larvas muertas por efectos de dicho consumo, y que esta proporción de variación no llegaba a un 25%. Por tanto, se eligieron seis sustancias que sobresalieron por causar alguno de estos efectos: madera y follaje de *Q. amara*, dos derivados del nim (Azatín y Nim 80), follaje de ruda (*R. graveolens*) y fruto de tacaco cimarrón (*S. pittieri*). Dichos efectos fueron corroborados con los bioanálisis, que fueron realizados con larvas del tercer instar en el laboratorio, así como con el experimento de invernadero, utilizando larvas de primer instar.

Tanto el extracto de madera como el de follaje de *Q. amara* mostraron un claro efecto fagodisuasivo, como lo indica el hecho de que las larvas sometidas a dichos tratamientos consumieron muy poco tejido en los discos de cedro; además, al ser colocadas después en la dieta artificial (sin dichas sustancias) la mortalidad posterior fue muy baja, aún a las mayores concentraciones de ambos extractos.

Los resultados con el extracto de madera corroboran los de Shannon *et al.* (1997) con *H. grandella*, quienes documentaron el efecto disuasivo utilizando un extracto líquido a una concentración de 1% (v/v) sobre larvas de tercer instar. Se desconoce cuáles sustancias fueron las causantes de este efecto, aunque posiblemente lo sean cuasinoídes, como la cuasina o la neocuasina (Polonsky 1973). Por ejemplo, Leskinen *et al.* 1984 (en Warthen 1990) hallaron que el compuesto cuasina Q3 de *Q. amara* actúa como fagodisuasivo del coleóptero *Epilachna varivestis*.

Aunque con el extracto de madera el efecto fagodisuasivo se percibió a una concentración baja (0,32%) con el follaje se requirió una concentración mucho mayor (3,16%), lo cual posiblemente obedece al contenido diferencial de cuasinoídes, o de otros compuestos, en ambas estructuras vegetales. Por ejemplo, el contenido de cuasina y neocuasina varía dentro del arbusto, como lo documentó Villalobos (1995) en madera seca; dicho autor analizó su contenido en las ramas y determinó que aumenta conforme lo hace el grosor de las ramas, con valores de 0,14, 0,16, 0,20 y 0,28%, en ramas de <1,5, 1,5-3, 3-4,5 cm y >4,5 cm de diámetro, respectivamente. La presencia de este tipo de sustancias en el follaje no se ha estudiado, debido en parte a problemas con las metodologías de extracción, que se dificultan por la interferencia con clorofilas (Mora 1995). No obstante, en el follaje existen sustancias con efecto insecticida, como se documentó en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Evans y Raj 1988), y también existen cuasinoídes, pero en baja concentración (Robins y Rhodes 1984, citados por Mora 1995).

En cuanto a otros efectos, el extracto de madera ni el de follaje afectaron el desarrollo del insecto, pues los intervalos de los instares larvales posteriores al 3º y la pupa fueron

equivalentes a los de los testigos y, además, no hubo diferencias en el peso de la pupa. Sin embargo, hubo un aparente efecto de toxicidad del extracto de madera al 1%, que se manifestó en forma retardada. Con éste se tuvo la mayor mortalidad de larvas (Cuadro 4), lo cual coincidió con el mayor consumo del disco foliar, en comparación con las cuatro mayores concentraciones (Cuadro 3), por lo que se desconoce si la mortalidad se debió a un efecto tóxico directo de algún compuesto, o a que éste provocó inapetencia en la larva y su muerte subsiguiente, después de consumir dicha sustancia.

Otro extracto que causó efecto fagodisuasivo, análogo al de los extractos de *Q. amara*, fue la ruda, sobre todo a las tres mayores concentraciones; la única a la cual no lo hizo fue a la menor concentración (0,1%). Este efecto fue documentado para el 4<sup>o</sup> instar larval y el adulto del coleóptero *Leptinotarsa decemlineata*, al tratar discos foliares de berenjena con una suspensión acuosa de ruda al 10% (Hough-Goldstein 1990). Asimismo, Cox (1980) determinó que en la ruda hay sustancias que repelen a la pulga *Ctenocephalides canis*. En las hojas de esta planta existen varios compuestos, como un fenilpropanoide (anetolglícol), un bencenoide (ácido anísico), un alcaloide (arborina) y un alcaloide quinolítico (arborinina) (Torres 1950, Vasudevan y Lukner 1968, Kong *et al.* 1984), pero se desconoce si alguno de ellos es el causante de los efectos fagodisuasivo o repelente.

En cuanto a otros efectos, ninguna de las concentraciones de ruda afectó la duración de los estadios inmaduros ni el peso de la pupa, y tampoco hubo evidencias de toxicidad. Richter *et al.* (1990) evaluaron el efecto de varias rutáceas, incluyendo el follaje de ruda, sobre el desarrollo del último instar ninfal de la cucaracha *Periplaneta americana* y determinaron que los extractos etanólicos afectaron la duración de la muda sobre todo al ser inyectados directamente, más que mediante su ingestión oral. Asimismo, Sasanelli (1997) utilizó extractos acuosos de la raíz y follaje de ruda, así como de dos especies de Compositae (*Cineraria maritima* y *Tagetes erecta*) sobre varias especies de los nemátodos *Globodera*, *Heterodera*, *Meloidogyne* y *Xiphinema*, y halló que el extracto foliar de ruda redujo notablemente la eclosión en *Meloidogyne spp.* En el campo, hubo un efecto tóxico sobre el

nemátodo *Ditylenchus dipsaci* en ajo (*Allium sativum*, Alliaceae), y se logró el control total del nemátodo (Insunza y Valenzuela 1995).

Con la inclusión de los derivados del nim en esta investigación, se pretendía determinar si algunas sustancias presentes en las semillas de una especie como *A. indica*, perteneciente a la familia Meliaceae, podrían disuadir o afectar el desarrollo de *H. grandella*, que es un herbívoro específico en plantas de dicha familia (Becker 1976). De haberlo, se esperaba que fuera sobre todo un efecto como reguladoras de crecimiento, lo cual ha sido ampliamente documentado para la azadiractina, que es la principal sustancia presente en la semilla de nim (Schmutterer *et al.* 1982, Gruber y Méndez 1992, Mordue y Blackwell 1993). No obstante, además podrían presentarse efectos fagodisuasivos, ya que en la semilla también aparecen otros limonoides, tales como el meliantriol, nimbin, nimbidin, 3-diacetilsalanina, salanol, salanina, 1,3-diacetilvilasinina, diacetilvilasinina, nimbandioliol, azadirona, azadiradiona, gedunina, nimbineno, nimocinolida, isonimocinolida e isonimbocinolida, así como tri y tetrasulfitos (Koul *et al.* 1990).

Fue interesante que ambos derivados causaron efectos tan evidentes. La larva de *H. grandella* se puede alimentar de las semillas de meliáceas nativas de la región neotropical, como las caobas y los cedros (Becker 1976), puesto que el insecto ha coevolucionado con estas especies. Sin embargo, las principales sustancias presentes en la semilla de *A. indica*, que es nativa de la región paleotropical, sí afectan adversamente a *H. grandella*, al igual que sucede con las de algunas estructuras vegetativas de meliáceas paleotropicales. Se ha documentado que el tallo del cedro australiano (*Toona ciliata*) contiene sustancias adversas a *H. grandella*, las cuales pueden incluso transferirse al cedro mediante injertos, utilizando a *T. ciliata* como patrón (Grijpma 1970, en Newton *et al.* 1990). Es muy probable que algunas de ellas sean sesquiterpenos, triterpenoides, limonoides y flavonoides (Paula *et al.* 1997).

En el caso del Nim 80 no hubo efecto fagodisuasivo, pero sí en el desarrollo larval, pues a sus mayores concentraciones las larvas no podían mudar y morían posteriormente; la muda se dificultaba, pues la exuvia quedaba adherida a las larvas, formando una especie de

constricción. Se desconoce cuál o cuáles de las sustancias presentes en el Nim 80, que son la azadiractina (1000 ppm) y varios de los otros compuestos de la semilla (Gruber y Méndez 1992), interfieren con la muda de *H. grandella*

Estos resultados concuerdan con los de Haasler (1984), quien expuso larvas de 5<sup>o</sup> instar del gusano cachón (*Manduca sexta*) a dietas con 1 y 2 ppm de extractos metanólicos de semillas de nim; hubo mortalidad después de varias mudas y en algunas larvas que empezaban a mudar el proceso se detuvo, observándose una nueva cutícula debajo de la vieja. Asimismo, Schlüter (1982) trató larvas de 4<sup>o</sup> instar del coleóptero *E. varivestis* con fracciones puras de extractos de semillas de nim, y observó que algunas larvas no se convirtieron en pupa, debido a que la epidermis, que es la que secreta la cutícula pupal, estaba destruida.

