



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**“EFECTO DEL NIM (*Azadirachta indica*) (A. Juss) EN EL  
DESARROLLO BIOLÓGICO Y EL METABOLISMO  
DEL GUSANO COGOLLERO (*Spodoptera frugiperda*  
(Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MAÍZ”**

**SOCORRO DEL CARMEN GUTIÉRREZ GARCÍA**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada “Efecto del Nim (*Azadirachta indica*) (A. Juss) en el desarrollo biológico y el metabolismo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz”, realizada por la alumna **Socorro del Carmen Gutiérrez García** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

\_\_\_\_\_  
Dr. Julio Sánchez Escudero

DIRECTOR DE TESIS:

\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Francisco Pérez Domínguez

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Aquiles Carballo Carballo

Asesora:

\_\_\_\_\_  
Dra. Ma. Martha Aguilera Peña

Asesor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Armando Equihua Martínez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2010

EFFECTO DEL NIM (*Azadirachta indica*) (A. Juss) EN EL DESARROLLO BIOLÓGICO Y  
EL METABOLISMO DEL GUSANO COGOLLERO (*Spodoptera frugiperda* (Smith)  
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MAIZ

Socorro del Carmen Gutiérrez García, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010

En el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) está documentado que los efectos subletales que *Azadirachta indica* ocasiona en poblaciones de este insecto ha sido la inhibición de la alimentación, efectos en el metabolismo del insecto y alteraciones en el desarrollo biológico; sin embargo, no está cuantificado en qué magnitud ocurren estas alteraciones (Li, et al. 2003). Con el presente estudio se planteó dar respuesta a estas interrogantes, a partir de los siguientes objetivos: 1) Analizar las alteraciones en el desarrollo biológico de larvas y pupas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) causadas por el consumo de *A. indica*, 2) Determinar y cuantificar el efecto del consumo de *A. indica* en el metabolismo de *S. frugiperda* (Smith) y 3) Medir el control mediante aplicaciones de *A. indica*, en el daño causado por el gusano cogollero mantenido en plantas de dos líneas de maíz, resistente (CML-67) y susceptible (CML-131).

Los resultados más importantes fueron: 1) Se prolongó hasta un 86.6% la duración del estado de larva, 2) se redujo la supervivencia del estado de larva, 3) disminuyó el peso de la pupa, 4) hubo disminución en el tamaño de la cápsula cefálica en larvas que consumieron dieta con *A. indica*, 5) la duración larval se prolongó más en extractos acuosos, que en los tratamientos con aceite de *A. indica* así como el peso de excretas, 6) las tasas relativas de consumo, crecimiento y metabólica fueron menores para las larvas alimentadas en dieta con extractos acuosos de *A. indica*, en comparación con las larvas con aceite de *A. indica*, 7) hubo reducción de la alimentación y como consecuencia en el crecimiento de las larvas y 8) el daño foliar en la línea susceptible fue alto y en la línea resistente el daño foliar fue moderado.

Palabras clave: Efectos subletales, costo metabólico, *Azadirachta indica* extractos acuosos, *A. indica* aceite, daño foliar en maíz.

EFFECT OF the NIM (*Azadirachta indica*) (A. Juss) IN the BIOLOGICAL DEVELOPMENT AND THE METABOLISM OF BUDWORM (*Spodoptera frugiperda* (Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN CORN

Socorro del Carmen Gutiérrez García, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010

In the budworm corn *Spodoptera frugiperda* (Smith) is documented that the sublethal effects that *Azadirachta indica* it causes in populations of this insect has been the inhibition of the feeding, effects in the metabolism of the insect and alterations in the biological development; nevertheless, it has not been quantified in what magnitude happens these alterations (Li, ET to. 2003). In the present study it was considered to give answer to these questions, with the following objectives: 1) To analyze the alterations in the biological development of larvae and pupae of *Spodoptera frugiperda* (Smith) caused by the consumption of *A. indica*, 2) To determine and to quantify the effect of the consumption of *A. indica* in the metabolism of *S. frugiperda* (Smith) and 3) To measure the control by means of applications of *A. indica*, in the damage caused by the maintained corn budworm in plants of two lines of maize, resistant (CML-67) and susceptible (CML-131). The most important results were: 1) The duration of the larva state extended until 86,6%, 2) was reduced the survival of the larva state, 3) diminished the weight of pupa, 4) were diminution in the size of the cephalic capsule in larvae that consumed diet with *A. indica*, 5) the larval duration extended more in watery extracts, that in the treatments with oil of *A. indica* as well as the weight of you excrete, the 6) relative rates of consumption, growth and metabolic they were smaller for the larvae fed in diet with watery extracts of *A. indica*, in comparison with the larvae with oil of *A. indica*, 7) were reduction of the feeding and consequently in the growth of larvae and 8) the foliar damage in the susceptible line was high and in the resistant line the foliar damage was moderate.

**Key words:** Lethal effects, metabolic cost, *Azadirachta indica* watery extracts, *A. indica* oil, foliar damage in maize.

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mis más sinceros agradecimientos:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y Colegio de Postgraduados, que juntos hicieron posible la realización de mis estudios de doctorado.

Al Dr. Julio Sánchez Escudero, por sus valiosas aportaciones en la realización del trabajo de investigación de tesis, sus opiniones y su buena disposición para participar en mi programa de doctorado.

Al Dr. Juan Francisco Pérez Domínguez, por su dirección, amistad, apoyo y confianza, así como por sus observaciones y críticas a la investigación realizada que indudablemente mejoraron su presentación.

Al Dr. Aquiles Carballo Carballo, por sus meritorias aportaciones, enseñanzas, consejos, comprensión y extraordinaria calidad humana, mostrados en todas las etapas de mi vida profesional (Licenciatura, Maestría y Doctorado). Gracias por el apoyo mostrado por muchos años.

A la Dra. Ma. Martha Aguilera Peña, por sus apreciadas aportaciones a la presente investigación, sus comentarios, pero sobre todo por su gran disposición y amistad incomparable demostrada hacía mi.

Al Dr. Armando Equihua Martínez, por sus estimables aportaciones a la tesis, su disposición para participar en mi programa de doctorado.

Al Dr. Víctor Manuel Cetina Alcalá, por su extraordinaria amistad que me ha brindado siempre, por su enseñanza no sólo en la presente investigación, sino por su apoyo y orientación en las diferentes etapas de mi desarrollo profesional.

A mis amigos José Luis Sánchez, Rafael Rodríguez, Georgina Díaz , Lupita Sánchez, Nelly, Grecia, Jesús y M.C. Jesús Cabrera, por la gran amistad y comprensión que me han demostrado durante muchos años.

A la Srita. Elizabeth Romero Onofre por el apoyo desinteresado otorgado en todos los trámites administrativos.

## DEDICATORIA

**A Dios** por darme la vida y la oportunidad de concluir esta etapa de mi vida profesional.

**A mis Padres Héctor Gutiérrez García y Ma. del Carmen García Cuevas**, porque gracias a ustedes tengo una vida terrenal y con sus eficaces consejos he logrado llegar a este nivel de estudios; además, de ser una persona responsable y educada como ustedes me enseñaron, y a pesar de todos los momentos dolorosos siempre estarán en mi mente y corazón, por el gran amor que me han dado. Papá gracias por el apoyo que me estás dando desde el cielo.

**A mi hijo Ángel Orlando Ponce Gutiérrez**, quien es la mejor bendición que Dios me dio por su cariño, alegría, ayuda incondicional y por soportarme en los momentos difíciles. Perdóname y Gracias por estar conmigo mi pequeño Angelito.

**A mis sobrinos Juan Carlos, Héctor Alonso e Itzel Citlalli Rubio Gutiérrez y Braian Gael Gutiérrez Garay**, por el gran cariño desinteresado que muestran a mi persona y a mi hijo. Recuerden que siempre pueden contar con nosotros cada vez que lo necesiten.

**A mis hermanas Raquel Dolores y Guadalupe Remedios, mi hermano Antonino Sebastián, mi Cuñado Moisés Rubio Rubio y mi cuñada Ma. Isaura Garay Hernández**, por ser parte de mi familia.

A todos los familiares y amigos que siempre están al pendiente de mí y mi hijo.

## DEDICATORIA

**Señor:**

Tú bien sabes que yo no sé hacer versos, ni poemas, ni mucho menos rimar; pero lo que te voy a pedir con el corazón en la mano, no necesito que este sea un verso, ni poema, mucho menos que rime; Bendice a mis hijos, guíales con tu Santa mano en el camino que tengan que recorrer, y a mi esposa por medio de ti le doy las gracias por todo lo que me dio, sin esperar recompensa alguna, sin esperar nada, dale pues vida y salud. Señor para mí no pido nada, sólo con verlos felices a ella y a los hijos yo también seré FELIZ.



***Héctor Gutiérrez García***



Son muchos los sufrimientos en la vida,  
Ocasionados por las vicisitudes del  
alma  
Como poder evitarlos:  
Orando y pidiendo al Dios todo  
Poderoso misericordia,  
Reparando faltas y dando amor a los  
tuyos  
Realizando obras buenas para el bien  
propio,  
Obrando con cautela y razonando con  
prudencia.

***Héctor Gutiérrez García***

# CONTENIDO

	Página
<b>INDICE DE CUADROS</b>	xi
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	xiv
<b>RESUMEN GENERAL</b>	iii
<b>GENERAL SUMMARY</b>	iv
<b>I. INTRODUCCION GENERAL</b>	1
<b>II. ALTERACIONES EN EL DESARROLLO BIOLÓGICO DEL GUSANO COGOLLERO <i>S. frugiperda</i> CAUSADAS POR EL CONSUMO DE <i>Azadirachta indica</i></b>	3
RESUMEN	3
SUMMARY	4
1. INTRODUCCIÓN	4
2. MATERIALES Y METODOS	6
2.1 Materiales	6
2.1.1 Larvas de <i>S. frugiperda</i>	6
2.1.2 Semilla de <i>A. indica</i>	6
2.1.3 Aceite de <i>A. indica</i>	7
2.1.4 Dosis evaluadas	7
2.2 Experimentos de Laboratorio	7
2.2.1. Etapa 1.- Efectos en el desarrollo biológico de larvas de <i>S. frugiperda</i> al consumir dieta artificial con <i>A. indica</i> .	7
2.2.1.1. Extracto acuoso de semilla de <i>A. indica</i>	7
2.2.1.2. Aceite de <i>A. indica</i>	8
2.2.2. Etapa 2.- Determinación del índice de crecimiento en larvas y medición de cápsula cefálica en <i>S. frugiperda</i> alimentadas con dieta artificial mezclada con <i>A. indica</i> .	10
3. RESULTADOS	12
3.1. Etapa 1. Efectos en el desarrollo biológico de larvas y pupas de <i>S. frugiperda</i> al consumir dieta artificial con <i>A. indica</i> .	12
3.1.1. Extractos acuosos de <i>A. indica</i> .	12
3.1.2. Experimentos con aceite de semilla de <i>A. indica</i>	15



	Página
3.2. Etapa 2. Determinación de Índice de crecimiento y medición de cápsula cefálica en larvas de <i>S. frugiperda</i> .	18
3.2.1. Determinación de índices de crecimiento en larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con dieta artificial mas extractos acuosos de <i>A. indica</i> .	18
3.2.2. Determinación de índices de crecimiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con dieta artificial mas aceite de semilla de <i>A. indica</i> .	19
3.2.3. Medición de cápsula cefálica de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con dieta artificial con <i>A. indica</i> .	20
4. DISCUSIÓN	23
4.1. Etapa 1. Efectos en el desarrollo biológico de larvas y pupas de <i>S. frugiperda</i> al consumir dieta artificial con <i>A. indica</i> .	23
4.1.1.- Experimento con extractos acuosos de <i>A. indica</i>	23
4.1.2.- Experimentos con aceite de semilla de <i>A. indica</i>	25
4.2. Etapa 2. Determinación de Índice de crecimiento y medición de cápsula cefálica en larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con dieta artificial más extractos acuosos de <i>A. indica</i> .	26
5. CONCLUSIONES	28
5.1 Conclusiones generales	28
5.2 Conclusiones específicas	28
6. LITERATURA CITADA	29
<b>III. EFECTO DE <i>A. indica</i> EN EL METABOLISMO DE LARVAS DE <i>S. frugiperda</i> (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)</b>	<b>34</b>
RESUMEN	34
SUMMARY	35
1. INTRODUCCIÓN	35
2. MATERIALES Y METODOS	36
2.1 Preparación de los extractos acuosos y soluciones de aceite de <i>A. indica</i>	37
3. RESULTADOS	39
3.1 Índices nutricionales en larvas de <i>S. frugiperda</i> sometidas a	39

4 dosis de extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> .	Página
3.2 Indices nutricionales en larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con 5 dosis de aceite de <i>A. indica</i>	45
4. DISCUSIÓN	51
5. LITERATURA CITADA	52
<b>IV. COMPORTAMIENTO DE DOS LÍNEAS DE MAÍZ, RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE, TRATADAS CON DIFERENTES OPORTUNIDADES Y DOSIS DE <i>A. indica</i>, POR LA INFESTACIÓN DE GUSANO COGOLLERO <i>Spodoptera frugiperda</i> (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).</b>	55
RESUMEN	55
SUMMARY	56
1. INTRODUCCIÓN	57
2. MATERIALES Y METODOS	58
2.1 Preparación del terreno	58
2.2 Diseño experimental	59
2.3 Siembra	59
2.4 Infestación artificial con larvas de <i>S. frugiperda</i> .	60
2.5 Tratamiento con <i>A. indica</i> y su aplicación	60
2.6 Variables evaluadas	61
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
3.1 De las Fechas de aplicación del aceite de <i>A. indica</i>	62
3.2 Experimento: Concentraciones con aceite de <i>A. indica</i>	66
4. CONCLUSIONES	70
4.1 Efecto de los períodos de aplicación del aceite de <i>A. indica</i> .	70
4.2 En el efecto de las concentraciones con aceite de <i>A. indica</i>	71
5. LITERATURA CITADA	71
<b>V. CONCLUSIONES GENERALES</b>	74
<b>VI. LITERATURA CONSULTADA</b>	75