En cambio, los resultados con el Azatín fueron sorprendentes, por su efecto tóxico directo. Aunque pareció haber efecto fagodisuasivo, en realidad no lo hubo, pues aunque en todas las concentraciones los valores de consumo foliar fueron muy bajos, éstos coincidieron con una mortalidad muy alta de las larvas en los días inmediatos a las aplicaciones. En este caso es claro que las larvas de *H. grandella* no se alimentaron debido al efecto tóxico de la azadiractina, que es el ingrediente activo de este producto, y cuya concentración es alta (30 000 ppm), en comparación con otros derivados del nim, como el Nim 80.

Tanto el patrón de consumo foliar como el nivel de mortalidad de las larvas, así como el momento en que ésta ocurrió, sugieren que la toxicidad del Azatín se presenta por contacto más que por ingestión. En los tratamientos con sus mayores concentraciones, la mayoría de las larvas no probó el disco foliar, y a las menores concentraciones apenas lo probaron, lo cual indica que la azadiractina no debió ser ingerida para provocar la muerte de larvas.

Su efecto como insecticida directo fue más claro a las mayores concentraciones (Fig. 7A), a las cuales provocó muertes rápidas, sin dar oportunidad de que siquiera ocurriera la muda; a concentraciones inferiores el efecto de mortalidad fue más retardado (toxicidad retardada). Algunas larvas que sobrevivieron al efecto del extracto, principalmente en las dos menores

concentraciones, manifestaban inapetencia por alimentarse al ser colocadas en la dieta artificial, dicho comportamiento no está asociado a un efecto fagodisuasivo, sino mas bien a un efecto tóxico retardado, que no le permite a la larva alimentarse.

Si bien el Azatín es promocionado como un regulador de crecimiento, incluso para lepidópteros (AgriDyne Technologies s.f.), hay evidencias de que la azatina causa mortalidad directa (Mordue y Blackwell 1993). Por ejemplo, Wilps (1987) determinó que al aumentar la concentración de azadiractina pura se incrementó la mortalidad en larvas del díptero *Phormia terrae-novae*, y que fue mayor a una concentración igual o superior a 10  $\mu\text{g/g}$ ; además, respecto a su efecto fagodisuasivo, documentó que el consumo de alimento disminuyó a concentraciones crecientes. También Rembold *et al.* (1982) observaron muy alta mortalidad en larvas de 3er instar de la abeja *Apis mellifera* a una dosis alta (0,5  $\mu\text{g/larva}$ ) de azadiractina purificada de semillas de nim; a 0,25 y 0,5  $\mu\text{g/larva}$  la conversión en adultos se redujo mucho, pero el peso de la larva fue comparable con el de las larvas en el testigo, lo cual indica que no hubo inhibición de la alimentación

Por su parte, el tacaco cimarrón mostró un claro efecto de toxicidad. En todas sus concentraciones las larvas mudaron, pero murieron en los dos días subsiguientes, antes de lo cual mostraron poco movimiento. Al aumentar la concentración del extracto, el consumo del disco foliar se redujo gradualmente y se obtuvieron los mayores valores de mortalidad, lo que indica que las larvas se alimentaron poco y esto les causó la intoxicación y muerte; dicho efecto se expresó más rápido al 10% (Fig 10). A las concentraciones inferiores la mortalidad fue más gradual, indicando esto una mortalidad retardada de las larvas, tras consumir bajas concentraciones del extracto. De los frutos y la parte aérea de esta planta se han aislado seis tacacósidos, que son compuestos químicos del grupo de las saponinas (Castro *et al.* 1997).

Los resultados con plantas tratadas con las sustancias, en el invernadero, confirmaron los efectos fagodisuasivo y de mortalidad del extracto de madera de *Q. amara* y del Azatín, respectivamente (Cuadro 9); en ambos los daños se limitaron a apenas una planta atacada;

en el caso de Azatín tardíamente, debido quizás a la llegada de una larva a través de las ramas de plantas adyacentes, mientras que el montículo encontrado en la única planta atacada en el tratamiento con el extracto de madera de *Q. amara*, era muy pequeño, comparado con los demás montículos. Estos datos se obtuvieron para el primer instar de *H. grandella*, que es el que debería ser combatido en el campo.

De los demás extractos, las plantas con el extracto de ruda tuvieron pocos ataques, pero se presentó cierta fitotoxicidad en el brote terminal, y hubo una subsecuente invasión de fumagina. Los extractos de follaje de *Q. amara*, el Nim 80 y el tacaco cimarrón, no funcionaron como lo habían hecho en el bioanálisis de laboratorio, debido posiblemente al hecho de que al encontrarse en un espacio abierto, con condiciones semejantes a las del campo, existe mayor riesgo de volatilización de los posibles compuestos activos, así como por la oportunidad de las larvas de emigrar hacia otros puntos de las estructuras de las plantas, que no fueron tratados. En el bioanálisis, ellas eran forzadas a alimentarse del disco tratado, pues estaban encerradas en el frasco, lo que no les permitía otra opción de alimentación, y además las exponía más a los compuestos de dichas sustancias.

En síntesis, los resultados de esta investigación indican claramente la presencia de principios activos con función fagodisuasiva, inhibidora del desarrollo o tóxica para un insecto tan específico como *H. grandella*, en diferentes familias botánicas (Simaroubaceae, Meliaceae, Rutaceae y Cucurbitaceae).

Desde el punto de vista del manejo de *H. grandella* como plaga forestal, todas estas sustancias podrían tener un potencial importante, pero éste es mayor en aquellas que causan fagodisuasión o inhibición del desarrollo. Esto obedece a que, debido al bajo nivel de tolerancia comercial (umbral económico), que es de apenas una larva por árbol, se debería dar prioridad a un enfoque preventivo para su manejo, en el que algunas de dichas sustancias se complementen con otras tácticas, como el mejoramiento genético, las prácticas silviculturales y el control biológico (Newton *et al.* 1993, Speight 1997).



La presencia de sustancias tóxicas sobre *H. grandella* podría representar una fuente valiosa de insecticidas con nuevos modos de acción, ya sea con el producto natural *per se* o mediante la síntesis y producción de moléculas análogas, como sucede con otros plaguicidas (Pillmoor *et al.* 1993). Sin embargo, la poca aceptación de los insecticidas como método de combate de *H. grandella* no se debe a que no existan productos eficaces, sino más bien a su alto costo y a factores operativos, como la rápida penetración de la larva en los brotes tras emerger del huevo, el lavado por las lluvias, y los métodos de aplicación (Newton *et al.* 1993).

Casi todos estos factores son comunes a la posible utilización de sustancias fagodisuasivas o inhibitoras del desarrollo. No obstante, su principal ventaja sería su carácter preventivo, para evitar la penetración en los brotes de la larva recién emergida. Los resultados de esta investigación, con larvas de los instares 1º y 3º, muestran que varias de las sustancias evaluadas pueden actuar rápidamente, antes de que la larva cause daños de importancia económica.

Aunque estos resultados son promisorios, deberían considerar la disponibilidad de estas sustancias para los productores de caoba y cedro, su costo económico, y algunos aspectos operativos y de salud pública.

Por ejemplo, productos como el Azatín y el Nim 80 están disponibles comercialmente, pero sus precios contrastan notablemente; en la actualidad, es de \$ 115/l y \$11/l, respectivamente. Por su parte, los extractos de *Q. amara*, ruda o tacaco cimarrón quizás podrían utilizarse de manera rústica o semi-rústica, como se ha hecho con el nim en varios países (Brechelt 1992, Gruber 1995), y buscando coadyuvantes que aumenten su persistencia en el campo.

Aunque los extractos crudos, así como algunos productos comerciales, podrían aplicarse directamente a la parte aérea del árbol, junto con un coadyuvante, sobre todo cuando *H. grandella* es más abundante, pareciera más conveniente incorporarlos al suelo en el momento de la siembra. Además, deseablemente deberían poder reincorporarse al suelo, ya

que deberían funcionar durante todo el periodo crítico de protección, que es de 5-8 años, según la zona geográfica (Cibrián *et al.* 1995), para así obtener una troza de valor comercial

Se conoce que algunos derivados del nim, como el Azatín se pueden transportar de manera sistémica (Ing. Juan Cubero 1998, AgroPro, Costa Rica, com. pers.), y hay evidencias preliminares de que el extracto de madera de *Q. amara* puede hacerlo en el cedro (Shannon *et al.* 1997). De ser así, cabría la posibilidad de formularlos como materiales de liberación controlada, para aumentar su vida media (Allan *et al.* 1976). Esto se ha documentado para algunos insecticidas sistémicos, como el metomil y el carbofurán, los cuales dieron protección completa contra *H. grandella*, en árboles de cedro, por varios meses después de aplicados (Allan *et al.* 1973, Wilkins *et al.* 1976). Además, en la actualidad existen métodos semi-rústicos para formular sustancias de liberación controlada (Dr. Richard M. Wilkins 1998, Newcastle University, Inglaterra, com. pers.), lo cual podría facilitar su utilización por parte de pequeños productores.

Otra posibilidad, aunque se trata de un tema polémico, sería la de identificar el gen o genes responsables de la producción del principio activo fagodisuasivo en *Q. amara*, y transferirlos a árboles de caobas y cedros, mediante ingeniería genética (Shannon *et al.* 1997). Actualmente se dispone de técnicas de cultivos de tejido *in vitro*, los cuales se han probado en caoba que permiten la multiplicación de genotipos seleccionados en apoyo a los programas de mejoramiento genético (Orellana 1997).

Finalmente, un aspecto crítico de las sustancias de origen vegetal son los riesgos para la salud humana. En el caso de los derivados del nim, como el Azatín, su toxicidad para mamíferos es muy baja, con valores de  $DL_{50}$  de 3540 mg/Kg (toxicidad oral aguda) y >2000 mg/Kg (toxicidad dérmica aguda) (AgriDyne s.f). Por su parte, los extractos acuosos de la madera de *Q. amara*, en dosis de hasta 1000 mg/Kg administradas oralmente, no causaron efectos tóxicos de tipo agudo en ratones (García *et al.* 1996), lo cual indica que no implican riesgos si se ingieren; de hecho en la medicina tradicional estas sustancias se emplean como un agente digestivo (García *et al.* 1996).

## VIII. CONCLUSIONES

- Los extractos de madera y follaje de *Quassia amara*, a concentraciones de 0,32 y 3, 16% respectivamente, así como a la concentración de la ruda (*Ruta graveolens*) al 1% causaron fagodisuasión en la larva de *H. grandella*.
- El Nim 80, en casi todas sus concentraciones, inhibió el desarrollo de la larva de *H. grandella*.
- El Azatín y el tacaco cimarrón (*Sechium pittieri*), en casi todas sus concentraciones el primero y el segundo a la dosis más alta (10%) provocaron mortalidad directa de la larva de *H. grandella*. Este último provocó la muerte retardada de larvas a las dosis más bajas.
- Algunas sustancias, dependiendo de su concentración, pueden tener efectos mixtos, como fagodisuasivas, inhibidoras del desarrollo o insecticidas sobre la larva de *H. grandella*.

## IX. RECOMENDACIONES

- Estudiar si las sustancias más promisorias pueden transportarse de manera sistémica dentro de plantas de cedro y caoba.
- Seleccionar las concentraciones más eficaces de las sustancias promisorias y evaluarlas bajo condiciones de campo.
- Desarrollar, para aquellas sustancias no disponibles comercialmente, formulaciones rústicas y de bajo costo, que incrementen su persistencia y eficacia en el campo.
- Identificar químicamente los compuestos específicos que causan fagodisuasión, inhibición del desarrollo o toxicidad, en los extractos más promisorios.
- Realizar estudios detallados sobre la abundancia estacional de *H. grandella*, para definir las épocas más oportunas para aplicar las sustancias fagodisuasivas o inhibidoras del desarrollo.

## X. LITERATURA CITADA

- AGRIDYNE TECHNOLOGIES s f Azatina 3%. Hoja informativa. Salt Lake City. Utah. 4 p.
- AGRIDYNE TECHNOLOGIES s f. Hoja informativa. Salt Lake City. Utah. 35 p.
- ALLAN, G G; CHOPRA, C S.; FRIEDHOFF, J F; GARA, R I; MAGGI, M W; NEOGI, A N; POWELL, J C; ROBERTS, S C; WILKINS, R M. 1976. The concept of controlled release insecticides and the problem of shootborers of the Meliaceae. In Whitmore, J L (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. Vol II. CATIE Misc Publ No 101. p 110-115.
- ALLAN, G G; GARA, R I; WILKINS, R M. 1973. The evaluation of some systemic insecticides for the control of larvae in *Cedrela odorata* L. In Grijpma, P (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. Vol I. IICA Misc. Publ. No. 101. p. 40-48.
- ASCHER, K. R. S; ELIYAHU, M; NEMNY, N; MEISNER, J. 1984. Neem seed kernel extract as an inhibitor of growth and fecundity in *Spodoptera littoralis*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (2 1983. Rauschholzhausen, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 331-344.
- BECKER, V.O. 1976. Microlepidópteros asociados con *Carapa*, *Cedrela* y *Swietenia* en Costa Rica. In Whitmore, J. L (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. Vol II. IICA Misc Publ No 101. p 75-101.
- BIDMON, H J; KÄUSER, G; MÖBUS, P; KOOLMAN, J. 1987. Effect of azadirachtin on blowfly larvae and pupae. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (3 1986. Nairobi, Kenya) [Proceedings] Eschborn, Germany. p 253-271.
- BRECHELT, A. 1992. Aspectos económicos y aceptación del uso de nim por pequeños y medianos productores de vegetales en zonas áridas de República Dominicana. In Pitty, A (ed) Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas. (4. 1992. Tegucigalpa, Honduras) [Memoria] Ceiba, Honduras. p 245-248.
- CALLAHAN, P. S. 1976. The antenna of insects as an electromagnetic sensory organ. In Whitmore, J. L (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae. Vol II. IICA Misc. Publ. No. 101. p 31-41.

- CASTRO, V; RAMIREZ, E; MORA, G; IWASE, Y; NAGAO, T; OKABE, H; MATSUNAGA, H; KATANO, M; MORI, M 1997 Structures and antiproliferative activity of saponins from *Sechium pittieri* and *S. talamancense*. Chem Pharm Bull 45(2): 349-358.
- CIBRIAN, D; MENDEZ, J T.; CAMPOS, R; YATES III, H O; FLORES, J E. 1995 Insectos forestales de México Universidad Autónoma de Chapingo-Comisión Forestal de América del Norte (COFAN) Publ. No. 6. 453 p
- CICCIO, J F 1996 Constituyentes de los aceites esenciales de las hojas y espigas de *Piper bisasperatum* (Piperaceae) Revista de Biología Tropical 44(3)/45(1): 35-38.
- CORNELIUS, J; HERNANDEZ, M; NEWTON, A; WATT, A 1995 Resistance to the mahogany shootborer: Results of research at CATIE, 1990-1995. Resúmenes II Semana Científica Costa Rica, CATIE p 92-94
- COX, N D 1980 Flea treatment composition for animals Patent-US-4,193,986 (USA) 3 p.
- CUBILLO, D; SANABRIA, G; HILJE, L. 1997 Mortalidad de adultos de *Bemisia tabaci* con extractos de hombre grande (*Quassia amara*). Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 45: 25-29
- DETHIER, V G; BROWNE, L B; SMITH, C N 1960 The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects Journal of Economic Entomology 53(1): 134-136
- EVANS, D A; RAJ, R K. 1988 Extracts of Indian plants as mosquito larvicides Indian J Med Res 88: 38-41.
- FAGOONEE, I 1982 Behavioral response of *Crocidolomia binotalis* to neem. In Schmutterer, H, Ascher, K R S. and Rembold, H Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) (1.1980. Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany p 109-120
- GARA, R I; ALLAN, G G; WILKINS, R M; WHITMORE, J L. 1976a. Comportamiento en vuelo y selección de hospedero del barrenador de las meliáceas, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepid., Phycitidae). In Whitmore, J L (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae. Vol II IICA Misc. Publ. No 101. p 116-121
- GARCIA, M; GONZALEZ, S.M; PAZOS, L 1996 Actividad farmacológica del extracto acuoso de madera de *Quassia amara* (Simarubaceae) en ratas y ratones albinos Rev. Biol Trop (Costa Rica) 44(3)/ 45(1): 47-50