## INDICE DE CUADROS

<b>CAPÍTULO II</b>		Página
Cuadro 1	Dieta utilizada en el laboratorio de Entomología del CIMMYT para la cría artificial de <i>S. frugiperda</i> .	9
Cuadro 2	Distribución del desarrollo e índice de crecimiento de <i>S. frugiperda</i> en 8 dosis de extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> en dieta artificial.	19
Cuadro 3	Distribución de la población de <i>S. frugiperda</i> en 7 dosis de aceite de <i>A. indica</i> , en dieta artificial.	20
Cuadro 4	Parámetros de ancho de cápsula cefálica en las larvas de <i>S. frugiperda</i> en cada instar de desarrollo y las mediciones reportadas por la literatura.	22
<b>CAPÍTULO III</b>		
Cuadro 5	Duración de la fase larval de <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial con extractos de semilla de <i>A. indica</i> a diferentes dosis.	39
Cuadro 6	Consumo de dieta artificial con extractos de semilla de <i>A. indica</i> a diferentes dosis, por parte de <i>S. frugiperda</i> .	40
Cuadro 7	Peso de larvas de <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial con extractos de semilla de <i>A. indica</i> a diferentes dosis.	41
Cuadro 8	Peso de excretas de <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial con extractos de semilla de <i>A. indica</i> a diferentes dosis.	41
Cuadro 9	Tasas relativas (mg/mg/día) de consumo (TRCo), crecimiento (TRCr) y metabolismo (TRM) de larvas de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con extractos de semilla de <i>A. indica</i> .	42
Cuadro 10	Valores de regresión de las dosis evaluadas y las variables: Tasas relativas (mg/mg/día) de consumo (TRCo), crecimiento (TRCr) y metabolismo (TRM).	43

	Página	
Cuadro 11	Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> a diferentes dosis.	44
Cuadro 12	Valores de regresión de: Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> .	44
Cuadro 13	Duración de la fase larval, dieta consumida, peso de la larva en su máximo desarrollo y excretas producidas por <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial con diferentes dosis de aceite de <i>A. indica</i> .	46
Cuadro 14	Valores de regresión de: Duración de la fase larval, dieta consumida, peso de la larva en su máximo desarrollo y excretas producidas por de larvas de <i>S. frugiperda</i> en dieta artificial con diferentes dosis de aceite de <i>A. indica</i> .	47
Cuadro 15	Tasas relativas (mg/mmg/día) , de crecimiento (TRCr), de consumo (TRCo) y metabolismo (TRM) en larvas de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> .	48
Cuadro 16	Valores de regresión de: Tasas relativas (mg/mmg/día) de: crecimiento (TRCr), de consumo (TRCo) y metabolismo (TRM) en larvas de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> .	48
Cuadro 17	Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> a diferentes dosis.	49
Cuadro 18	Valores de regresión de: Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> .	50

## CAPÍTULO IV

Página

Cuadro 19	Daño de <i>Spodoptera frugiperda</i> en dos líneas de maíz (CML-67 y CML-131) con relación a diferentes fechas de aplicación de aceite de <i>A. indica</i> durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1998. Poza Rica, Ver. México.	63
Cuadro 20	Floración, Altura de Planta y Rendimiento de las líneas de maíz (CML-67 y CML-131) con relación a diferentes fechas de aplicación durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1998. Poza Rica, Ver. México.	65
Cuadro 21	Daño de <i>Spodoptera frugiperda</i> en dos líneas de maíz (CML-67 y CML-131) tratadas con diferentes dosis de aceite de <i>A. indica</i> durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1999. Poza Rica, Ver. México.	67
Cuadro 22	Floración, Altura de Planta y Rendimiento de las líneas de maíz (CML-67 y CML-131) tratadas con diferentes dosis de aceite de <i>A. indica</i> durante el ciclo de invierno y primavera-verano 1999. Poza Rica, Ver. México.	69

## INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II		Página
Figura 1	Duración de las fases larval y pupal, y peso de la pupa de <i>S. frugiperda</i> , criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i>	13
Figura 2	Supervivencia de las fases larval y pupal de <i>S. frugiperda</i> , criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> .	14
Figura 3	Peso de la pupa de <i>S. frugiperda</i> , criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de <i>A. indica</i> .	15
Figura 4	Duración de los estados de larva y pupa de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> .	16
Figura 5	Supervivencia de los estados de larva y pupa de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i>	16
Figura 6	Peso de pupa de <i>S. frugiperda</i> , alimentadas en dieta artificial con aceite de <i>A. indica</i> .	17
Figura 7	Dispersión de las mediciones de ancho de cápsula cefálica en larvas de <i>S. frugiperda</i> sometidas a ingesta con <i>A. indica</i> .	21
Figura 8	Comparación de promedios de ancho de cápsula cefálica entre las larvas que consumieron <i>A. indica</i> y las reportadas en la literatura.	22

## I. INTRODUCCION GENERAL

El Nim *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) contiene en sus semillas, tallo y hojas a la azadiractina, sustancia con efectos antialimentarios y repelentes a insectos plaga de cultivos (Levin-Mitchell *et al.*, 2004). Su amplia gama de acción en aproximadamente 400 especies plaga de importancia agrícola, doméstica, médica y veterinaria (Mulla y Su, 1999) en diversos cultivos y zonas agrícolas, ha estimulado su uso e investigación.

La información de *A. indica* es abundante en temas como: efectividad biológica, la cual ha sido comparada contra insecticidas organosintéticos y bioracionales en diversas especies plaga; búsqueda de dosis subletales, integración con otros métodos de control de insectos, efectos adversos sobre enemigos naturales o especies no objetivo; aspectos de propagación de la planta y fitoquímicos, así como toxicidad en mamíferos y enemigos naturales. Al igual que la gran mayoría de los insecticidas vegetales, el *A. indica* no provoca mortalidad tan rápida como los insecticidas organosintéticos por lo que es común que tenga efectos subletales sobre las especies plaga contra las que es aplicado, sin embargo se ignora los niveles de ingestión de *A. indica* a partir de los cuales aparecen los efectos subletales (Levin-Mitchell *et al.* 2004; Di Llio *et al.* 1999; Melathopoulos, *et al.* 2000; Prabhaker *et al.* 1999; Premachandra, *et al.* 2005; Saber *et al.* 2004 ; Tang, *et al.* 2002 y Weathersbee y Tang, 2002.

De *A. indica* se ha utilizado la hoja al 2.0%, el fruto desde el 4.0 hasta el 13.3%, el polvo de la torta o de la semilla desde el 0.1 hasta el 5.0%, y el aceite obtenido de la semilla desde el 0.2 hasta el 1.0%, lo que denota que los principios insecticidas se encuentran distribuidos en todo el árbol (pero en mayor concentración en la semilla) y que aún dentro de una misma estructura vegetal existe una dinámica en su concentración (Levin-Mitchell *et al.* 2004).

Está documentado que los efectos subletales que *A. indica* ocasiona en poblaciones de el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) han sido la inhibición de la alimentación, efectos en el metabolismo del insecto y alteraciones en el desarrollo biológico; sin embargo, no está cuantificado en qué magnitud ocurren estas alteraciones (Li, *et al.* 2003).

El presente estudio propone dar respuesta a estas interrogantes, por lo que fue planteado con el siguiente objetivo general: Analizar el efecto que ocasiona el *Azadirachta indica* A. Juss. (meliaceae) en el desarrollo biológico y metabolismo del gusano cogollero *S. frugiperda* (Smith). Para lograr este objetivo, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

Analizar el efecto del *A. indica* en el desarrollo del estado de larva y del estado de pupa, medido como duración y supervivencia, así como desarrollo del estado de pupa de gusano cogollero ocasionado al ingerir diversas dosis de *A. indica*.

Determinar y cuantificar el efecto del consumo de *A. indica* en el metabolismo de *S. frugiperda* (Smith).

Conocer en campo los daños causados por el gusano cogollero (*S. frugiperda*) (Smith) mantenido en dos líneas de maíz clasificadas como resistente (CML-67) y susceptible (CML-131), con aplicaciones de diferentes dosis de aceite de *A. indica* dirigidas al follaje y cogollo.

Las hipótesis planteadas son: a).- Existe un gradiente de niveles de *A. indica*, los cuales, al ser ingeridos por el gusano cogollero, los resultados son desde no respuesta hasta alteración del desarrollo biológico.

b).- Existe un nivel de concentración de *A. indica* en el cuerpo del insecto, en el cual se producen alteraciones en el metabolismo e inhibición en la alimentación de éste.



## II. ALTERACIONES EN EL DESARROLLO BIOLÓGICO DEL GUSANO COGOLLERO *S. frugiperda* (SMITH) CAUSADAS POR EL CONSUMO DE *Azadirachta indica* (A. Juss)

### ALTERATIONS IN THE BIOLOGICAL DEVELOPMENT OF *S. frugiperda* CAUSED BY THE CONSUMPTION OF *Azadirachta indica*

#### RESUMEN

El gusano cogollero *S. frugiperda* fue criado en laboratorio y sometido a dosis de extractos acuosos y de aceite de semilla de *A. indica* con el objetivo de determinar y cuantificar las alteraciones en el desarrollo biológico de larvas y pupas causadas por el consumo de *A. indica* y las dosis en las que ocurren las alteraciones. En una primera etapa fueron desarrollados dos experimentos. En uno se evaluaron ocho dosis, con extracto acuoso de semilla de *A. indica* en 4.0, 1.0, 0.7, 0.4, 0.1, 0.07, 0.04 y 0.01%; En el segundo se evaluaron las dosis de aceite de *A. indica* 0.16, 0.09, 0.02, 0.016, 0.009, 0.002, 0.0016 y 0.0009%. En ambos experimentos fueron cuantificadas las variables: duración del estado de larvas y pupas, supervivencia del estado de larva y pupas y peso de la pupa. En una segunda etapa fue determinado el índice de crecimiento mediante la medición de la cápsula cefálica en larvas de *S. frugiperda*. Las larvas prolongaron su desarrollo en 3 días más que el testigo al consumir extracto acuoso de *A. indica*; redujeron su supervivencia como larva y pupa en 18 y 27.5% respectivamente, además, se redujo el peso de pupas. Al consumir aceite de *A. indica*, las larvas retrasaron su desarrollo desde 3 hasta 15 y 19 días más que el testigo. Los efectos adversos en larvas se manifestaron de 3 formas: 1) la duración del estado de larva se alteró al mantenerse las larvas por más días en ese estado, sin cambiar a pupa. 2) se redujo la supervivencia del estado de larva y 3) disminuyó el peso de la pupa. Las larvas alimentadas con el extracto acuoso al 1% presentaron un índice de crecimiento mayor y causó que el 22% de las larvas llegaran a 5° instar. Se observó disminución en el tamaño de la cápsula cefálica en larvas que consumieron dieta con *A. indica*.

Palabras clave: Inhibición del crecimiento, extractos acuosos, aceite *A. indica*, efectos subletales, supervivencia del estado de larva, peso de pupa.

## SUMMARY

Bud worm, *S. frugiperda* was bred in laboratory and put under dose of watery extracts and oil of seed of *A. indica* with the aim of determining and to quantify the alterations in the biological development of larvae and pupas of caused by the consumption of *A. indica* and the doses in which the alterations happen. In the first part two experiments were developed. In one eight doses were evaluated, with watery extract of seed of *A. indica* in 4.0, 1,0, 0,7, 0,4, 0,1, 0,07, 0,04 and 0,01%; In the second the doses of oil of *A* were evaluated. indicates 0,16, 0,09, 0,02, 0,016, 0,009, 0,002, 0,0016 and 0,0009%. In both experiments the variables were quantified: duration of the state of larvae and pupas, survival of the larva state and pupas and weight of pupa. Secondly *S. frugiperda* was determined the index of growth by means of the measurement of the cephalic capsule in larvae of *S. frugiperda*. The larvae prolonged their development in 3 days more than the witness when consuming watery extract of *A. indica*; they reduced its survival like larva and pupa in 18 and 27.5% respectively, in addition, was reduced the weight of pupas. When consuming oil of *A. indica*, the larvae delayed their development from 3 to 15 and 19 days more than the witness. The adverse effects in larvae were pronounced of 3 forms: the 1) duration of the larva state altered when staying the larvae by more days in that state, without changing pupa. 2) the survival of the larva state was reduced and 3) diminished the weight of pupa. The larvae fed with the watery extract 1% presented an index of greater growth and caused that 22% of the larvae arrived at 5° to insist. Diminution in the size of the cephalic capsule in larvae was observed that consumed diet with *A. indica*.

**Key words:** Inhibition of the growth, watery extracts, oil *A. indica*, lethal effects., survival of the larva state, weight of pupa.

## 1. INTRODUCCION

*Azadirachta indica* ocasiona diferentes efectos en más de 400 especies de insectos plaga evaluados (Schmutterer, 1995). Cuando esta sustancia es ingerida por los insectos, les provoca inhibición de la alimentación y del crecimiento, repelencia, reducción en la oviposición, esterilización, cambios en el sistema neuroendócrino, retraso o supresión de la ecdisis en diferentes dosis de azadiractina, así como de la hormona juvenil e incluso la muerte de las larvas (Dorn *et al.*, 1986; Saxena, 1988; Schmutterer, 1988; Gruber, 1992; Fuentes, 1992; Dorn, 1996; Mulla y Su, 1999). Diversos trabajos se han realizado para conocer el consumo necesario de *A. indica* que provoca alteraciones fisiológicas y conductuales en diversas especies de insectos (Lannacone y Murrugarra, 2002; Vogt y Viñuela, 2001; Li, 2000; Mordue *et al.* 1998; Schmutterer y Rembold, 1995). En larvas de *Trichoplusia ni* (Hubner) y *Spodoptera exigua* (Hubner) se prolongó el período del desarrollo y mortalidad de larvas al ingerir extractos de *A. indica* (Prabhaker *et al.* 1986), así como la Inhibición del crecimiento en larvas de primer ínstar de *S. frugiperda* (Klocke y Kubo, 1982 y Jacobson *et al.*, 1984).

En *S. frugiperda* se han estudiado los síntomas generales causados por la ingestión de *A. indica*, pero no se han cuantificado ni se han precisado los efectos por el consumo y las alteraciones en el desarrollo de larvas y pupas.

El presente estudio fue desarrollado con el objetivo de determinar y cuantificar las alteraciones en el desarrollo biológico de larvas y pupas de *S. frugiperda* causadas por el consumo de *A. indica* y los niveles de ingesta de *A. indica* con los cuales ocurren estas alteraciones.

Se discute en este capítulo el análisis del efecto del *A. indica* en el desarrollo del estado de larva y del estado de pupa, medido como duración y supervivencia del

estado de larva y del estado de pupa, así como desarrollo del estado de pupa de gusano cogollero ocasionado al ingerir diversas dosis de *A. indica*.

## **2. MATERIALES Y METODOS**

Para cumplir el objetivo del presente estudio fueron realizados dos experimentos para determinar el efecto de *A. indica* en las larvas de *S. frugiperda* en los diferentes tratamientos de extractos acuosos y aceite de semilla de *A. indica*.

En 1998 y 1999 se evaluaron extractos acuosos y aceite de semilla de *A. indica* en dieta artificial contra *S. frugiperda*, a temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , humedad relativa de  $60\pm 10\%$ , en el Laboratorio de Entomología del Programa de Maíz del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) en el Batán, Texcoco, Edo. de México.

### **2.1 .Materiales**

#### **2.1.1 Larvas de *S. frugiperda***

Para realizar los experimentos fue necesario contar con una población de larvas de gusano cogollero para infestar artificialmente.

Las larvas de primer instar de *S. frugiperda* se obtuvieron de la cría masiva de insectos del Laboratorio de Entomología del Programa de Maíz del CIMMYT.

#### **2.1.2 Semilla de *A. indica***

La semilla molida de *A. indica* para la obtención de extractos acuosos, se obtuvo de la plantación del árbol de *A. indica* del Municipio de San Pedro Tututepec, en la Costa de Oaxaca, Oaxaca.

### **2.1.3 Aceite de *A. indica***

El aceite de *A. indica*, NEEM OIL EXTRACT® al 93% con una concentración de azadiractina de 4,463 ppm recomendado a una dosis de 250 ml en 200 l de agua.

### **2.1.4 Dosis evaluadas**

Para la determinación de las dosis evaluadas en los experimentos del presente estudio, se realizaron previamente 2 bioensayos con rangos generalizados de la concentración de *A. indica*, evaluando las mismas variables que aquí son presentadas, hasta encontrar las dosis que fueron finalmente evaluadas en estos tratamientos.

## **2.2 . Experimentos de Laboratorio**

### **2.2.1. Etapa 1. Efectos en el desarrollo biológico de larvas de *S. frugiperda* al consumir dieta artificial con *A. indica*.**

#### **2.2.1.1. Extracto acuoso de semilla de *A. indica***

Se realizó un experimento en esta etapa, en donde se incluyeron ocho dosis del extracto acuoso de semilla de *A. indica* en dosis de 4.0, 1.0, 0.7, 0.4, 0.1, 0.07, 0.04 y 0.01%. Para la elaboración de las diferentes dosis se mezcló 4.0 g de semilla de *A. indica* en 100 ml de agua 24 horas antes de la preparación de la dieta y se mantuvo dentro de un frasco ámbar, con la finalidad de permitir la mejor extracción y conservación de los compuestos hidrosolubles. A las 24 horas se separó la parte sólida

de la líquida, filtrándolo con una coladera y una vez elaborada la dieta artificial se le agregó el compuesto líquido obtenido. De esta manera fueron preparadas las dosis indicadas, además de un testigo absoluto al cual sólo se le agregó 100 ml de agua.

### **2.2.1.2. Aceite de *A. indica***

En el experimento de aceite de *A. indica* se realizaron las siguientes dosis: 0.154, 0.088, 0.022, 0.0154, 0.0088, 0.0022, 0.00154 y 0.00088 ml, (equivalente a 0.16, 0.09, 0.02, 0.016, 0.009, 0.002, 0.0016 y 0.0009%). Para cada una de las dosis el aceite se midió con una micropipeta pipetman de 200 µl marca Gilson y se mezcló con agua hasta obtener un volumen de 100 ml de cada tratamiento.

Para la realización de estas pruebas, se utilizó la dieta artificial descrita en el Cuadro 1, en la cual se incorporaron los extractos acuosos al 4.0, 1.0, 0.7, 0.4, 0.1, 0.07, 0.04 y 0.01% durante la preparación de ésta, obteniéndose aproximadamente 600 g de dieta para cada tratamiento.

La cantidad de agua requerida para la preparación del extracto se incluyó en el total de agua normalmente utilizada en la elaboración de la dieta artificial. Además de la dieta correspondiente a cada dosis también se preparó una dieta testigo, la cual sólo se le agregó agua. Después de su preparación, las dietas fueron vaciadas en tubos de vidrio con capacidad de 5 cm de alto x 1.5 cm de diámetro.

A las 24 horas de la elaboración de la dieta artificial con el *A. indica* a diferentes dosis se colocaron larvas de primer instar de *S. frugiperda* en los tubos de vidrio. Fueron preparados 100 tubos con cada dosis, colocando una larva recién eclosionada por tubo, cada tubo se tapó con algodón esterilizado y se mantuvo en una cámara de cría con  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  y  $60\pm 10\%$  de humedad relativa. Diariamente se revisaron las 100 larvas por dosis, con la finalidad de cuantificar la mortalidad y la duración del estado de larva hasta su transformación al estado de pupa.

Cuadro 1. Dieta utilizada en el laboratorio de Entomología del CIMMYT para la cría artificial de *S. frugiperda*.

Ingredientes	Cantidad*
Agua	8 lts
Agar	100 g
Dieta (Pre-mix diet)	600 g
Maíz opaco molido	1000 g
Levadura	400 g
Vitaminas (Vitamins mixture)	100 g
Polvo de espiga esteril	200 g
Neomycin sulfate	6 g
Metil p-hidroxibenzoato	17 g
Formaldehído	25 ml
Acido sórbico	17 g

\*Para preparar 10 Kg de dieta (Tomado de CIMMYT, 1996).

Las pupas se pesaron a las 24 h y se transfirieron a otros tubos, donde permanecieron hasta la emergencia de los adultos. Para cada dosis se evaluó la duración y supervivencia de los estados de larvas y pupas y el peso de las pupas. La supervivencia del estado de larva es el porcentaje de larvas que pasan a la etapa de pupa y la supervivencia de pupa es el porcentaje de pupas que emergen como adultos.

En las nueve dosis que se evaluaron [ocho dosis de aceite de *A. indica*, 0.154, 0.088, 0.022, 0.0154, 0.0088, 0.0022, 0.00154, 0.00088 ml aforados a 100 ml con agua y un testigo (sin *A. indica*)], el procedimiento y las variables evaluadas fueron las mismas que se utilizaron para los experimentos con extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza y fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de rangos (PROC RANKS) (SAS, 2002). Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones y cada repetición constó de un lote de 20 larvas.

Para ambos experimentos de esta etapa fueron evaluadas las variables: duración del estado de larva, duración del estado de pupa, supervivencia del estado de larva y del estado de pupa, y peso de la pupa, estas variables son adecuadas para describir los estados de desarrollo de *S. frugiperda* (Hellpap, 1984).

### **2.2.2. Etapa 2. Determinación del índice de crecimiento en larvas y medición de cápsula cefálica en *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial mezclada con *A. indica*.**

Para la determinación de los índices de crecimiento se utilizaron 60 larvas de primer instar de *S. frugiperda*, para cada uno de los tratamientos.

Se determinó también la inhibición del desarrollo larval; para eso, se cuantificó la supervivencia en cada instar larval y en las fases de prepupa y pupa, en el momento en que todas las larvas sobrevivientes del testigo habían alcanzado la fase de pupa.

Posteriormente, con estos datos, se calculó el índice de crecimiento (IC), adaptado de Zhang *et al.* (1993):

$$IC = \frac{{}^8 \sum_{i=1} (n_{(i)} \times i) + {}^8 \sum_{i=1} \{n'_{(i)} \times (i-1)\}}{N \times I}$$

Donde:

$n_{(i)}$  = Número de insectos vivos en el estadio de desarrollo  $i$ ;

$n'_{(i)}$  = Número de insectos muertos en el estadio de desarrollo  $i$ ;

$N$  = Número de insectos probados (60, en éste caso);

$i$  = edad del insecto: 1-6 (primero al sexto instar), 7 (prepupa) y 8 (pupa).



I = Número total (8) de estadios de desarrollo.

El IC varía de 0 a 1, indicando, en sus valores extremos, crecimiento nulo (mortalidad total) y crecimiento similar al testigo, respectivamente.

Para la determinación del desarrollo de larvas en cada instar se midió la cápsula cefálica a larvas alimentadas con la dieta artificial, mezclada con el *A. indica* en sus diferentes dosis y que llegaron a desarrollar todos los instares larvales y se transformaron a pupa.

La medición de la cápsula cefálica se realizó mediante un microscopio compuesto y utilizando una cámara de video Iroscope adaptada al tercer tubo ocular. Todas las observaciones se hicieron con el objetivo de 10x. La imagen procedente de la cámara se capturó con un sistema VideoBlaster FS200 instalado en una computadora del tipo PC. Se obtuvieron 265 imágenes, cada una fue grabada en un disco ZIP con el formato JPG. De la misma forma, y con la misma óptica, se capturó la imagen de la reglilla de 5 milímetros de objetivo Zeiss, graduado en centésimas de milímetro.

Para el análisis de las imágenes se usó el programa Image Tool 1.28, de la University of Texas Health Science Center in San Antonio. Con la imagen de la reglilla micrométrica se calibró el programa y se asignaron milímetros (mm) como unidades de medida. De cada imagen se obtuvo la anchura, las cuales se ordenaron en tablas, cada una con su respectivo número de muestra. Las medidas de anchura se tomaron midiendo el ancho de la cápsula cefálica; es decir, uniendo los puntos más externos de los bordes laterales de la cápsula cefálica de cada larva, estas medidas se compararon con los datos de Ferraz (1982) obtenidos para cada uno de los 6 instares larvales de *S. frugiperda* y con los de Villa y Catalán (2004).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Etapa 1.- Efectos en el desarrollo biológico de larvas y pupas de *S. frugiperda* al consumir dieta artificial con *A. indica*.

##### 3.1.1. Extractos acuosos de *A. indica*.

En todos los tratamientos, las larvas se alimentaron de la dieta proporcionada. Las dosis de extractos acuosos de *A. indica* al 0.4, 0.7, 1 y 4% adicionadas a la dieta artificial produjeron una mortalidad del 100% en las larvas de *S. frugiperda*. En éste análisis se presenta los efectos subletales que *A. indica* causó en el desarrollo larval y pupal del insecto.

**Efecto biológico de los extractos acuosos de *A. indica*.** En el experimento con extractos acuosos la variable de duración del estado de larva todas las dosis fueron significativamente diferentes al testigo, excepto en el tratamiento con la concentración 0.01% ( $F_{4, 76} = 0.526$ ;  $P < 0.0621$ ) (Fig 1). En cambio, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la variable duración del estado de pupa en días ( $F_{4, 76} = 7.407$ ;  $P < 0.023$ ) (Fig. 1).

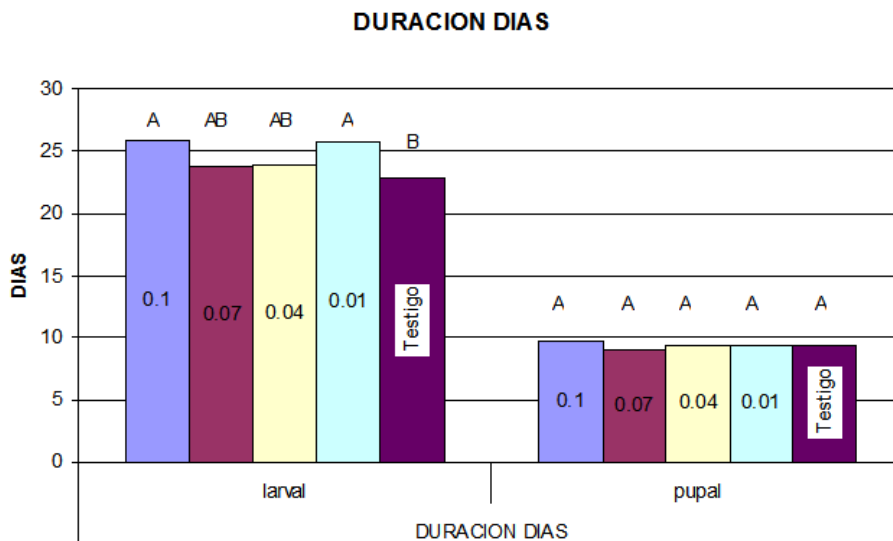


Figura 1.- Duración de las fases larval y pupal, y peso de la pupa de *S. frugiperda*, criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí de acuerdo con la prueba de ranks al nivel de 5 % de probabilidad. (SAS, 2002)

La supervivencia del estado de larva fue estadísticamente igual entre los tratamientos. Sin embargo, se presentó una diferencia significativa entre la concentración 0.04 y el testigo ( $F_{4, 76} = 1.9437$ ;  $P < 0.111$ ) (Fig. 2).

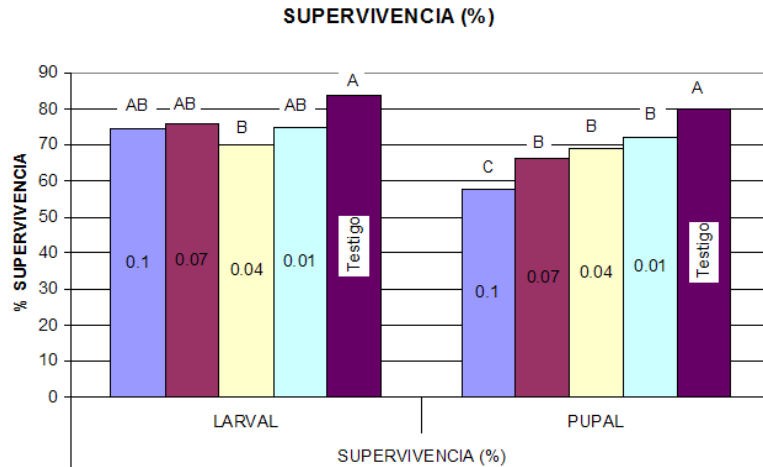


Figura 2. Supervivencia de las fases larval y pupal de *S. frugiperda*, criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí de acuerdo con la prueba de ranks al nivel de 5 % de probabilidad. (SAS, 2002)

La supervivencia del estado de pupa fue significativamente diferente entre las diversas dosis ( $F_{4,76} = 2.9903$ ;  $P = 0.024$ ) y más acentuada la concentración 0.1% de extracto acuoso al reducir 27.5% su supervivencia con respecto al testigo (Fig. 2).

Con respecto al peso de la pupa, existen diferencias estadísticas entre los tratamientos y el testigo, sobresaliendo el tratamiento con la concentración 0.1% de extracto acuoso (Fig. 3).

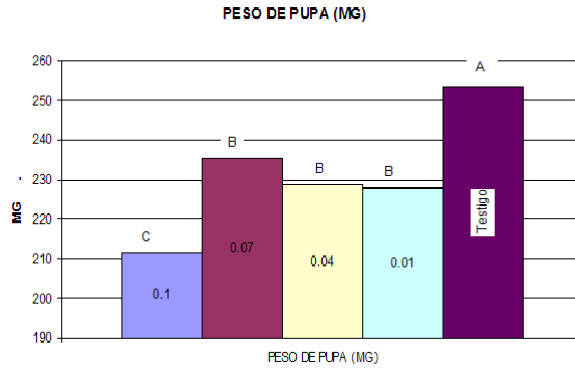


Figura 3.- Peso de la pupa de *S. frugiperda*, criadas en dieta artificial mezclada con extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí de acuerdo con la prueba de ranks al nivel de 5 % de probabilidad. (SAS, 2002).