- GOMEZ, P ; CUBILLO, D ; MORA, G A ; HILJE, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci* II Extractos vegetales Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 46 17-25
- GRAINGE, M; AHMED, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. New York, John Wiley & Sons 470 p
- GRIJPM, P (ed) 1973 Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep, Pyralidae Vol I IICA Misc. Publ No. 101 91 p
- GRIJPM, P. 1973. Immunity of *Toona ciliata* M. Roem var. *australis* (F v. M.) C DC. and *Khaya ivorensis* A. Chev to attacks of *Hypsipyla grandella* (Zeller) in Turrialba, Costa Rica In Grijpma, P (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep. Pyralidae Vol I IICA Misc. Publ No 101 p 18-25.
- GRIJPM, P ; GARA, R. I. 1973a. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) I Host selection behavior. In Grijpma, P (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae. Vol I IICA Misc Publ No. 101 p 26-33
- GRIJPM, P ; GARA, R. I. 1973b. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) II Host preference of the larva. In Grijpma, P (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae Vol I IICA Misc Publ No 101 p 34-39.
- GRIJPM, P ; ROBERTS, S C 1976 Biological and chemical screening for the basis of resistance of *Toona ciliata* M J Roem var *australis* In Whitmore, J L (ed.) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae Vol II IICA Misc. Publ No 101 p 102-109
- GRIJPM, P ; RAMALHO, R. 1973. *Toona* spp, posibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las Meliaceae en América Latina In Grijpma, P (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae Vol I IICA Misc Publ No 101 p 3-17
- GRUBER, A K. 1995 Metodología para determinar la viabilidad del nim como fuente de insecticidas botánicos en Nicaragua. In Ocampo, R A (ed), Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica Informe Técnico No. 267. CATIE. Turrialba, Costa Rica p 137-148.
- GRUBER, A K ; MENDEZ, M 1992 Arbol nim en Nicaragua Cultivo y aprovechamiento como fuente de insecticidas botánicos Hoja técnica Editorial Evangélica, CIEETS, Managua, Nicaragua 19 p.

- HAASLER, C. 1984 Effects of neem seed extract on the post-embryonic development of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (2 1983 Rauschholzhausen, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 321-330
- HILJE, L.; VIQUEZ, M.; ARAYA, C. M.; SCORZA, F. 1991. El manejo de enfermedades y plagas forestales en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 19: 34-39
- HOUGH-GOLDSTEIN, J.A. 1990 Antifeedant effects of common herbs on the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) Environmental Entomology 19(2): 234-238
- HUANG, Y.; HEE, S. K.; HO, S. H. 1998 Antifeedant and growth inhibitory effects of  $\alpha$ -pinene on the stored-product insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. International Pest Control. 40 (1): 18-20.
- INSUNZA, V.B.; VALENZUELA, A.A. 1995 Control of *Ditylenchus dipsaci* on garlic (*Allium sativum*) with extracts of medicinal plants from Chile Nematropica 25(1): 35-41.
- JACOBSON, M. 1982. Isolation and identification of insect antifeedants and growth inhibitors from plants: an overview. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). (1 1980 Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 13-20
- KONG, Y.C.; LAU, C.; BUT, P.P.H.; CHENG, K.F.; CAMBIE, R.C. 1984. Quinoline alkaloids from *Ruta graveolens* Fitoterapia 55(2): 67-71.
- KOUL, O.; ISMAN, M.; KEIKAR, C. 1990. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica* Canadian Journal of Botany 68: 1-11
- KRAUS, W.; CRAMER, R.; BOKEL, M.; SAWITZKI, G. 1982. New insect antifeedants from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). (1 1980 Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 53-62
- LARSON, R.O. 1987. Development of Margosán-O, a pesticide from neem seed In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (3 1986 Nairobi, Kenya) [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 243-250
- LOPEZ, J.; JARA, L.F.; MESEN, F. 1997. Variación en resistencia de *Cedrelela odorata* al ataque de *Hypsipyla grandella*. Revista Forestal Centroamericana (Costa Rica) 19(6): 20-25



- MAURER, G 1984 Effect of a methanolic extract of neem seed kernels on the metamorphosis of *Ephesia kuehniella*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (2 1983. Rauischholzhausen, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany p 365-376.
- MATTHEWS, R.W.; MATTHEWS, J.R. 1978. Insect behavior New York. John Wiley & Sons 507 p.
- MEISNER, J.; ASCHER, K.R.S. 1984 Insect growth-regulating (IGR) effects of neem products on *Spodoptera littoralis*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (2 1983. Rauischholzhausen, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany p. 345-351.
- METCALF, C.L.; FLINT, W.P. 1965 Insectos destructivos e insectos útiles. 1 ed. español. CECSA, México D.F. 1208 p.
- MORA, G 1995. Extracción y estudio cromatográfico de extractos de *Quassia amara* In Ocampo, R. (ed). Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica Informe Técnico No 267 CATIE-OLAFO Turrialba, Costa Rica p 93-96
- MORDUE, A.J.; BLACKWELL, A 1993 Azadirachtin: an Update. Journal of Insect Physiology. 39(11): 903-924.
- MWANGI, R.W.; REMBOLD, H 1987. Growth-regulating activity of *Melia volkensii* extracts against the larvae of *Aedes aegypti*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. (3 1986. Nairobi, Kenya). [Proceedings] Eschborn, Germany p 669-681
- NEWTON, A.C.; BAKER, P.; RAMNARINE, S.; MESEN, J.F.; LEAKEY, R.R.B. 1993 The mahogany shoot borer: Prospects for control. Forest Ecology and Management 57: 301-328
- OCAMPO, R.A. (ed). 1995. Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica Informe Técnico No 267. CATIE Turrialba, Costa Rica. 185 p.
- OLAIFA J.I.; AKINGBOHUNGBE, A.E. 1987 Antifeedant and insecticidal effects of extracts of *Azadirachta indica*, *Petiveria alliacea* and *Piper guineense* on the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (3 1986 Nairobi, Kenya). [Proceedings] Eschborn, Germany p. 405-418
- ORELLANA, M.A. 1997. Desarrollo de un sistema de cultivo in vitro para los explantes nodales de caoba (*Swietenia macrophylla*, King) Tesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica 94 p.

- PAULA, J.R.; VIEIRA, J.C.; SILVA, M.F.; FO, E.; FERNANDES, J.; VIEIRA, P.; PINHEIRO, A.L.; VILELA, E.F. 1997. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrella odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry* 44(8): 1449-1454
- PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 1997. Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 64: 149-156
- PILLMOOR, J. B.; WRIGHT, K.; TERRY, A. S. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pesticide Sciences* 39: 131-140.
- POLONSKY, J. 1973. Quassinoid bitter principles. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 30: 101-150
- REMBOLD, H.; FORSTER, H.; CZOPPELT, C.; RAO, P.J.; SIEBER, K. 1984. The azadirachtins, a group of insect growth regulators from the neem tree. In Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss) and other tropical plants* (2 1983. Rauischholzhausen, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany p 153-162
- REDFERN, R. E.; WARTHEN, J. D.; UEBEL, E. C.; MILLS, G. D. 1982. The antifeedant and growth-disrupting effects of azadirachtin on *Spodoptera frugiperda* and *Oncopeltus fasciatus*. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S., and Rembold, H. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)* (1.1980. Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany p. 129-136.
- REMBOLD, H.; SHARMA, G. K.; CZOPPELT, C. 1982. Growth-regulating activity of azadirachtin in two holometabolous insects. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. *Natural pesticides from the neem tree (Azadirachta indica A. Juss)*. (1.1980. Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p 121-128.
- RICHTER, K.; NOTHLICH, R.; STACKE, A.; PENZLIN, H. 1990. Moulting inhibiting effect of extracts from Rutaceae in the cockroach *Periplaneta americana*. *Zoologische Jahrbucher, Abteilung für Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere* 94(1): 63-72. Compendiado en: CAB Abstracts 1990-1991 [Disco compacto].
- RODRIGUEZ, C.; VENDRAMIM, J. D. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 42: 14-22
- RUSKIN, F. R. (ed.) 1992. *Neem: a tree for solving global problems*. National Research Council. National Academy Press. Washington, D. C. 141 p
- SAS INSTITUTE. 1985. *SAS user guide: Statistics, Version 5 ed.* SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. 956 p

- SASANELLI, N 1997 Perspectives for the use of nematicidal plants Revue Suisse d'Agriculture 29(3): 157-158 Compendiado en: CAB Abstracts 1996-7/98 [Disco compacto]
- SAXENA, R C ; LIQUIDO, N J ; JUSTO, H D 1982. Neem seed oil, a potential antifeedant for the control of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* In Schmutterer, H, Ascher, K R S and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) (1 1980 Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany p 171-188
- SCHLÜTER 1982 Histological observations on the phenomenon of black legs and thoracic spots: Effects of pure fractions of neem kernel extracts on *Epilachna varivestis*. In Schmutterer, H, Ascher, K R S and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). (1 1980 Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany. p 97-104.
- SCHMUTTERER, H 1982. Ten years of neem research in the Federal Republic of Germany. In Schmutterer, H, Ascher, K R S and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) (1 1980 Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 21-31.
- SCHMUTTERER, H ; ASCHER, K R S ; REMBOLD, H (eds ). 1982. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). GTZ. Eschborn, Germany. 297 p
- SCHOONHOVEN, L M. 1976 Electroantennograms (EAG) as a tool in the analysis of insect attractants In Whitmore, J L (ed.) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae Vol II IICA Misc Publ No 101 p. 59-63
- SCHOONHOVEN, L.M. 1982. Biological aspects of antifeedants Entomologia experimentalis et applicata 31:57-69
- SCHOONHOVEN, L.M. 1982. Perception of azadirachtin by some lepidopterous larvae In Schmutterer, H, Ascher, K R S and Rembold, H. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) (1 1980 Rottachegern, Germany) [Proceedings] Eschborn, Germany p. 105-108
- SHANNON, P J ; VARGAS, C ; CUBILLO, D ; HILJE, L ; WA MASABO, M A ; SANABRIA, G 1997 Actividad biológica de hombre grande (*Quassia amara*) sobre *Hypsipyla grandella* (Lep.: Pyralidae) (Inédito)
- SPEIGHT, M R 1997 Forest pests in the tropics: Current status and future threats In Watt, A. D, Stork, N E, and Hunter, M D. (eds ) Forest and insects Chapman & Hall, London p 207-227

- STOLL, G 1989 Protección natural de cultivos en las zonas tropicales Editorial Científica Josef Margraf Weikersheim, Alemania Federal 187p
- TEWARI, D N 1992 Monograph on neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) International Book Distributors. Dehra Dun, India 280 p
- TOMERLIN, J R ; HOWELL, T 1988 DISTRAIN: A computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant disease* 72: 455 - 459
- TORRES, J C 1950 Pharmacognostic study of rue leaf-its principle component rutoside and essence. *Farmacognosia* 10: 275-361.
- VASUDEVAN, T N ; LUKNER, M. 1968 Alkaloids from *Ruta angustifolia*, *Ruta chalepensis*, *Ruta graveolens* and *Ruta montana*. *Pharmazie* 23: 520-
- VILLALOBOS, R. 1995 Distribución de *Quassia amara* L. ex Blom en Costa Rica, y su relación con los contenidos de cuasina y neocuasina (insecticidas naturales) en sus tejidos Tesis Mag Sci, CATIE, Turrialba, Costa Rica 207 p.
- WARTHEN, J D 1990 Part A: Insect feeding deterrents (1976-1980). **In** Morgan, E D. and Mandava, N B., (eds) CRC Handbook of natural pesticides, V 6: Insect attractants and repellents. Boca Ratón, Florida, CRC Press. p. 23-134.
- WARTHEN, J D ; MORGAN, E D 1990. Insect feeding deterrents (Introduction to parts A and B). **In** Morgan, E D. and Mandava, N.B., (eds) CRC Handbook of natural pesticides, V 6: Insect attractants and repellents. Boca Ratón, Florida, CRC Press p 23.
- WHITMORE, J. L (ed) 1976a Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep., Pyralidae Vol II IICA Misc Publ No 101. 139 p
- WHITMORE, J L (ed) 1976b Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep., Pyralidae Vol III IICA Misc Publ No 101 116 p
- WILKINS, R.M ; ALLAN, G G ; GARA, R I. 1976 Protection of spanish cedar with controlled release insecticides **In** Whitmore, J.L. (ed) Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) Lep Pyralidae. Vol III CATIE Misc Publ No 1 p 63-70.
- WILPS H 1987 Growth and adult molting of larvae and pupae of the blowfly *Phormia terraenovae* in relationship to azadirachtin concentrations. **In** Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants (3 1986. Nairobi, Kenya) [Proceedings] Eschborn, Germany p 299-314.

## XI. ANEXOS

Anexo 1. Porcentaje diario acumulado de larvas de *H. grandella* muertas en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.

Tratamiento	D í a							
	1	2	3	4	5	6	7	>7
<b>QMad</b>								
10%	7,14	10,71	25,00	28,57	28,57	28,57	28,57	28,57
3,16%	0,00	0,00	14,28	21,43	25,00	25,00	25,00	28,57
1%	0,00	7,14	21,43	28,57	39,28	39,28	39,28	50,00
0,32%	0,00	0,00	7,14	25,00	28,57	28,57	28,57	28,57
0,1%	0,00	0,00	0,00	0,00	7,14	7,14	7,14	7,14
A.tens	3,57	3,57	3,57	3,57	3,57	3,57	3,57	10,71
Metanol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Agua	0,00	1,78	8,93	10,71	10,71	10,71	10,71	10,71
<b>Qfoll</b>								
10%	0,00	0,00	3,57	3,57	3,57	3,57	3,57	10,71
3,16%	7,14	10,71	10,71	10,71	17,86	17,86	17,86	21,43
1%	3,57	3,57	3,57	7,14	7,14	7,14	7,14	17,86
0,32%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,1%	3,57	7,14	7,14	7,14	7,14	7,14	7,14	10,71
A.tens	3,57	3,57	3,57	3,57	7,14	7,14	7,14	10,71
Metanol	0,00	0,00	0,00	3,57	3,57	3,57	3,57	3,57
Agua	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,79

Anexo 2. Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de *H. grandella* en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Q Mad</b>				
10%	18	4,72 ± 0,83 a	4 - 6	17,50
3,16%	19	4,37 ± 1,06 a	2 - 6	24,38
1%	16	4,00 ± 0,63 a	3 - 5	15,81
0,32%	19	4,95 ± 1,13 a	3 - 8	22,82
0,1%	22	4,36 ± 0,79 a	3 - 6	18,09
A.tens	23	4,56 ± 1,12 a	3 - 8	24,56
Metanol	25	4,40 ± 1,35 a	3 - 9	30,77
Agua	36	4,39 ± 0,96 a	3 - 8	21,97
<b>Q Foll</b>				
10%	8	5,25 ± 1,04 a	4 - 7	19,72
3,16%	18	4,00 ± 0,97 a	3 - 6	24,25
1%	14	3,78 ± 0,70 a	3 - 5	18,47
0,32%	19	4,26 ± 1,10 a	3 - 8	25,74
0,1%	19	4,58 ± 0,84 a	4 - 7	18,29
A.tens	13	4,31 ± 1,60 a	3 - 9	37,17
Metanol	14	3,93 ± 0,92 a	3 - 5	23,34
Agua	27	4,15 ± 0,95 a	3 - 7	22,87

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

Anexo 3. Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de *H. grandella* en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.

Tratamiento	N	X ± E.E.		Ambito	C.V.
<b>Q Mad</b>					
10%	20	10,35 ± 1,09	a	8 - 12	10,52
3,16%	20	9,90 ± 1,55	a	5 - 12	15,68
1%	14	10,36 ± 1,82	a	8 - 15	17,60
0,32%	20	10,35 ± 1,39	a	7 - 13	13,40
0,1%	26	9,96 ± 1,11	a	8 - 14	11,17
A tens	25	10,80 ± 1,41	a	9 - 15	13,09
Metanol	28	10,36 ± 1,19	a	7 - 13	11,52
Agua	50	10,82 ± 1,36	a	9 - 15	12,62
<b>Q Foll</b>					
10%	25	10,24 ± 1,05	a	8 - 12	10,27
3,16%	21	10,57 ± 1,60	a	8 - 16	15,13
1%	23	10,52 ± 1,24	a	9 - 15	11,77
0,32%	28	10,36 ± 0,95	a	9 - 13	9,18
0,1%	25	11,28 ± 1,31	a	9 - 14	11,59
A tens	25	10,60 ± 1,26	a	8 - 12	11,87
Metanol	27	10,33 ± 1,04	a	9 - 12	10,04
Agua	54	10,31 ± 0,89	a	8 - 12	8,59

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 4. Duración promedio (días) de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.