### 3.1.2.- Experimentos con aceite de semilla de *A. indica*

En la variable duración del estado de larva todos los tratamientos de las diferentes dosis de aceite de *A. indica* no fueron significativamente diferentes al testigo, excepto el tratamiento con la concentración 0.09 de aceite de *A. indica* ( $F_{7,133} = 5.44$ ;  $P = 0.06317$ ) (Fig. 4).

Sin embargo, si existen diferencias estadísticas entre todos los tratamientos de las diferentes dosis de aceite de *A. indica* y el testigo en la variable duración del estado de pupa, excepto en el tratamiento con la concentración 0.002 que es igual al testigo ( $F_{7,133} = 7.538$ ;  $P = 0.04287$ ) (Fig. 4).

La supervivencia del estado de larva fue significativamente diferente entre los tratamientos con las dosis 0.02, 0.009 y 0.0016% y el testigo ( $F_{7,133} = 13.018$ ;  $P = 0.03128$ ) (Fig. 5).

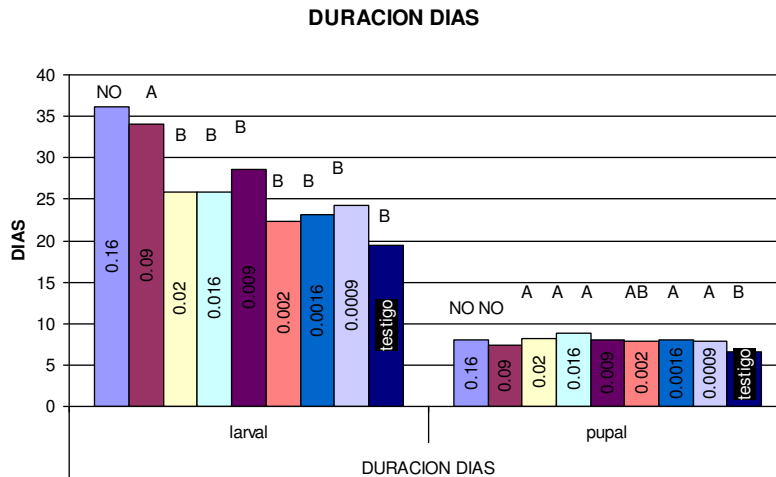


Figura 4.- Duración de los estados de larva y pupa de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de ranks al nivel de 5% de probabilidad. (SAS, 2002).

\* No fueron analizados estadísticamente.

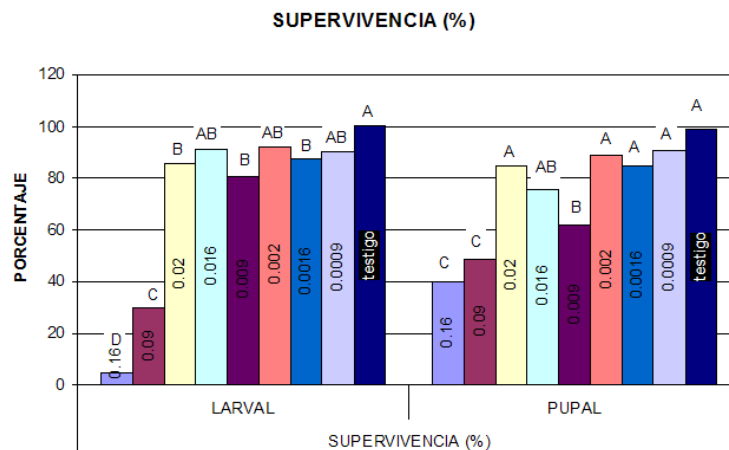


Figura 5. Supervivencia de los estados de larva y pupa de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de ranks al nivel de 5% de probabilidad. (SAS, 2002).

\* No fueron analizados estadísticamente.

Para la supervivencia del estado de pupa fue diferente estadísticamente entre los tratamientos con las dosis 0.16, 0.09 y 0.009, y el resto de tratamientos fueron igual al testigo ( $F_{7,133} = 12.1411$ ;  $P = 0.02872$ ) (Fig. 6).

En la variable peso de pupa todos los tratamientos con las diferentes dosis de aceite de *A. indica* fueron diferentes estadísticamente al testigo ( $F_{7,133} = 35.2$ ;  $P < 0.01947$ ) (Fig. 6).

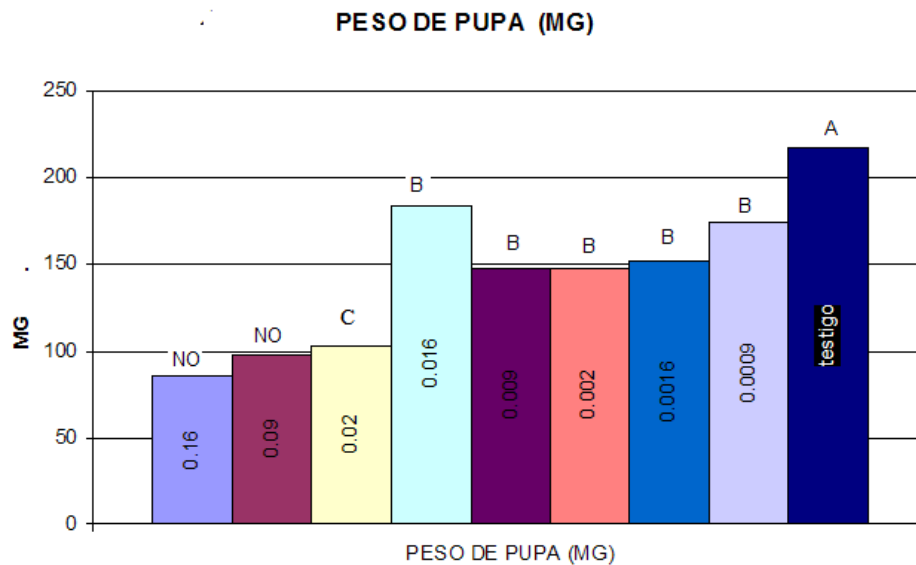


Figura 6. Peso de pupa de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Las medias seguidas de la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de ranks al nivel de 5% de probabilidad. (SAS, 2002).

\* No fueron analizados estadísticamente.

### **3.2. Etapa 2. Determinación de Índice de crecimiento y medición de cápsula cefálica en larvas de *S. frugiperda*.**

#### **3.2.1. Determinación de índices de crecimiento en larvas de *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial mas extractos acuosos de *A. indica*.**

En éste experimento el 53.3 y 38.3% de la población de larvas de *S. frugiperda* que ingirieron dieta con los tratamientos con dosis al 7 y 4% de extractos acuosos de *A. indica*, murieron en el primer instar. Para cuando pasaron al 2° instar, hubo el 100% de las larvas muertas (Cuadro 2).

Las larvas que consumieron 1.0% de extractos acuosos de semilla de *A. indica* lograron alcanzar el 5° instar en un 78.3% de la población estudiada cuando el testigo obtuvo el 96.7% de pupas. Para ese mismo momento los que consumieron 0.7 y 0.4% de extracto acuoso tuvieron 68.3 y 53.3% en el 6° instar. A pesar de eso, esta última concentración registró 8 pupas (Cuadro 2).

El Índice de crecimiento se midió de 0 a 1 (Cuadro 2). Los tratamientos 7.0 y 4.0% de extractos acuosos de semilla de *A. indica*, registraron 100% de mortalidad, por eso tienen índices de crecimiento muy bajos. Después de eso, las dosis 1.0, 0.7 y 0.4 tuvieron índices de crecimiento considerados bajos.

Al alimentar las larvas con dosis a partir de 1.0 y 0.4%, éstas larvas y pupas de *S. frugiperda* comenzaron a detener su crecimiento, siendo más notable este efecto en los instares larvales 5° y 6°, apreciándose una disminución en promedio del 14 al 35% además de disminuir el peso de la pupa (Cuadro 2).



Cuadro 2. Distribución del desarrollo e índice de crecimiento de *S. frugiperda* en 8 dosis de extractos acuosos de semilla de *A. indica* en dieta artificial.

Trat. (%)	Instares larvales						Prepupa	Pupa	I.C.
	1°	2°	3°	4°	5°	6°			
7.0	*0/32**	0/28	-	-	-	-	-	-	0.06
4.0	0/23	0/37	-	-	-	-	-	-	0.08
1.0	60/0	-	-	-	47/0	13/0	-	-	0.65
0.7	60/0	-	-	-	14/0	41/0	4/0	1/0	0.73
0.4	60/0	-	-	-	6/0	32/0	18/0	8/0	0.86
0.07	60/0	-	-	-	1/0	4/0	5/0	50/0	0.97
0.01	60/0	-	-	-	-	2/0	5/0	53/0	0.98
Testigo	60/0	-	-	-	-	2/0	-	58/0	0.99

I.C. Índice de crecimiento.

Evaluación hecha cuando el testigo de la población llegó al 96.67% de pupación.

\*Individuos vivos; \*\* Individuos muertos.

### 3.2.2. Determinación de índices de crecimiento de larvas de *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial mas aceite de semilla de *A. indica*.

En referencia al Cuadro 3, la concentración 0.5% de aceite de *A. indica* registró el 45% de su población larval en el 6° instar y el 40% en la fase de pupa; no obstante, esta concentración registró la menor cantidad de pupas; mientras que en las otras 6 dosis con aceite de *A. indica* presentaron de 35 a 43 pupas formadas, cuando el testigo tuvo 58.

En el Cuadro 3 se apreció que las siete dosis con aceite de *A. indica* y el testigo no presentaron mortalidad en la fase larval. El índice de crecimiento no disminuyó significativamente, solamente la mayor concentración tuvo un índice de crecimiento por debajo de 0.9.

Cuadro 3. Distribución de la población de *S. frugiperda* en 7 dosis de aceite de *A. indica*, en dieta artificial.

Trat. (%)	Instares larvales						Prepupa	Pupa	I.C.
	1°	2°	3°	4°	5°	6°			
0.5	-	-	-		1*/0**	27/0	8/0	24/0	0.86
0.16	-	-	-		1/0	10/0	14/0	35/0	0.92
0.09	-	-	-		-	9/0	9/0	42/0	0.94
0.05	-	-	-		-	16/0	1/0	43/0	0.93
0.016	-	-	-		2/0	7/0	8/0	43/0	0.94
0.0016	-	-	-		-	18/0	2/0	40/0	0.92
0.00016	-	-	-	0/1	2/0	12/0	6/0	39/0	0.92
Testigo	-	-	-		-	2/0	0/0	58/0	0.99

Evaluación hecha cuando el testigo de la población llegó a 96.67% de pupas.

\* Individuos vivos, \*\* Individuos muertos.

### 3.2.3. Medición de cápsula cefálica de larvas de *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial con *A. indica*.

La figura 7 presenta la dispersión de las mediciones de ancho de cápsula cefálica en las larvas de *S. frugiperda* sometidas a ingesta con diversas dosis de *A. indica*. Las larvas bajo estudio desarrollaron 6 instares larvales y durante los dos primeros instares no hubo algún efecto en el tamaño de la población de larvas bajo consumo de *A. indica* con respecto a lo reportado en la literatura (Ferraz, 1982; Villa y Catalán, 2004). Aunque en los instares 5° y 6° las larvas estudiadas tuvieron tamaño similar en anchura de cápsula cefálica.

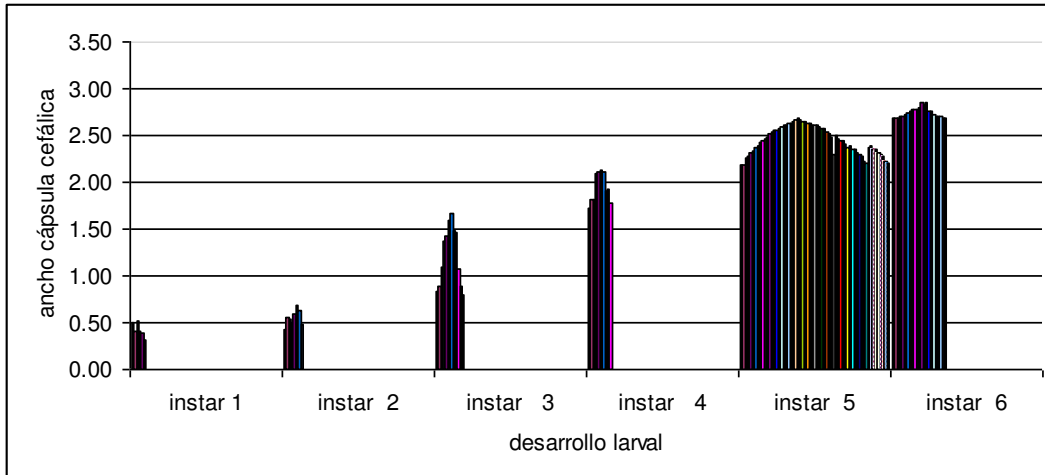


Figura 7.- Dispersión de las mediciones de ancho de cápsula cefálica en larvas de *S. frugiperda* sometidas a ingesta con *A. indica*.

El cuadro 4 muestra los límites máximo y mínimo de anchura de cápsula cefálica para cada instar de desarrollo larval. Los datos de Ferraz (1982), aún cuando tuvieron 6 instares, tiene mediciones menores a las de Villa Catalán (2004). Las mediciones máximas y mínimas del presente estudio fueron similares en tamaño a las de Ferraz (1982) quien crió y estudió poblaciones Brasileñas de *S. frugiperda*. En contraste, nuestras poblaciones estudiadas fueron menores que las analizadas por Villa y Catalán (2004) quienes analizaron poblaciones de *S. frugiperda* criadas en campo, en Gómez Palacio, Durango, México.

Las mediciones de cápsula cefálica en larvas que consumieron *A. indica* indican que no hubo un crecimiento uniforme y proporcional de los individuos de acuerdo con su etapa de desarrollo (Fig. 7). Entre las larvas de 5° y 6° instar no hay una clara diferencia entre instares larvales después de haber ingerido *A. indica* durante todo el desarrollo larval, la forma de identificar los instares larvales en el laboratorio fue mediante la presencia de exuvias de cápsulas cefálicas.

Cuadro 4.- Parámetros de ancho de cápsula cefálica en las larvas de *S. frugiperda* en cada instar de desarrollo y las mediciones reportadas por la literatura.

	Instar 1	Instar 2	Instar 3	Instar 4	Instar 5	Instar 6
Larvas alimentadas	Max 0.51	Max 0.69	Max 1.66	Max 2.13	Max 2.68	Max 2.86
Con <i>A. indica</i>	Min 0.32	Min 0.43	Min 0.79	Min 1.72	Min 2.18	Min 2.69
Ferraz (1982)	Max 0.35	Max 0.53	Max 0.81	Max 1.27	Max 1.94	Max 2.99
	Min 0.32	Min 0.50	Min 0.71	Min 1.07	Min 1.57	Min 2.42
Villa y Catalán (2004)	Max 0.75	Max 1.30	Max 2.00	Max 2.75	Max 3.25	-----
	Min 0.25	Min 0.60	Min 1.00	Min 1.25	Min 2.00	-----

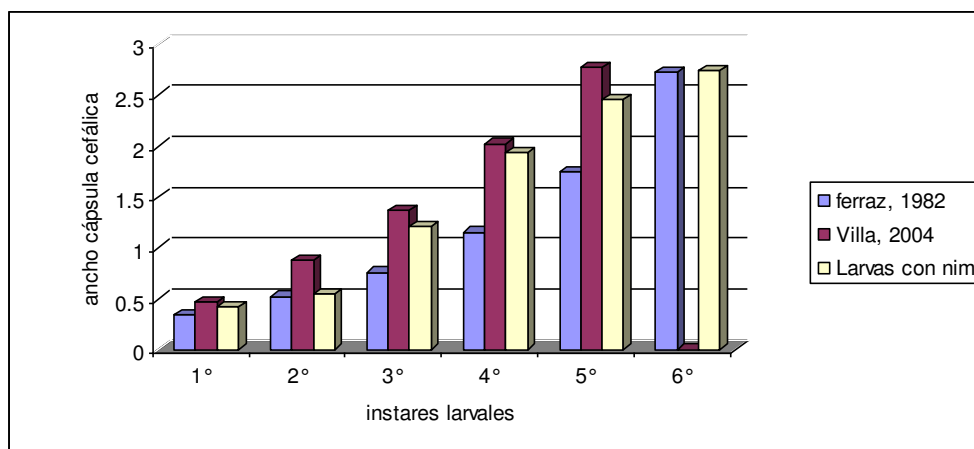


Figura 8. Comparación de promedios de ancho de cápsula cefálica entre las larvas que consumieron *A. indica* y las reportadas en la literatura.

En la figura 8 se observan los promedios de ancho de cápsula cefálica comparando las poblaciones bajo estudio y las reportadas por Ferraz (1982) y Villa y Catalán (2004). Aunque estos últimos autores mencionan que su población de *S. frugiperda* analizada desarrolló 5 instares, el tamaño de cápsula cefálica de nuestras larvas de 6° instar fueron menores que las del 5° instar de las poblaciones estudiadas por Villa y Catalán (2004).

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Etapa 1. Efectos en el desarrollo biológico de larvas y pupas de *S. frugiperda* al consumir dieta artificial con *A. indica*.

#### 4.1.1. Experimento con extractos acuosos de *A. indica*

Cuando las larvas de *S. frugiperda* consumieron dieta con extractos acuosos de *A. indica* en las siguientes dosis 0.4, 0.7, 1 y 4%, hubo 100% de mortalidad. Este efecto es importante ya que puede reducir el número de individuos y/o población de la plaga, debido a la intoxicación por ingestión, lo que concuerda con observaciones realizadas en *Spodoptera littoralis* (Pineda *et al.*, 2004, 2006 y Schneider *et al.*, 2004).

Las larvas alimentadas con dosis al 0.1% y 0.01% de extracto acuoso de *A. indica* mezclada en dieta artificial, sólo mostraron efectos subletales, al durar 3.1 y 3.0 días, respectivamente, más que el testigo en estado larval (Fig. 1), efecto probablemente relacionado con la acción neurotóxica de insecticidas naturales, que causa parálisis en insectos intoxicados (Watson, 2001) y estos dejan de alimentarse y crecen lentamente (Pineda, 2006).

La supervivencia en las diferentes dosis de extractos acuosos de *A. indica* mezclados con dieta artificial fueron similares al testigo, excepto en la concentración 0.04, la cual registró 16.6% menor supervivencia del estado de larva en comparación con las larvas del testigo (figura 2); resultados semejantes a los obtenidos por Villanueva-Jiménez *et al.*, 1999, quienes probaron macerados e infusiones al 5% de 49 plantas y el valor más alto de mortalidad larval de *S. frugiperda* obtenido fue de 21.25% con fruto de *Mangifera indica* a los 7 días; asimismo, López-Olguín *et al.*, 1993 obtuvieron con extractos acuosos de *Ocimum micranthum* (albácar blanca) y *Pimenta dioica* (pimentón) al 5%, porcentajes de mortalidad de larvas de 63.46 y 62.07%.

La supervivencia del estado de pupa fue diferente en todos los tratamientos alimentados con dieta artificial con las diferentes dosis de extractos acuosos de *A. indica*, siendo más notorio en la concentración 0.1% de extracto acuoso al reducir 27.5% su supervivencia con respecto al testigo, datos que concuerdan con Prabhaker y colaboradores (1986) quienes obtuvieron con extractos de semilla de *A. indica* incorporados en dieta artificial al 0.02, 0.2 y 2.0% prolongación del desarrollo e indujeron la mortalidad en todos los estados larvales de *Spodoptera exigua* (Hubner) e impidieron se formaran pupas.

Con respecto al peso de la pupa, todas las dosis fueron diferentes al tratamiento de dieta artificial sin extracto acuoso de *A. indica*, el cual tuvo el mayor peso de pupa. siendo la dosis 0.1% de extracto acuoso la más baja significativamente al disminuir 18.55% en promedio su peso al compararlo con el testigo (Fig. 3), lo que coincide con los datos observados por Prabhaker y colaboradores (1986) en larvas de *Spodoptera exigua* (Hubner) quienes mencionan que su alimentación se redujo y por lo tanto el peso de la pupa (PP) también disminuyó con respecto a las larvas testigo.

#### 4.1.2.- Experimentos con aceite de semilla de *A. indica*

Al analizar la duración del estado de larva los tratamientos con las dosis 0.09, 0.009 y 0.09 de aceite de *A. indica* mezclada en dieta artificial tuvieron 14.6, 9.2 y 15 días más de duración que el testigo, efecto ocasionado por la intoxicación o inhibición para alimentarse con dieta artificial que contiene sustancias desagradables al insecto; reacciones que se han observado en insectos intoxicados (Watson, 2001), los cuales dejan de alimentarse y crecen lentamente (Pineda, 2006).

La duración del estado de pupa entre el testigo y los diferentes tratamientos fue diferente, excepto en el tratamiento 0.002 que fue igual. Sobresaliendo la concentración 0.016 con 2.27 días más de duración, efecto ocasionado tal vez por interferir con el sistema neuroendócrino al controlar la ecdisona y la síntesis de la hormona juvenil (Schmutterer, 1988).

La supervivencia del estado de larva fue reducida en un 95% en la dosis 0.16% y 70% en la dosis 0.09% de aceite de semilla de *A. indica* (Fig. 5) en comparación con la supervivencia del estado de larva en el testigo. La supervivencia del estado de pupa presentó en las dosis 0.16 y 0.09 las reducciones más sobresalientes en la supervivencia de larvas, siendo de 59 y 50.3 % ocasionado también por una intoxicación del insecto (Fig. 6). Efecto tóxico obtenido en el estudio realizado con semillas de cuatro variedades de *Carica papaya* en *Spodoptera frugiperda* por Franco-Archundia *et al.*, (2006).

En cambio el peso de pupa disminuyó en todos los tratamientos de aceite de *A. indica* con respecto al peso de las pupas del testigo, sobresaliendo los tratamientos con las dosis 0.16% y 0.09% de aceite de *A. indica* con 60.9 y 55.17% menor peso (Fig. 6). Esto último podría ser debido a los efectos de la ingestión de dieta artificial con *A. indica*, ya que esto ha sido reportado por diversos investigadores en otras especies

insectiles (Garcia, *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2004; Gaaboub y Hayes 1984; Dorn, 1996; Koul y Ketkar 1990; Shapiro *et al.* 1994).

Los resultados de ambos experimentos (con extracto acuoso y con aceite de semilla) demostraron que los mejores efectos se obtuvieron cuando se utilizaron extractos acuosos que con el aceite de semilla de *A. indica*. Probablemente se deba a que los extractos acuosos presentan otros compuestos secundarios además de la azadiractina (Opende, 2004) y en el aceite de *A. indica* se eliminan cuando se hace la extracción y se desecha el resto de la semilla, o tal vez porque el extracto acuoso puede penetrar o ser ingerido más fácilmente en el cuerpo del insecto que el aceite.

#### **4.2. Etapa 2. Determinación de Índice de crecimiento y medición de cápsula cefálica en larvas de *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial más extractos acuosos de *A. indica*.**

El tratamiento de extracto acuoso de *A. indica* al 1% en éste estudio fue efectivo y ocasionó que solo el 22% de larvas, de una población, llegaran al 5° instar y el tratamiento con 0.7% de extracto acuoso de *A. indica* tuvo el 32% de las larvas en el 6° instar cuando el testigo presentó el 96.7% de pupas. Su índice de crecimiento estuvo en 0.65 y 0.73, para cada una de las dosis, respectivamente. Mientras, que Rebolledo (1992) obtuvo con extracto acuoso al 5% 0.23 de crecimiento en comparación con 0.42 del testigo, una reducción del 45% en larvas de 2° instar de *S. frugiperda*. Se obtuvo una reducción del 35 y 27% en larvas de 1° instar de las dosis 1.0 y 0.7%, las cuales son menores a las dosis probadas por éste autor.

En el experimento de aceite de *A. indica* se observó muy poca variación en el crecimiento de las larvas de *S. frugiperda* al alimentarse con las diferentes dosis de aceite. Esto fue debido a que hubo formación de pupas en todos los tratamientos cuando aproximadamente el 97% de pupas del testigo se habían formado. No obstante, el tratamiento con la concentración 0.5% de aceite de *A. indica* sólo registró el 40% de



pupas y el 45% de larvas en el 6° instar; seguido del tratamiento 0.16% de aceite de *A. indica* con el 58% de pupas y el 23% en prepupa.

Un criterio para diferenciar instares larvales es el ancho de cápsula cefálica (Villa y Catalan, 2004) en el presente estudio las larvas de *S. frugiperda* mostraron diferencias entre ancho de cápsula cefálica, lo cual coincidió con la exuvia cefálica dejada por el cambio de instar.

Muchos estudios de diferenciación de instares de desarrollo concuerdan con el concepto de Dyar que menciona que el área esclerosada de la cápsula cefálica permanece constante durante un mismo instar y hay una progresión geométrica regular de una muda a otra (Hernández Livera *et al.* 2005) en este caso, esta regla es válida aún con los efectos adversos que causa el consumo de *A. indica*, ya que los instares del 1° al 4° estuvieron claramente diferenciados, solamente en el 5° y el 6° las mediciones fueron muy poco diferenciadas .

El consumo de *A. indica* también mostró su efecto en una reducción del tamaño de cápsula cefálica. Los datos del presente estudio demuestran que aunque hubo reducción en el tamaño en larvas que consumieron *A. indica*, si hubo 6 instares larvales. Hay una discrepancia en el porqué en algunas poblaciones de *S. frugiperda* hay 5 instares y en otras llegan a 6 instares. Algunos mencionan como respuesta de los insectos ante factores de estrés, otros mencionan características ecológicas o de adaptación con su entorno, (Nagoshi, *et al.* 2007; Chang, *et al.* 2000) En este caso aunque hubo ingesta de *A. indica*, las larvas bajo estudio completaron los 6 instares larvales; sin embargo, si hubo una reducción de tamaño en el ancho de cápsula cefálica.

## 5. CONCLUSIONES

### 5.1 Conclusiones generales

Los efectos subletales en las larvas de *S. frugiperda* alimentadas con dieta artificial mezcladas con diferentes dosis de extractos acuosos o aceite de *A. indica* se observó en las siguientes formas:

- 1) La duración del estado de larva se alteró al mantenerse por más días las larvas en ésta fase.
- 2) Redujo la supervivencia del estado de larva, debido a que impidió que todas las larvas lograran pupar; es decir, a una parte de la población del insecto les causó la muerte
- 3) Disminuyó el peso de la pupa.

### 5.2 Conclusiones específicas

- 1) La concentración 0.4% de extracto acuoso de *A. indica* y dosis mayores en dieta artificial provocan el 100% de mortalidad en larvas de *S. frugiperda*.
- 2) El tratamiento 0.1% prolongó la duración del estado de larva en 3.2 días, redujo la supervivencia larval en 18% y la supervivencia pupal en 27.5% en comparación con el testigo.
- 3) Hubo un incremento de la duración del estado de larva en hasta de 86.6 y 75.3% cuando se alimentó *S. frugiperda* con dieta artificial más aceite de *A. indica* al 0.16 y 0.09% de concentración y de 21.2 y 12.1% en la duración del estado de pupa para los mismos tratamientos.

4) Las larvas de *S. frugiperda* alimentadas con la dieta artificial mezclada con las más altas dosis de aceite de *A. indica*, prolongaron más la duración del estado de larva y registraron los pesos menores, aproximadamente en un 61% menos del peso que el testigo.

5) Los tratamientos 1.0 y 0.4% de extractos acuosos lograron que las pupas comenzaran a detener su crecimiento, en los instares 5° y 6°, disminuyendo en promedio del 14 al 35%.

6) El tratamiento 0.5% de aceite de *A. indica* registró el 40% de pupas y el 45% de larvas en el 6° instar, y el tratamiento 0.16% con el 58% de pupas y el 23% en prepupa.

## 6. LITERATURA CITADA

Chang , Y.,D.S. Luthe., F.M. Davis and P.W. Williams. 2000. Influence of whorl region from resistant and susceptible corn genotypes on Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) growth and development. J. Econ. Entomol. 93 (2): 477-483.

Dorn, A. 1996. Mode of azadirachtin action in different model systems. 5<sup>th</sup> International Neem Conference. Gatton, Australia. p. 18.

Ferraz, M. C. V. D. 1982. Determinacao das exigencias termicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de milho. Piracicaba. 81 p.

Franco A., S. L., A. Jiménez P., C. Luna L. y R. Figueroa B.2006. Efecto tóxico de semillas de cuatro variedades de *Carica papaya* (Caricaceae) en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Folia Entomológica Mexicana. 45(2): 171-77.

Fuentes T., F. 1992. Extracción y formulación de sustancias insecticidas de la semilla de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). En: Memorias del 4<sup>o</sup>. Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas (MIP). Secretaria de Recursos Naturales. El Zamorano, Honduras. 20-24 de abril de 1992. p. 87.