Tratamiento	N	X ± E.E.		Ambito	C.V.
<b>Q Mad</b>					
10%	20	12,25 ± 0,79	a	11 - 14	6,42
3,16%	19	12,32 ± 0,94	a	11 - 14	7,68
1%	13	11,92 ± 0,76	a	11 - 13	6,37
0,32%	19	12,53 ± 0,84	a	11 - 14	6,72
0,1%	24	11,83 ± 0,76	a	10 - 13	6,43
A tens	23	12,22 ± 0,74	a	11 - 14	6,02
Metanol	28	11,89 ± 0,74	a	11 - 13	6,20
Agua	48	12,04 ± 0,77	a	11 - 14	6,40
<b>Q Foll</b>					
10%	25	12,76 ± 0,78	a	12 - 14	6,10
3,16%	22	12,45 ± 0,91	a	11 - 14	7,32
1%	22	12,18 ± 0,66	a	11 - 13	5,45
0,32%	26	12,62 ± 0,85	a	11 - 14	6,75
0,1%	24	12,54 ± 0,66	a	11 - 14	5,25
A tens	25	12,52 ± 0,58	a	12 - 14	4,68
Metanol	25	12,56 ± 0,71	a	11 - 14	5,66
Agua	54	12,65 ± 0,73	a	11 - 14	5,78

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 5. Peso promedio de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con madera y follaje de *Q. amara*.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Q Mad</b>				
10%	20	0,156 ± 0,033 a	0,105 - 0,220	20,90
3,16%	20	0,145 ± 0,030 a	0,089 - 0,209	21,13
1%	14	0,145 ± 0,031 a	0,084 - 0,208	21,76
0,32%	20	0,152 ± 0,035 a	0,096 - 0,241	23,21
0,1%	26	0,150 ± 0,033 a	0,088 - 0,206	22,12
A tens	25	0,161 ± 0,034 a	0,081 - 0,222	21,21
Metanol	28	0,140 ± 0,034 a	0,073 - 0,209	24,59
Agua	50	0,158 ± 0,033 a	0,104 - 0,232	21,01
<b>Q Foll</b>				
10%	25	0,143 ± 0,028 a	0,099 - 0,203	19,97
3,16%	22	0,146 ± 0,028 a	0,092 - 0,203	18,88
1%	23	0,139 ± 0,027 a	0,091 - 0,191	19,59
0,32%	28	0,150 ± 0,027 a	0,086 - 0,214	17,81
0,1%	25	0,155 ± 0,037 a	0,090 - 0,236	23,92
A tens	25	0,150 ± 0,031 a	0,096 - 0,212	20,80
Metanol	27	0,144 ± 0,028 a	0,079 - 0,207	19,76
Agua	55	0,151 ± 0,025 a	0,103 - 0,215	16,74

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey.

Anexo 6. Porcentaje diario acumulado de larvas de *H. grandella* muertas en los tratamientos con Azatín y Nim 80.

Tratamiento	Día							
	1	2	3	4	5	6	7	>7
<b>Azatín</b>								
10%	60,71	89,28	92,86	92,86	92,86	92,86	96,43	96,43
3,16%	57,14	82,14	82,14	82,14	85,71	85,71	85,71	89,28
1%	28,57	71,43	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00	85,71
0,32%	14,28	42,86	50,00	57,14	57,14	57,14	57,14	78,57
0,1%	10,71	32,14	46,43	46,43	46,43	50,00	50,00	67,86
A tens	0,00	3,57	10,71	14,28	17,86	17,86	17,86	21,43
Metanol	0,00	3,57	7,14	7,14	7,14	14,28	14,28	25,00
Agua	1,78	3,57	5,36	7,14	8,93	12,50	14,28	25,00
<b>Nim 80</b>								
10%	0,00	0,00	3,57	17,86	21,43	28,57	35,71	96,43
3,16%	0,00	0,00	3,57	7,14	14,28	17,86	21,43	100,00
1%	0,00	3,57	3,57	3,57	3,57	7,14	10,71	78,57
0,32%	0,00	0,00	0,00	3,57	3,57	3,57	3,57	17,86
0,1%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
A tens	0,00	0,00	0,00	0,00	3,57	7,14	10,71	14,28
Metanol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,57
Agua	1,78	1,78	1,78	5,36	5,36	5,36	5,36	5,36



Anexo 7. Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de *H. grandella* en los tratamientos con Azatin y Nim 80.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Azatin</b>				
10%	1	10,00	a	10 - 10
3,16%	3	4,67 ± 0,58	a	4 - 5
1%	4	6,25 ± 1,5	a	5 - 8
0,32%	10	6,00 ± 1,49	a	3 - 8
0,1%	13	6,54 ± 1,05	a	5 - 9
A tens	15	5,73 ± 1,79	a	4 - 10
Metanol	22	5,59 ± 1,59	a	3 - 9
Agua	43	5,4 ± 1,33	a	2 - 9
				12,37
				24,00
				24,84
				16,06
				31,25
				28,50
				24,65
<b>Nim 80</b>				
10%	3	5,00 ± 1,00	a	4 - 6
3,16%	7	4,57 ± 0,53	a	4 - 5
1%	12	4,67 ± 0,89	a	4 - 6
0,32%	12	5,00 ± 0,74	a	4 - 6
0,1%	11	5,54 ± 0,82	a	5 - 7
A.tens	1	5,00	a	5 - 5
Metanol	7	4,43 ± 0,98	a	3 - 5
Agua	9	4,00 ± 0,50	a	3 - 5
				20,00
				11,69
				19,02
				14,77
				14,79
				22,04
				12,50

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 8. Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de *H. grandella* en los tratamientos con Azatin y Nim 80.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Azatin</b>				
10%	1	12,00 ±	a	12 - 12
3,16%	3	16,00 ± 7,00	a	11 - 24
1%	4	13,25 ± 1,71	a	11 - 15
0,32%	6	13,33 ± 1,03	a	12 - 15
0,1%	9	13,56 ± 2,24	a	9 - 17
A tens	21	13,33 ± 2,06	a	10 - 17
Metanol	21	13,10 ± 2,98	a	9 - 22
Agua	42	12,55 ± 1,70	a	8 - 17
				43,75
				12,89
				7,74
				16,54
				15,43
				22,77
				13,54
<b>Nim 80</b>				
10%	1	11,00	a	11 - 11
3,16%	0			
1%	6	15,17 ± 1,30	a	13 - 16
0,32%	23	13,30 ± 1,79	a	10 - 17
0,1%	28	13,68 ± 1,68	a	11 - 17
A.tens	24	13,58 ± 1,47	a	11 - 16
Metanol	27	13,59 ± 1,60	a	10 - 17
Agua	53	12,94 ± 1,90	a	10 - 20
				8,76
				13,49
				12,27
				10,84
				11,77
				14,64

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 9. Duración promedio (días) de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con Azatín y Nim 80.

Tratamiento	N	X ± E.E.		Ambito	C.V.
<b>Azatín</b>					
10%	1	13,00	a	13 - 13	
3,16%	1	13,00	a	13 - 13	
1%	4	13,00 ± 0,82	a	12 - 14	6,28
0,32%	3	13,00 ± 1,00	a	12 - 14	7,69
0,1%	5	13,00 ± 0,71	a	12 - 14	5,44
A.tens	14	13,28 ± 0,99	a	12 - 16	7,48
Metanol	17	13,41 ± 0,62	a	12 - 14	4,61
Agua	26	13,15 ± 0,97	a	11 - 16	7,35
<b>Nim 80</b>					
10%	1	13,00	a	13 - 13	
3,16%	0				
1%	3	13,33 ± 0,58	a	13 - 14	4,33
0,32%	19	12,68 ± 0,82	a	12 - 14	6,46
0,1%	23	12,83 ± 0,58	a	12 - 14	4,49
A.tens	21	12,95 ± 0,74	a	12 - 14	5,71
Metanol	25	12,92 ± 0,91	a	11 - 14	7,04
Agua	46	12,8 ± 0,65	a	11 - 14	5,11

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 10. Peso promedio de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con Azatín y Nim 80.