- Gaaboub, I.A. and D.K. Hayes. 1984. Biological activity of azadirachtin, component of the neem tree inhibiting molting in the face fly *Musca autumnalis* De Geer (Diptera: Muscidae). *Environ. Entomol.* 13 (3): 803-812.
- García, J.F., E.Grisoto., J.D. Veldramim., P.S. Botelho M . 2006. Bioactivity of neem *Azadirachta indica* against spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: cercopidae) on sugarcane. *J. Econ. Entomol.* 99 (6): 2010- 2014.
- Gruber, A. K. 1992. Sustancias activas en la semilla de neem, su toxicidad y probabilidad de crear resistencia en plagas. En: Memorias del 4º. Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas (MIP). Secretaria de Recursos Naturales. El Zamorano, Honduras. 20-24 de abril de 1992. p. 86.
- Hellpap, C. 1984. Effects of neem kernel extracts on the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. In: 2<sup>nd</sup>. Int. Neem Conf., Rawischholzhausen. 1983. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Eschborn, GTZ Press,. pp. 353-63.
- Jacobson, M.; J. B. Stokes; J. D. Warthen Jr.; R. E. Redfern; D. K. Reed; R. E. Webb and L. Telek. 1984. Neem research in the U. S. Department of Agriculture: an up-date. In: 2<sup>th</sup> International Neem Conference. Rauschholzhausen, 1983. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Eschborn, GTZ Press. p. 31-42.
- Hernández-Livera, R.A., C. Llanderal-Cázares., L-E- Castillo-Márquez., J. Valdez-Carrasco y R. Nieto-Hernández. 2005 . Identificación de instares larvales de *Comadia redtenba cheri* (HAMM) (Lepidoptera: Cossidae). *Agrociencia* 39: 539-544.
- Lannacone,O., J.A. e I. Murrugarra B. 2002. Efecto del nim y rotenona en las poblaciones de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) y en dos especies de áfidos (Homoptera: Aphididae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú. *Folia Entomol. Mex.* 41(2): 119-128.
- Klocke, J. A. and I. Kubo. 1982. Citrus limonoid by-products as insect control agents. *Ent. Exp. y appl. Amsterdam*, 32: 299-301.

- Koul, O.; M.B. Isman; C.M. Ketkar. 1990. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Canadian Journal of Botany, Ottawa. 68(1): 1-11.
- Li, S.Y. 2000. Larval susceptibility of balsam fir sawfly (Hymenoptera: Diprionidae) to neem. Proc. Entomol. Soc. Ont. 131: 139-143.
- López O., J.F., G. A. Aragón y A. Lagunes T. 1993. Evaluación de extractos acuosos vegetales contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible. CEICEDAR. Puebla, Pue. México. Pp. 239-43.
- Mitchell, P., L., R. Gupta., A.K., Singh., P. Kumar. 2004. Behavioral and developmental effects of neem extracts on *Clavigralia scutellaris* (Hemiptera: Heteroptera: Coreidae) and its parasitoid *Gryon fulviventre* (Hymenoptera: Scelionidae). J. Econ. Entomol. 97 (3): 916-923.
- Mordue (Luntz), A.J., M.S.J. Simmonds, S.V. Ley, W. M. Blaney, W. Mordue, M. Nasiruddin and A. J. Nisbet. 1998. Action of Azadirachtin, a plant allelochemical against insect. Pesticide Sci. 54: 87-92.
- Mulla, M. S. and T. Su. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. Journal of the American Mosquito Control Association. 15: 133-152.
- Nagoshi, R. N., P. Silvie., R.L. Meagher., J. D. Lopez and V. Machado. 2007. Identification and comparison of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil , Texas and Florida. Ann of Entom. Soc. of Am. 100 (3): 394-402.
- Opende, K. 2004. Biological activity of volatile Di-n-propyl disulfide from seeds of neem *Azadirachta indica* (Meliaceae) to two species of stored grain pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) J. Econ. Entomol. 97(3): 1142-1147.
- Pineda S., F. Budia, M. I. Schneider, A. Gobbi, E. Viñuela, J. Valle y P. Del Estal. 2004. Effect of two biorational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 97: 1906-11.

- Pineda S., G. Smagghe, M. I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, A. M. Martínez y F. Budia. 2006. Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 35: 856-64.
- Prabhaker, N.; D. L. Coudriet; A. N. Kishaba and D. E. Meyerdirk. 1986. Laboratory Evaluation of Neem-seed Extract Against Larvae of the Cabbage Looper and Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 39-41.
- Rebolledo I., A. J. 1992. Evaluación de la acción de extractos acuosos vegetales a través de índices nutricionales en larvas de segundo instar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 45 pp.
- SAS, Institute, 2002. SAS Sistem user' s guide for personal computers , version 9.1 windows XP pro platform. SAS Institute, Cary N.C.
- Saxena, R. C. 1988. Antifeedants in Tropical pest management. *Insect Science and its Application.* 8: 731-6.
- Schmutterer, H. 1988. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.* 34: 713-9.
- Schmutterer, H. 1995. The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. and Other Meliaceous Plants. VHC Publishers Inc., New York, NY. USA. 695 p.
- Schmutterer, H. and H. Rembold, 1995. Reproduction, pp. 195-203. In: H. Schmutterer (ed). *The Neem Tree* VCH. Weinheim, Germany.
- Schneider M., G. Smagghe, S. Pineda y E. Viñuela. 2004. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *Biol. Control* 31: 189-98.
- Shapiro, M.; J. L. Robertson and R. E. Webb. 1994. Effect of Neem Seed Extract upon the Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its Nuclear Polyhedrosis Virus. *J. Econ. Entomol.* 87: 356-60.
- Villa Castorena M. M., y E. A. Catalán Valencia. 2004. Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción . *Folia Entomol. Mex.* 43 (3): 307-312.

- Villanueva J., J. A., J. C. Rodríguez M. y A. Lagunes T. 1999. Extractos acuosos de frutos vegetales sobre larvas del primer instar de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). V. Simposio Nacional sobre substancias vegetales y minerales en el combate de plagas. Aguascalientes, Ags. México. Pp. 71.3.
- Vogt, H. and E. Viñuela, 2001. Effect of Pesticides., pp 357-365. *In*: P. McEwen, T.R. New., A.E. Whittington (eds). Lacewing in the crop environment. Cambridge University Press. Cambridge, U.K. pp.
- Watson, G. B. 2001. Action of insecticidal spinosyns on aminobutyric acid receptors from small-diameter cockroach neurones. *Pestic. Biochem. Physiol.* 71: 20-8.
- Zhang, L.; K.Chaudhuri and I. Kubo. 1993. Quantification of insect growth and its use in screening of naturally occurring insect control agent. *Journal of chemical Ecology*, New York, 19: 1109-18.

### III. EFECTO DE *A. indica* (A. Juss) EN EL METABOLISMO DE LARVAS DE *S. frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

#### EFFECT OF *A. indica* IN THE METABOLISM OF LARVAE DE *S. frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).

#### RESUMEN

Se realizó un estudio de laboratorio con el objetivo de determinar y cuantificar el efecto del consumo de *Azadirachta indica* en el metabolismo de *S. frugiperda* (Smith). Fueron evaluados larvas de *S. frugiperda* con dieta artificial con dosis en extractos acuosos y dosis en aceite de *Azadirachta indica*. Las dosis de extracto acuosos con *A. indica* fueron: 0.1, 0.07, 0.04 y 0.01 g, mientras que las dosis de *A. indica* en aceite fueron: 0.16, 0.09, 0.02, 0.016 y 0.009 ml. En cada tratamiento se utilizaron 60 larvas de primer instar, colocados individualmente en tubos de vidrio. Las variables cuantificadas fueron: duración de la fase larval, consumo de dieta artificial, peso de larvas, peso de excretas, tasas relativas de consumo, de crecimiento y de metabolismo, digestibilidad aparente, eficiencia de conversión de alimento ingerido y digerido, costo metabólico, estas variables fueron evaluadas tanto en extractos acuosos como en aceite de *A. indica*. La duración larval se prolongó más en extractos acuosos, que en los tratamientos con aceite de *A. indica* así como el peso de excretas. El consumo de dieta y el peso de la larva se redujo más en los tratamientos con aceite que en los extractos acuosos. Las larvas duraron más en esa etapa de desarrollo pero no consumieron más ni incrementaron su crecimiento; fueron más pequeñas que las larvas del testigo. Las tasas relativas de consumo, crecimiento y metabólica fueron menores para las larvas alimentadas en dieta con extractos acuosos de *A. indica*, en comparación con las larvas con aceite de *A. indica*. Hubo reducción de la alimentación. Las larvas al reducir su crecimiento, tardaron más tiempo en obtener su peso y tamaño normal. El costo metabólico fue mayor porque gran parte del gasto de energía lo utilizaron en la eliminación de los productos químicos que le causaban intoxicación o modificaron las funciones fisiológicas de su organismo.

Palabras clave: digestibilidad aparente, costo metabólico, *A. indica* extractos acuosos, *A. indica* aceite, tasa relativa de crecimiento.



## SUMMARY

A laboratory study was done to quantify the effect of the consumption of *Azadirachta indica* in the metabolism of *S. frugiperda* (Smith). Larvae of *S. frugiperda* were evaluated with artificial diet with dose in watery extracts and dose in oil of *Azadirachta indica*. The watery doses of extract with *A. indica* were: 0.1, 0,07, 0,04 and 0,01 g, whereas the doses of *A. indica* in oil were: 0.16, 0,09, 0,02, 0,016 and 0,009 ml. In each treatment 60 larvae of first instar were used, placed individually in glass tubes. The quantified variables were: duration of the larval phase, consumption of artificial diet, weight of larvae, weight of you excrete, relative rates of consumption, growth and of metabolism, apparent digestibility, efficiency of ingested and digested food conversion, metabolic cost, these variables were evaluated so much in watery extracts as in oil of *A. indica*. The larval duration extended more in watery extracts, that in the treatments with oil of *A. indica* as well as the weight of you excrete. The consumption of diet and the weight of the larva more in the treatments with oil was reduced that in the watery extracts. The larvae lasted more in that stage of development but they did not consume more nor they increased its growth; they were smaller than the larvae of the witness. The relative rates of consumption, metabolic growth and were smaller for the larvae fed in diet with watery extracts of *A. indica*, in comparison with the larvae with oil of *A. indica*. There was reduction of the feeding. The larvae when reducing their growth, took more time in obtaining their weight and normal size. The metabolic cost was greater because great part of the cost of used it to energy in the elimination of the chemical agents that caused poisoning to him or modified the physiological functions of their organism.

**Key words:** apparent digestibility, metabolic cost, *A. indica* watery extracts, *A. indica* oil, relative rate of growth.

## 1. INTRODUCCION

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) es una de las más importantes plagas del maíz *Zea mays* L. en el continente americano (Steffey *et al.* 1999). En México existen zonas agrícolas donde es la principal plaga del maíz (Sifuentes, 1985).

La actividad biológica de extractos de semilla y follaje del Nim *Azadirachta indica* ha sido ampliamente estudiada en diversas especies de insectos de importancia económica, sobre todo para efectos toxicológicos, tanto en plagas (Koul, et al., 2004; Van Randen y Roitberg, 1998; Li, et al., 2003; Nathan, et al., 2007) benéficas y agentes de control biológico (Melathopoulos, et al. 2000; Medina, et al. 2004; Charleston, et al. 2006).

Diversos estudios han sido desarrollados para determinar los efectos subletales de *A. indica* (Showler, et al. 2004), como la inhibición de la alimentación, interrupción en la reproducción y en el desarrollo (Nathan, 2006; Walter, 1999), interferencia en la movilidad y reproducción de varias especies de insectos (Koul et al., 1987; Weathersbee y Tang, 2002; Hablumentzel, et al., 2007).

Para el caso de gusano cogollero se han realizado estudios para conocer la tasa de consumo de alimento con *A. indica* (Rebolledo (1992) sin embargo no han sido desarrollados trabajos de manera integral que cuantifiquen los efectos de *A. indica* en el metabolismo de este insecto plaga. Esto toma importancia por la utilización cada vez mayor del *A. indica* como agente para el control de poblaciones insectiles. Considerando esta falta de información específica acerca del efecto del *A. indica* en larvas de gusano cogollero, se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar y cuantificar el efecto del consumo de *A. indica* en el metabolismo de *S. frugiperda* (Smith).

## **2. MATERIALES Y METODOS**

Para la realización del experimento se obtuvieron larvas de primer ínstar de *S. frugiperda* de la cría masiva de insectos que mantiene el Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo, en el laboratorio de entomología.

Para obtener el extracto acuoso de *A. indica* necesario para realizar los experimentos, se obtuvo semilla molida de *A. indica*, de una plantación del Municipio de San Pedro Tututepec, en la Costa de Oaxaca. En tanto que el aceite de *A. indica* utilizado contra

*S. frugiperda* fue NEEM OIL EXTRACT® al 93% de aceite de la semilla, con una concentración de azadiractina de 0.4463% (4,463 ppm).

## **2.1 Preparación de los extractos acuosos y soluciones de aceite de *A. indica***

Para elaborar las dosis de extractos acuosos, la semilla molida de *A. indica* a 0.1, 0.07, 0.04 y 0.01 g, se mezcló en forma individual en 100 ml de agua para obtener un total de 4 extractos acuosos más un testigo con sólo agua (sin semilla de *A. indica*). Los extractos acuosos se prepararon 24 horas antes de la elaboración de la dieta y se mantuvieron en frascos opacos. Después de éste período se separó la parte sólida de la líquida, filtrándolo con una coladera y se mezcló con la dieta elaborada para cada tratamiento. Asimismo, para obtener las dosis de *A. indica* en aceite, en el experimento de *A. indica* se calcularon las dosis: 0.16, 0.09, 0.02, 0.016 y 0.009 ml las cuales fueron mezcladas y aforadas en 100 ml de agua, para obtener un total de 5 soluciones, más un testigo con sólo agua (sin aceite). El aceite de *A. indica* se midió con una Micropipeta Pipetman de 200 µl Marca Wilson (Francia). La elaboración de las mezclas se realizó 20 minutos antes de iniciar la preparación de la dieta artificial.

En cada tratamiento se utilizaron 60 larvas de primer instar, se colocaron individualmente en tubos de vidrio con capacidad de 5 x 1.5 cm de diámetro. A cada larva se le registró el peso antes y después de incorporada la dieta. Cuando las larvas obtuvieron su máximo desarrollo, se retiraron de los tubos, se volvieron a pesar y se congelaron. Las heces se separaron de la dieta sobrante. Después las larvas, heces y dieta sobrante fueron colocadas en la estufa a temperatura de  $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ , para completar la deshidratación, siendo ahí mantenidas hasta obtener el peso constante; posteriormente fueron cuantificados sus respectivos pesos secos.

Paralelamente se separó una alícuota compuesta por 20 tubos, con dieta y sin larvas, para cada tratamiento. Esta muestra, se utilizó para la corrección de la unidad perdida en el tratamiento, se pesaron y deshidrataron del mismo modo que en los tratamientos. Así, con los pesos fresco y seco de la dieta correspondiente de la alícuota, se calculó el

factor de corrección, que permitió estimar el peso seco inicial de la dieta usada en los tratamientos. Debido a que el peso inicial de la larva era insignificante, no se consideró, por lo que sólo se registró el peso del insecto al final del período de alimentación, para la determinación de ganancia de peso. De esta manera, se obtuvieron los datos de duración del período de alimentación (T), peso del alimento ofrecido al insecto (Af), peso del alimento restante (Ar), peso de las heces (F), ganancia de peso de las larvas (B), peso medio de las larvas (C), peso del alimento ingerido (I), alimento asimilado (I-F), y alimento metabolizado ( $M = (I-F) - B$ ).

Los parámetros Ar, F, B, C, I e I-F se consideraron durante el período de alimentación (T), siendo la duración expresada en días y el peso en gramos. Con base en estos datos, se calcularon siguiendo la metodología propuesta por Scriber y Slansky Jr. (1981): la tasa de consumo relativo (TRCo), la tasa metabólica relativa (TRM) y la tasa de crecimiento relativo (TRCr), así como la eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECI) y digerido (ECD), la digestibilidad aproximada (DA) y el costo metabólico (CM), mediante las siguientes ecuaciones:  $TRCo = I / (C \times T)$ ,  $TRM = M / (C \times T)$ ,  $TRCr = B / (C \times T)$ ,  $ECI = (B / I) \times 100$ ,  $ECD = (B - I - F) / (I - F) \times 100$ ,  $DA = (I - F) / I \times 100$  y  $MC = 100 - ECD$ . Las larvas con su alimento fueron confinadas en una cámara de crecimiento con temperatura controlada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , HR:  $60 \pm 10\%$ .

De las mediciones realizadas a cada 5 larvas fue obtenido un promedio, cada tratamiento tuvo 20 repeticiones, por lo que fueron cuantificadas en todo el experimento 100 larvas por cada tratamiento. No se incluyeron los tratamientos con viabilidad inferior al 10%. Los datos fueron analizados mediante regresión con el PROC GLM de SAS (SAS. Institute, 1998) analizando previamente diversos modelos de regresión para elegir el más adecuado para cuantificar los datos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Índices nutricionales en larvas de *S. frugiperda* sometidas a 4 dosis de extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

La duración de la fase larval (Cuadro 5) se incrementó 5.36 días en el tratamiento 0.07% de extracto acuoso y de 2.56 días para el tratamiento 0.04% de extracto, al compararlos con el testigo. En cambio, en los tratamientos 0.1 y 0.01% de extracto acuoso la duración larval fue similar.

Cuadro 5. Duración de la fase larval de *S. frugiperda* en dieta artificial con extractos de semilla de *A. indica* a diferentes dosis.

Tratamiento (%)	Duración (días)*	Ecuación de Regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
0.1	23.52	$Y = 220.953 + 246.87x - 2169.4x^2$	0.8112	0.1261285
0.07	28.88			
0.04	26.08			
0.01	23.63			
Testigo	23.52			

\*Se refiere a duración de la fase larval.

El modelo más adecuado para expresar la relación de regresión fue el cuadrático, con este modelo fueron analizadas las variables cuantificadas. En la relación entre las dosis evaluadas y la duración de larvas, por cada unidad de aumento en la dosis de *A. indica*, se incrementa en 246.87 la duración del periodo larval, aunque después hay una disminución de 216.9. Aunque el coeficiente de determinación es alto, lo cual refleja que el 81.12% de los datos son explicados por la regresión y el resto es error experimental, la correlación tiene un bajo nivel de estrechez (Cuadro 5).

El consumo de la dieta artificial disminuyó 179.6 mg en el tratamiento 0.1% de extracto acuoso. Para los tratamientos 0.07 y 0.04% de extracto la reducción del consumo de

dieta osciló de 71.9 a 96.8 mg menos que el testigo. En tanto, que el tratamiento 0.01% de extracto fue estadísticamente igual al testigo, a pesar de haber consumido 47.4 mg más de dieta que el testigo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Consumo de dieta artificial con extractos de semilla de *A. indica* a diferentes dosis, por parte de *S. frugiperda*.

Tratamiento (%)	Consumo de dieta (mg)	Ecuación de Regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
0.1	619.8	$Y = 522.23 + 115.02x - 14.575x^2$	0.9833	-0.9473394
0.07	702.6			
0.04	727.5			
0.01	752.0			
Testigo	799.4			

\*Se refiere a duración de la fase larval.

La estrechez de la relación de regresión entre las dosis de *A. indica* y el consumo de dieta artificial es alta, esto confirma que las dosis de *A. indica* si influyen en el consumo de dieta. Por cada unidad de incremento en los tratamientos, hay un aumento inicial de 115 .02 mg de dieta artificial, para luego haber una disminución de 14.575 mg. El aumento en el consumo de dieta es explicado por el desarrollo de las larvas y su necesidad de alimentarse. Sin embargo llega un momento en que va disminuyendo su consumo de la dieta artificial (Cuadro 6).

Con respecto al peso de la larva (Cuadro 7), los tratamientos 0.1 y 0.07% de extracto acuoso fueron diferentes al testigo. Ambos experimentos tuvieron una reducción del 19.3 y 16.5 mg, respectivamente. En los 2 tratamientos restantes del extracto acuoso no presentaron diferencias en comparación con el testigo.

Cuadro 7. Peso de larvas de *S. frugiperda* en dieta artificial con extractos de semilla de *A. indica* a diferentes dosis.

Tratamiento (%)	Peso de la larva (mg)	Ecuación de Regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
0.1	76.8	$y = 71.2 + 5.04x - 13.0x^2$	0.9529	-0.97618
0.07	79.6			
0.04	88.0			
0.01	90.8			
Testigo	96.1			

También en el caso de los tratamientos y el peso de larvas la relación de regresión es muy estrecha y en un alto porcentaje de los datos (95.29) explicada por regresión. Por cada unidad de aumento en los tratamientos con *A. indica* hay un incremento inicial de 5.04 mg en el peso de larvas para luego cambiar a una disminución de 13.0 mg en el peso de larvas (Cuadro 7).

El peso de las excretas (Cuadro 8) se redujo 130.9 y 82.7 mg en los tratamientos 0.1 y 0.07% de extractos acuosos. Mientras que el tratamiento 0.01% de extracto acuoso fue el más parecido al testigo.

Cuadro 8. Peso de excretas de *S. frugiperda* en dieta artificial con extractos de semilla de *A. indica* a diferentes dosis.

Tratamiento (%)	Peso de excretas (mg)	Ecuación de Regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
0.1	472.9	$Y = 410.28 + 73.215x - 9.625x^2$	0.9947	-0.94733
0.07	521.1			
0.04	540.4			
0.01	550.1			
Testigo	603.8			

El valor de la pendiente en la ecuación de regresión cuadrática para el peso de excretas, refleja la misma tendencia mostrada en el peso de larvas y consumo de dieta. También en este caso la relación de regresión es muy estrecha (Cuadro 8).

Los datos obtenidos demostraron que aunque las larvas que se alimentaron con dieta mezclada con semilla de *A. indica* duraron más días, consumieron 22.5% menos dieta; además, su peso fue menor hasta en un 20% con respecto al testigo y la eliminación de excretas se reduce en aproximadamente un 22% en el tratamiento 0.1% de extracto acuoso a diferencia del testigo.

Por otro lado la Tasa Relativa de Crecimiento (TRCr) registró una leve disminución en las larvas tratadas con extractos acuosos de semilla de *A. indica*; siendo más notorio en los tratamientos 0.07 y 0.04% con 0.009 y 0.005/mg/día, respecto al testigo en tanto que la Tasa Relativa de Consumo (TRCo), que es el total del alimento consumido, (Cuadro 9), también mostró una reducción en los tratamientos con semilla de *A. indica* desde 0.005 a 0.032 mg/día. El análisis de regresión muestra cierta estrechez en esta relación e indica que por cada unidad de incremento en las dosis de *A. indica* hubo disminución de 1.835 en la tasa de consumo para luego incrementarse en 14.167 (Cuadro 10).

Cuadro 9. Tasas relativas (mg/mg/día) de consumo (TRCo), crecimiento (TRCr) y metabolismo (TRM) de larvas de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con extractos de semilla de *A. indica*.

Tratamiento (%)	TRCr	TRCo	TRM
0.1	0.040	0.324	0.036
0.07	0.034	0.311	0.197
0.04	0.038	0.313	0.043
0.01	0.042	0.351	0.052
Testigo	0.043	0.356	0.044



Cuadro 10. Valores de regresión de las dosis evaluadas y las variables: Tasas relativas (mg/mg/día) de consumo (TRCo), crecimiento (TRCr) y metabolismo (TRM)

Variable	Ecuación de regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
Tasa de crecimiento	$y = 0.0456 - 0.3389x + 2.7778x^2$	0.8571	-0.377964
Tasa de consumo	$y = 0.3669 - 1.835x + 14.167x^2$	0.9783	-0.582044
Tasa de metabolismo	$y = -0.0177 + 4.9978x - 42.222x^2$	0.3568	0.17784

En el Cuadro 9 se presentan los valores promedio de la tasa relativa metabólica, obteniéndose en el tratamiento 0.04% un valor similar al testigo y mayor en los tratamientos 0.07 y 0.01% de extracto acuoso de semilla de *A. indica*. No obstante, el tratamiento 0.1% que fue la mayor dosis redujo su tasa metabólica en 0.008 mg/mg/día en comparación con el testigo. Valores del análisis de regresión son mostrados en el Cuadro 6 para las tasas de consumo, de crecimiento y de metabolismo.

La relación de regresión entre las dosis de *A. indica* y la tasa de consumo fueron las que mejor se ajustaron al modelo cuadrático, de acuerdo con sus coeficientes de determinación y de regresión. Sin embargo para el caso de la relación entre tratamientos con *A. indica* y la tasa de metabolismo la ecuación de regresión indica una tendencia en la que por cada unidad de incremento de los tratamientos de *A. indica*, se incrementa en 4.9978 la tasa inicial de metabolismo, para luego caer en 42.22 (Cuadro 10), aunque no hay estrechez en la relación de regresión, esta tendencia coincide con los resultados de las variables: peso de excretas, peso de larvas y consumo de dieta.

Cuadro 11. Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de *S. frugiperda* alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de *A. indica* a diferentes dosis.

Tratamiento (%)	DA (%)	ECI (%)	ECD (%)	CM (%)
0.1	24.64	13.00	55.17	44.81
0.07	26.22	11.78	52.43	47.55
0.04	26.10	12.53	49.20	50.78
0.01	27.22	12.33	47.66	52.33
Testigo	24.74	12.35	52.46	47.52

En la Digestibilidad Aparente (DA) (Cuadro 11), la cual representa el porcentaje de alimento ingerido que es efectivamente asimilado por el insecto el tratamiento 0.01% de extracto acuoso, aparentemente tuvo una mejor digestibilidad (2.48%) que el testigo, mientras que el tratamiento 0.1% de extracto acuoso presentó la menor digestibilidad (Cuadro 11). En esta variable la ecuación de regresión indica que cuando aumentan las dosis de *A. indica* hay una disminución en la digestibilidad aparente que en principio es moderada, pero que después se incrementa (Cuadro 12).

Cuadro 12. Valores de regresión de: Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de *S. frugiperda* alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de *A. indica*.

Variable	Ecuación de regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
Digestibilidad aparente	$y = 27.199 - 11.344x - 127.78x^2$	.8724	-.92565
Conv de alimento ingerido ECI	$y = 12.717 - 26.967x + 283.33x^2$	.4433	.321956
Conv de alimento digerido ECD	$y = 47.026 + 49.2x + 333.33x^2$	.993	.991113
Costo metabólico CM	$y = 52.968 - 49.606x - 330.56x^2$	.991	-.99125

Al revisar la tasa de conversión de alimento ingerido (ECI) y digerido (ECD) el tratamiento 0.1% de extracto acuoso ingirió 5.3% más alimento que el testigo; y el tratamiento 0.07% de extracto acuoso redujo 4.6% la ingestión de dieta. En contraste, el tratamiento 0.1% de extracto acuoso digirió 5.2% más comida que las larvas testigo. Esto indica una reducción en la eficiencia de digestión por parte del tratamiento 0.01% (Cuadro 11). En la conversión de alimento digerido, la regresión cuadrática indica que por cada unidad de incremento en los tratamientos con *A. indica*, hubo un incremento inicial de 49.2 en esta tasa, para luego incrementarse en 333.33. Estas tasas ECI y ECD representan el porcentaje de alimento ingerido y digerido que es transformado a biomasa.

En cambio, el costo metabólico al evaluar estos tratamientos de *A. indica* aceite disminuyó en 49.606 por cada unidad de incremento en los tratamientos de *A. indica*, pero luego esa disminución fue sustancialmente mayor en 330.56 (Cuadro 12).

### **3.2 Índices nutricionales en larvas de *S. frugiperda* alimentadas con 5 dosis de aceite de *A. indica***

En general, la respuesta de las larvas de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta mezclada con aceite de *A. indica*, (Cuadros 13 y 14) fue una prolongación de la fase larval de aproximadamente 4.18 a 4.72 días en comparación con los 17.61 registrados por el testigo. El mayor consumo de alimento se tuvo en las larvas testigo, que consumieron 756.8 mg, en promedio más de alimento. Destacando el tratamiento 0.009% de aceite de *A. indica* al reducir 216.9 mg su consumo con relación al control. El tratamiento 0.016 resultó el menos afectado que el resto de las dosis de aceite de *A. indica*, al reducir solamente 167.7 mg el consumo de dieta.

El mayor peso de las larvas (Cuadro 13), lo registró el testigo (96.9 mg), en tanto que todas las larvas alimentadas con los tratamientos de aceite de *A. indica* redujeron su peso, siendo más notable el tratamiento 0.16 que pesó 47.3 mg menos en promedio, que el testigo; mientras que el tratamiento 0.02% de aceite de *A. indica* disminuyó 35.5

mg. Con respecto, al peso de excretas el mayor registro lo tuvo el testigo (535.5 mg), y disminuyó en el tratamiento 0.009% de aceite de *A. indica* 135.9 mg; y en el tratamiento 0.09% de aceite de *A. indica* 97.7 mg, siendo el resultado más cercano al testigo.