Tratamiento	N	X ± E.E.		Ambito	C.V.
<b>Azatín</b>					
10%	1	0,126	a	0,126 - 0,126	
3,16%	3	0,121 ± 0,006	a	0,115 - 0,125	4,54
1%	4	0,114 ± 0,020	a	0,089 - 0,138	17,63
0,32%	6	0,098 ± 0,029	a	0,060 - 0,148	29,92
0,1%	8	0,110 ± 0,034	a	0,054 - 0,165	30,87
A.tens	21	0,115 ± 0,030	a	0,071 - 0,182	25,69
Metanol	21	0,114 ± 0,023	a	0,074 - 0,155	20,18
Agua	42	0,128 ± 0,030	a	0,078 - 0,201	23,68
<b>Nim 80</b>					
10%	1	0,179	a	0,179 - 0,179	
3,16%	0				
1%	6	0,092 ± 0,012	c	0,070 - 0,102	12,90
0,32%	23	0,105 ± 0,021	bc	0,070 - 0,159	20,06
0,1%	28	0,119 ± 0,021	bc	0,066 - 0,154	17,66
A.tens	24	0,136 ± 0,022	b	0,094 - 0,182	16,21
Metanol	27	0,129 ± 0,024	bc	0,069 - 0,176	18,37
Agua	53	0,128 ± 0,028	bc	0,079 - 0,216	22,28

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey



Anexo 12. Duración promedio (días) del cuarto instar (L4) de *H. grandella* en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Ruda</b>				
10%	12	4,75 ± 0,75 a	4-6	15,87
3,16%	10	4,67 ± 0,84 a	4-6	18,00
1%	16	4,69 ± 0,95 a	3-6	20,19
0,32%	17	5,06 ± 1,20 a	3-8	23,67
0,1%	14	5,07 ± 1,21 a	4-8	23,79
A tens	22	5,32 ± 1,21 a	4-8	22,76
Metanol	21	5,05 ± 1,07 a	3-7	21,22
Agua	38	4,95 ± 0,96 a	4-7	19,34
<b>Tacaco cimarrón</b>				
10%	3	4,33 ± 0,58 a	4-5	13,32
3,16%	16	4,38 ± 1,63 a	3-9	37,21
1%	20	4,15 ± 0,88 a	3-6	21,09
0,32%	21	4,00 ± 0,55 a	3-5	13,69
0,1%	26	4,19 ± 0,90 a	3-7	21,36
A.tens	25	3,88 ± 0,66 a	2-5	17,16
Metanol	27	4,07 ± 1,14 a	3-8	28,01
Agua	55	4,04 ± 1,12 a	2-10	27,79

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 13. Duración promedio (días) del quinto instar (L5) de *H. grandella* en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Ruda</b>				
10%	14	11,36 ± 1,55 a	9-14	13,64
3,16%	19	11,47 ± 1,68 a	9-15	14,63
1%	18	12,06 ± 2,24 a	9-16	18,54
0,32%	21	12,24 ± 2,72 a	8-18	22,21
0,1%	20	11,60 ± 1,96 a	9-17	16,87
A tens	23	11,87 ± 1,98 a	10-16	16,72
Metanol	22	12,09 ± 2,26 a	8-17	18,74
Agua	38	12,24 ± 2,89 a	9-20	23,61
<b>Tacaco cimarrón</b>				
10%	3	10,33 ± 1,15 a	9-11	11,17
3,16%	15	9,73 ± 0,88 a	9-11	9,08
1%	20	9,70 ± 1,08 a	8-13	11,14
0,32%	21	10,05 ± 1,24 a	8-12	12,38
0,1%	26	10,54 ± 1,30 a	8-13	12,37
A.tens	24	10,04 ± 1,20 a	8-12	11,92
Metanol	26	9,81 ± 1,13 a	8-12	11,54
Agua	52	10,42 ± 1,30 a	8-14	12,51

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 14. Duración promedio (días) de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Ruda</b>				
10%	14	12,71 ± 0,73 a	12-14	5,71
3,16%	18	12,50 ± 0,86 a	11-14	6,86
1%	16	12,56 ± 0,51 a	12-13	4,08
0,32%	21	13,00 ± 0,63 a	12-14	4,86
0,1%	20	12,45 ± 0,69 a	11-14	5,51
A tens	21	12,86 ± 0,96 a	11-15	7,49
Metanol	20	12,80 ± 0,77 a	12-14	6,00
Agua	35	12,91 ± 0,82 a	12-14	6,33
<b>Tacaco cimarrón</b>				
10%	2	12,50 ± 0,71 a	12-13	5,66
3,16%	14	12,71 ± 0,61 a	12-14	4,81
1%	20	12,45 ± 0,82 a	11-14	6,63
0,32%	20	12,80 ± 0,70 a	12-14	5,44
0,1%	26	12,81 ± 0,85 a	11-14	6,63
A tens	24	12,46 ± 0,78 a	11-14	6,25
Metanol	25	12,32 ± 0,63 a	11-13	5,09
Agua	49	12,47 ± 0,71 a	10-14	5,69

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 15. Peso promedio de la pupa de *H. grandella* en los tratamientos con ruda y tacaco cimarrón.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Ruda</b>				
10%	15	0,129 ± 0,026 a	0,093 - 0,183	20,42
3,16%	19	0,133 ± 0,030 a	0,073 - 0,185	22,30
1%	18	0,124 ± 0,028 a	0,079 - 0,189	22,97
0,32%	22	0,125 ± 0,025 a	0,082 - 0,186	20,07
0,1%	21	0,115 ± 0,024 a	0,086 - 0,161	21,13
A tens	23	0,124 ± 0,028 a	0,080 - 0,179	23,05
Metanol	22	0,126 ± 0,029 a	0,077 - 0,211	22,88
Agua	39	0,121 ± 0,029 a	0,071 - 0,191	24,40
<b>Tacaco cimarrón</b>				
10%	3	0,182 ± 0,014 a	0,169 - 0,197	7,75
3,16%	15	0,182 ± 0,026 a	0,149 - 0,227	14,15
1%	20	0,179 ± 0,022 a	0,132 - 0,213	12,25
0,32%	21	0,189 ± 0,042 a	0,117 - 0,288	22,10
0,1%	26	0,176 ± 0,032 a	0,124 - 0,239	18,32
A tens	24	0,181 ± 0,028 a	0,116 - 0,235	15,26
Metanol	26	0,186 ± 0,035 a	0,109 - 0,259	18,59
Agua	52	0,172 ± 0,026 a	0,108 - 0,235	15,21

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey

Anexo 16. Proporción promedio de perforaciones en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de *H. grandella*, a diferentes intervalos, en el invernadero.

Tratamiento	N	X	± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Total evaluaciones</b>					
Agua	40	0,48	± 0,88 ab	0 - 3	184,57
A tens	40	0,45	± 0,88 ab	0 - 4	194,58
QMad	40	0,03	± 0,16 b	0 - 1	632,46
QFoll	40	0,52	± 0,96 a	0 - 5	182,94
Azafín	40	0,03	± 0,16 b	0 - 1	632,46
Nim80	40	0,22	± 0,66 ab	0 - 3	293,22
Ruda	40	0,18	± 0,45 ab	0 - 2	255,14
Tacac	40	0,18	± 0,45 ab	0 - 2	255,14
<b>2 ddt*</b>					
Agua	10	0,90	± 0,99 a	0 - 3	110,49
A tens	10	1,00	± 0,94 a	0 - 3	94,28
QMad	10	0,10	± 0,32 b	0 - 1	326,23
QFoll	10	1,20	± 0,63 a	0 - 2	52,70
Azafín	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	10	0,80	± 1,14 a	0 - 3	141,91
Ruda	10	0,30	± 0,48 b	0 - 1	161,02
Tacac	10	0,30	± 0,48 b	0 - 1	161,12
<b>4 ddt</b>					
Agua	10	1,00	± 1,15 a	0 - 3	115,47
A tens	10	0,80	± 1,23 ab	0 - 4	153,66
QMad	10	0,00	± 0,00 c	0 - 0	
QFoll	10	0,80	± 1,55 ab	0 - 5	193,65
Azafín	10	0,10	± 0,32 c	0 - 1	316,23
Nim80	10	0,10	± 0,32 c	0 - 1	316,23
Ruda	10	0,40	± 0,70 bc	0 - 2	174,80
Tacac	10	0,40	± 0,70 bc	0 - 2	174,80
<b>8 ddt</b>					
Agua	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
A tens	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
QMad	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
QFoll	10	0,10	± 0,32 a	0 - 1	316,23
Azafín	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Nim80	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Ruda	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Tacac	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
<b>16 ddt</b>					
Agua	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
A tens	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
QMad	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
QFoll	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Azafín	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Nim80	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Ruda	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Tacac	10	0,00	± 0,00 a	0 - 0	

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey  
 \*ddt = Días después del tratamiento

Anexo 17. Proporción promedio de montículos en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de *H. grandella*, a diferentes intervalos, en el invernadero.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Total evaluaciones</b>				
Agua	40	1,32 ± 1,44 a	0 - 6	108,62
A. tens	40	1,30 ± 1,09 a	0 - 4	83,90
QMad	40	0,20 ± 0,46 bc	0 - 2	232,05
QFoll	40	1,40 ± 1,70 a	0 - 8	121,91
Azatin	40	0,12 ± 0,40 c	0 - 2	323,44
Nim80	40	1,10 ± 1,17 abc	0 - 5	106,58
Ruda	40	0,82 ± 1,03 abc	0 - 3	125,45
Tacac	40	1,25 ± 1,30 ab	0 - 5	103,68
<b>2 ddt*</b>				
Agua	10	0,90 ± 1,20 a	0 - 3	133,02
A. tens	10	0,50 ± 0,71 a	0 - 2	141,42
QMad	10	0,50 ± 0,71 a	0 - 2	141,42
QFoll	10	0,10 ± 0,32 a	0 - 1	316,23
Azatin	10	0,10 ± 0,32 a	0 - 1	316,23
Nim80	10	0,10 ± 0,32 a	0 - 1	316,23
Ruda	10	0,60 ± 0,70 a	0 - 2	116,53
Tacac	10	0,60 ± 0,70 a	0 - 2	116,53
<b>4 ddt</b>				
Agua	10	1,00 ± 1,92 ab	0 - 6	173,81
A. tens	10	1,30 ± 0,95 ab	0 - 3	72,98
QMad	10	0,10 ± 0,32 c	0 - 1	316,23
QFoll	10	1,70 ± 1,77 a	0 - 6	103,94
Azatin	10	0,10 ± 0,32 c	0 - 1	316,23
Nim80	10	1,20 ± 0,63 ab	0 - 2	52,70
Ruda	10	0,50 ± 0,85 bc	0 - 2	169,97
Tacac	10	1,40 ± 1,65 a	0 - 5	117,61
<b>8 ddt</b>				
Agua	10	1,80 ± 1,40 ab	0 - 4	77,68
A. tens	10	1,70 ± 1,16 ab	0 - 3	68,20
QMad	10	0,10 ± 0,32 c	0 - 1	316,23
QFoll	10	2,10 ± 2,23 a	0 - 8	106,36
Azatin	10	0,20 ± 0,63 c	0 - 2	316,23
Nim80	10	1,80 ± 1,69 ab	0 - 5	93,70
Ruda	10	1,20 ± 1,23 b	0 - 3	102,44
Tacac	10	1,50 ± 1,35 ab	0 - 4	90,27
<b>16 ddt</b>				
Agua	10	1,50 ± 1,18 ab	0 - 4	78,57
A. tens	10	1,70 ± 1,16 a	0 - 4	68,20
QMad	10	0,10 ± 0,32 c	0 - 1	316,23
QFoll	10	1,70 ± 1,34 a	0 - 4	78,68
Azatin	10	0,10 ± 0,32 c	0 - 1	316,23
Nim80	10	1,30 ± 0,95 ab	0 - 3	72,98
Ruda	10	1,00 ± 1,25 b	0 - 3	124,72
Tacac	10	1,50 ± 1,27 ab	0 - 3	84,62

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey  
\*ddt = Días después del tratamiento.

Anexo 18. Proporción promedio de brotes caídos en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de *H. grandella*, a diferentes intervalos, en el invernadero.

Tratamiento	N	X	± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Total evaluaciones</b>					
Agua	40	0,40	± 0,63 a	0 - 2	158,11
A. tens	40	0,40	± 0,74 a	0 - 3	186,05
QMad	40	0,05	± 0,22 a	0 - 1	441,44
QFoll	40	0,48	± 0,55 a	0 - 2	116,66
Azatin	40	0,00	± 0,00 a	0 - 0	
Nim80	40	0,48	± 0,85 a	0 - 3	178,30
Ruda	40	0,08	± 0,35 a	0 - 2	466,54
Tacac	40	1,28	± 0,45 a	0 - 1	164,44
<b>2 ddt*</b>					
Agua	10	0,20	± 0,42 b	0 - 1	210,82
A. tens	10	0,30	± 0,67 ab	0 - 2	224,98
QMad	10	0,10	± 0,32 b	0 - 1	316,23
QFoll	10	0,60	± 0,52 a	0 - 1	86,07
Azatin	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	10	0,60	± 0,84 a	0 - 2	140,54
Ruda	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Tacac	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
<b>4 ddt</b>					
Agua	10	0,60	± 0,70 bc	0 - 2	116,53
A. tens	10	0,20	± 0,42 de	0 - 1	210,82
QMad	10	0,10	± 0,32 de	0 - 1	316,23
QFoll	10	0,80	± 0,63 b	0 - 2	79,06
Azatin	10	0,00	± 0,00 e	0,00	
Nim80	10	0,80	± 1,14 b	0 - 3	141,91
Ruda	10	1,10	± 0,32 a	0 - 1	316,23
Tacac	10	0,40	± 0,52 cd	0 - 1	129,10
<b>8 ddt</b>					
Agua	10	0,70	± 0,82 a	0 - 2	117,61
A. tens	10	0,50	± 0,71 a	0 - 2	141,42
QMad	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
QFoll	10	0,40	± 0,52 a	0 - 1	129,10
Azatin	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	10	0,50	± 0,85 a	0 - 2	169,97
Ruda	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Tacac	10	0,70	± 0,48 a	0 - 1	69,01
<b>16 ddt</b>					
Agua	10	0,10	± 0,32 b	0 - 1	316,23
A. tens	10	0,60	± 1,07 a	0 - 3	179,16
QMad	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
QFoll	10	0,10	± 0,32 b	0 - 1	316,23
Azatin	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	
Ruda	10	0,20	± 0,63 b	0 - 2	316,23
Tacac	10	0,00	± 0,00 b	0 - 0	

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey  
 \*ddt = Días después del tratamiento



Anexo 19. Proporción promedio de ramas caídas en plantas de cedro tratadas con varios extractos vegetales, por parte de las larvas de primer instar de *H. grandella*, a diferentes intervalos, en el invernadero.

Tratamiento	N	X ± E.E.	Ambito	C.V.
<b>Total evaluaciones</b>				
Agua	40	0,18 ± 0,55 ab	0 - 3	313,98
A tens	40	0,12 ± 0,40 ab	0 - 2	323,44
QMad	40	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
QFoll	40	0,28 ± 0,50 a	0 - 2	183,90
Azatin	40	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	40	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
Ruda	40	0,05 ± 0,22 b	0 - 1	441,44
Tacac	40	0,05 ± 0,32 b	0 - 2	632,46
<b>2 ddt*</b>				
Agua	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
A tens	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
QMad	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
QFoll	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Azatin	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Nim80	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Ruda	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Tacac	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
<b>4 ddt</b>				
Agua	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
A tens	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
QMad	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
QFoll	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Azatin	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Nim80	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Ruda	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
Tacac	10	0,00 ± 0,00 a	0 - 0	
<b>8 ddt</b>				
Agua	10	0,20 ± 0,42 b	0 - 1	210,82
A tens	10	0,20 ± 0,42 b	0 - 1	210,82
QMad	10	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
QFoll	10	0,50 ± 0,53 a	0 - 1	105,41
Azatin	10	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
Nim80	10	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
Ruda	10	0,20 ± 0,42 b	0 - 1	210,82
Tacac	10	0,00 ± 0,00 b	0 - 0	
<b>16 ddt</b>				
Agua	10	0,50 ± 0,97 ab	0 - 3	194,36
A tens	10	0,30 ± 0,67 bc	0 - 2	224,98
QMad	10	0,00 ± 0,00 d	0 - 0	
QFoll	10	0,60 ± 0,70 a	0 - 2	116,53
Azatin	10	0,00 ± 0,00 d	0 - 0	
Nim80	10	0,00 ± 0,00 d	0 - 0	
Ruda	10	0,00 ± 0,00 d	0 - 0	
Tacac	10	0,20 ± 0,63 cd	0 - 2	316,23

Las medias con la misma letra no difieren ( $p=0,05$ ) según la prueba de Tukey  
 \*ddt = Días después del tratamiento

**Anexo 20. Ingredientes y preparación de la dieta artificial para las larvas de *Hypsipyla grandella***

Orden	Producto	Gramos
1	Germen de trigo	120
2	Azúcar	30
3	Caseína	20
4	Agar	20
5	Levadura "Brewers" (Yeast)	15
6	Acido P-Hydroxy-benzoico Metil ester	1
7	Colesterol	0.2
8	Sales de Wesson's	10
9	Acido sórbico	2
10	Semilla molida de <i>Cedrela</i>	2
11	Agua destilada	850 mL.
*Autoclavar por 45 minutos.		
**12	Chlorotetracycline (Hidrochloride)	0.3
**13	Vitamina	15

\*\* Estos dos ingredientes se agregan después de autoclavar y a una temperatura menor de 65°C.

**Autoclavado:**

- c) Colocar la dieta en el autoclave por 45 minutos.
- \* Antes de la colocación de la dieta, esta debe ser previamente mezclada, tanto en seco como con los 850 mL de agua destilada.
- d) Sacar dieta y mover con una espátula hasta enfriar.
- e) Cuando alcance aproximadamente 60°C, agregar los dos ingredientes restantes.