Con base a los datos obtenidos en el Cuadro 13 se observó que las larvas alimentadas con éste aceite redujeron el consumo de la dieta hasta un 28.7%, el peso de la larva en 48.8% y la eliminación de excretas en un 25.4% al compararse con los datos del testigo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Duración de la fase larval, dieta consumida, peso de la larva en su máximo desarrollo y excretas producidas por *S. frugiperda* en dieta artificial con diferentes dosis de aceite de *A. indica*.

Tratamiento (%)	Duración (días)*	Consumo de dieta (mg)	Peso de la larva (mg)	Peso de excretas (mg)
0.16	21.93	554.2	49.6	434.0
0.09	21.83	573.5	56.2	437.8
0.02	21.79	586.0	61.4	417.0
0.016	21.98	589.1	60.4	428.3
0.009	22.33	539.9	55.6	399.6
Testigo	17.61	756.8	96.9	535.5

En general, al comparar estas variables con *A. indica* en aceite contra las mismas variables con extractos acuosos, se observa mayor estrechez en la relación de regresión en los extractos acuosos (Cuadro 14). Las ecuaciones de regresión cuadrática de los tratamientos de *A. indica* contra: consumo de dieta, peso de larva y peso de excretas, mostraron que por cada unidad de incremento de los tratamientos con *A. indica*, hubo un incremento inicial en la variable dependiente, para luego caer en una reducción en los valores de esas variables (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores de regresión de: Duración de la fase larval, dieta consumida, peso de la larva en su máximo desarrollo y excretas producidas por larvas de *S. frugiperda* en dieta artificial con diferentes dosis de aceite de *A. indica*.

Variable	Ecuación de regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
Duración en días	$Y = 22.17 - 8.6954x + 45.727x^2$	0.3753	-.354205
Consumo de dieta	$Y = 562.82 + 536.61x - 3765.8x^2$	0.2406	-.25941
Peso de la larva	$Y = 58.483 + 38.404x - 596.61x^2$	0.7853	-.8349
Peso de excretas	$y = 405.49 + 635.14x - 2880.8x^2$	0.669	.68862

En el Cuadro 15 la Tasa Relativa de Crecimiento (TRCr), quien representa la ganancia (mg) de biomasa por día del insecto en relación con su peso mg, disminuyó en todos los tratamientos con aceite de *A. indica*; es decir las larvas del testigo crecieron 20% más que las de los tratamientos con aceite de *A. indica*, por lo que la mayor prolongación del estado larval se relaciona con el menor índice de crecimiento del insecto. El tratamiento 0.009 creció 0.012 menos que el testigo, mientras que los demás tratamientos, tuvieron el mismo resultado y disminuyeron 0.011 su crecimiento en comparación con el testigo.

Con respecto a la Tasa Relativa de Consumo (TRCo) (Cuadro 15), que indica la cantidad (mg) de alimento ingerido por día por mg de peso del insecto, el cual se relaciona directamente con el total del alimento consumido, hubo un mayor consumo en los cinco tratamientos con aceite de *A. indica* de 0.004 a 0.075 mg/mg/día, en comparación con el testigo a excepción del tratamiento 0.009% en donde disminuyó 0.017 mg respecto a las larvas control. En cambio, el mejor consumo lo obtuvo el tratamiento 0.16% de aceite con 17.2% más con referencia al testigo (Cuadro 15).

Cuadro 15. Tasas relativas (mg/mmg/día) , de crecimiento (TRCr), de consumo (TRCo) y metabolismo (TRM) en larvas de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Tratamiento (%)	TRCr	TRCo	TRM
0.16	0.045	0.510	0.064
0.09	0.045	0.467	0.064
0.02	0.045	0.439	0.080
0.016	0.045	0.443	0.073
0.009	0.044	0.418	0.067
Testigo	0.056	0.435	0.071

Cuadro 16. Valores de regresión de: Tasas relativas (mg/mmg/día) de: crecimiento (TRCr), de consumo (TRCo) y metabolismo (TRM) en larvas de *S. frugiperda*, alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Variable	Ecuación de regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
T.R. de crecimiento	$Y = 0.0444 + 0.0138x - 0.0659x^2$	0.3013	0.42834
T.R. de consumo	$Y = 0.4258 + 0.4487x + 0.4544x^2$	0.9465	0.972401
T.R. metabolismo	$Y = 0.0746 + 0.3396x^2 - 0.1241x$	0.4315	-0.646753

De este grupo de variables presentadas en los Cuadros 15 y 16, la tasa relativa de consumo mostró una relación de regresión mas estrecha, indicando que por cada unidad de incremento en la dosis de *A. indica*, la tasa de consumo sufrió un incremento muy sostenido en todo momento (Cuadro 16).

En cuanto a la tasa relativa de metabolismo TRM (Cuadro 15) el mayor gasto metabólico fue en los tratamientos 0.02 y 0.16% de aceite de *A. indica*, con 0.009 mg/mg/día, con relación al testigo. El resto de los tratamientos fueron menores en

aproximadamente 0.007 mg/mg/día que las larvas control. Esta tasa relativa de metabolismo, indica la cantidad (mg) de alimento gastado en metabolismo por día por mg de peso del insecto.

La Digestibilidad Aparente (DA) (Cuadro 17) que representa el porcentaje de alimento ingerido que es efectivamente asimilado por el insecto, fue mayor en el testigo y en el tratamiento 0.02% de aceite de *A. indica*; mientras que en el resto de los tratamientos osciló entre 21 y 27% sobresaliendo el tratamiento 0.16% de aceite de *A. indica* con 24.9% menos de digestibilidad aparente en referencia al testigo. En cambio, el tratamiento 0.016% de aceite solo disminuyó 6.6% la digestibilidad (Cuadro 17). La tendencia de la ecuación de regresión indica que por cada unidad de incremento en los tratamientos de *A. indica* hubo una disminución inicial en la digestibilidad aparente de 45.216 pero después hubo un incremento de 34.68 (Cuadro 16).

En cuanto a la eficiencia de conversión del alimento Ingerido (ECI) (Cuadro 17), se puede apreciar que todos los tratamientos con aceite de *A. indica* redujeron su conversión de alimento ingerido. El tratamiento 0.16% de aceite disminuyó 29.8% su conversión de alimento ingerido, y el menos afectado fue el tratamiento 0.09% de aceite con 16.8% (Cuadros 17 y 18).

Cuadro 17. Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de *S. frugiperda* alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica* a diferentes dosis.

Tratamiento (%)	DA (%)	ECI (%)	ECD (%)	CM (%)
0.16	21.7	9.2	44.9	55.0
0.09	23.7	10.0	43.7	56.2
0.02	28.8	10.5	38.3	61.5
0.016	27.0	10.2	40.2	59.7
0.009	26.3	10.9	45.2	54.8
Testigo	28.9	13.1	50.2	49.7

En el mismo Cuadro 17, se aprecia la Eficiencia de Conversión de alimento Digerido (ECD); en este caso el tratamiento 0.02% de aceite de *A. indica* disminuyó la ECD en 23.7%, siendo el menos afectado el tratamiento 0.009% de aceite con 9.9% en comparación con el valor obtenido por el testigo.

Cuadro 18. Valores de regresión de: Digestibilidad aparente (DA), Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECI) y Digerido (ECD) y Costo Metabólico (CM) de larvas de *S. frugiperda* alimentadas en dieta artificial con aceite de *A. indica*.

Variable	Ecuación de Regresión	Coefficiente de Determinación	Correlación
Digestibilidad aparente DA	$y = 27.929 - 45.216x + 34.683x^2$	.8456	-.919123
Eficiencia de conversión de alimento ingerido ECI	$y = 10.653 - 6.6801x - 14.3x^2$	.8654	-.92880
Eficiencia de conversión de alimento digerido ECD	$y = 41.49 - 1.754x + 155.8x^2$	.2744	.5102
Costo metabólico CM	$y = 58.433 + 0.5568x - 148.92x^2$	.2850	-.5211

En el mismo Cuadro 18, de acuerdo a su recta de regresión, se observa que los insectos alimentados con la dieta artificial mezclada con aceite de *A. indica* tuvieron un incremento inicial en su costo metabólico para después tener una reducción de ese costo (Cuadro 18), gastaron más alimento digerido para cubrir su costo metabólico (CM), hasta en un 23.7% más (tratamiento 0.02% de aceite de *A. indica*) que el testigo (Cuadro 19), lo que resulta en una menor ganancia de biomasa por unidad de alimento digerido, que corresponde a la ECD obtenida por ellos. Todos los tratamientos con aceite de *A. indica* tuvieron un mayor costo metabólico, resultando menos afectado el



tratamiento 0.009% de aceite de *A. indica* con 10.3% más de gasto metabólico, en comparación con el testigo.

#### 4. DISCUSION

La duración larval se prolongó más en los tratamientos con extractos acuosos, que en los tratamientos con aceite de *A. indica* así como el peso de excretas. No obstante, que el consumo de dieta y el peso de la larva se redujo más en los tratamientos con aceite que en los extractos acuosos, debido a que presentó 216.9 mg menos de consumo de alimento que el testigo y una disminución del peso larval hasta de 41.3 mg en el tratamiento 0.009% de aceite de *A. indica*. Los resultados de éste experimento, demostraron que aunque las larvas prolongaron su duración en esa etapa de desarrollo, no consumieron más ni incrementaron su crecimiento, por el contrario, fueron más pequeñas que las larvas del testigo, esta misma conclusión ha sido reportada por Weathersbee y Tang (2002) en el curculionido *Diaprepes abbreviatus*.

Las tasas relativas de consumo, crecimiento y metabólica fueron menores para las larvas alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de *A. indica*, en comparación con las larvas con aceite de *A. indica*, observándose en ambos experimentos la reducción de la alimentación y como consecuencia las larvas fueron de menor tamaño que las del testigo. Por lo anterior, se puede afirmar que las larvas al reducir su crecimiento, tardarán más tiempo en obtener su peso y tamaño normal; además, de no tener la suficiente energía para soportar el tiempo que dure como larva y mueran en su intento por pupar y completar su ciclo biológico.

El extracto acuoso de semilla de *A. indica* al 0.1% obtuvo una tasa relativa de consumo de 0.324 mg/mg/día (9% menos que el testigo) y en aceite al 0.009% fue de 0.418 mg/mg/día (4% menos) para larvas de primer instar de *S. frugiperda*; en contraste con lo obtenido por Rebolledo (1992), donde el macerado e infusión al 5% de la testa de la semilla disminuyó la tasa de consumo en 56 y 86% para cada tratamiento respectivamente, en larvas de 2° instar del mismo insecto. Apreciándose una mayor

efectividad de *A. indica* con la semilla evaluada en la presente investigación. El costo metabólico fue mayor porque gran parte del gasto de energía lo utilizaron en la eliminación de los productos químicos que le causaban intoxicación o modificaron las funciones fisiológicas de su organismo. Al respecto, Slansky y Scriber (1985), mencionan que la importancia de calcular las tasas relativas, radica en que sus valores contribuyen a la interpretación de la fisiología del insecto y además de que permiten la comparación entre individuos de diferentes pesos corporales. También, se puede determinar el posible mecanismo de acción de los metabolitos secundarios presentes en los aceites y extractos de vegetales y su influencia en los hábitos nutricionales de los insectos herbívoros, tal como han sido publicados por Shea y Romeo, (1991).

En general, para muchas de las variables estudiadas, las ecuaciones de regresión cuadrática mostraron la tendencia de que por cada unidad de incremento en los tratamientos de *A. indica*, existe un incremento inicial de la variable dependiente, para luego tener una tendencia a disminuir.

## 5. LITERATURA CITADA

- Barnby, M. A. and J. A. Klocke. 1987. Effects of azadirachtin on the nutrition and development of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Fabr.) (Noctuidae). J. Insect Physiol. Oxford. 33: 69-75.
- Charleston, D.S., R.Kfir ., M. Dicke and L.E.M. Vet. 2006. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xilostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. Biological Control 39(1): 105-114.
- Habluetzel, A., F. Carnevali., L.Lucantoni., L-Grana., A.R. Attili., F. Archilei., M.antonini., A.Valbonesi., V. Abadessa., F.Esposito and S.A. Van der Esch. 2007. Impact of the botanical insecticide neem azal (R) on survival and reproduction of the biting louse *Damalinia limbata* on angora gats. Veterinary Parasitology 144 (3-4): 328-337.
- Hellpap, C. 1984. Effects of neem kernel extracts on the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. In: 2<sup>nd</sup>. Int. Neem Conf. , Rawischholzhausen. 1983. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Eschborn, GTZ Press,. pp. 353-63.

- Koul, O. 1987. Antifeedant and growth inhibitory effects of calamus oil and neem oil on *Spodoptera litura* under laboratory conditions. *Phytoparasitica*. 15: 3, 169-80.
- Koul, O. 1992. Neem allelochemicals and insect control. Allelopathy: basic and applied aspects. *In*: Rizvi, S.J. H. & Rizvi, V. Ed London, Chapman & Hall. Cap. 23, p. 389-412.
- Linton, Y. M.; A. J. Nisbet and A. J. Mordue (Luntz). 1997. The effects of Azadirachtin on the testes of the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) J. Insect Physiol. 43: 1077-84.
- Li., S.Y, A.C. Skinner, T. Rideout ., D.M. Stone., H.Crummey and G. Holloway. 2003. Lethal and sublethal effects of a neem-based insecticide on Balsam fir sawfly (Hymenoptera: Diprionidae). *J. Econ. Entomol.* 96 (1): 35-42.
- Maredia, K. M.; O.L. Segura and J. A. Mihm. 1992. Effects of neem, *Azadirachta indica*, on six species of maize insect pests. *Tropical Pest Management*, 38: 190-5.
- Medina, P., F. Budia., P. Del Estal and E. Viñuela. 2004. Influence of Azadirachtin, a botanical insecticide on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction; toxicity and ultrastructural approach. *J. Econ. Entomol.* 97 (1): 43-50.
- Melathopoulos, A.P., M.L.Winston., R. Whittington., T. Smith., Ch, Lindberg., A. Mukai and M. Moore. 2000. Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae), and brood pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascophaera apis*. *J. Econ. Entomol.* 93 (2): 199-209.
- Nathan, S.S., M.Y.Choi., C.H.Paik., HY, Seo., J.D. Kim., S.M. Kang. 2007. The toxic effects of neem extract and azadirachtin on the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Chemosphere* 67 (1): 80-88.
- Nathan, S.S. 2006. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leafhopper *Chaphalocrocis medinalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*: 84 (2): 98-108.
- Raffa, K. F. 1987. Influence of host plant on deterrence by Azadirachtin of feeding by Fall Armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 384-7.
- Rebolledo I., A. J. 1992. Evaluación de la acción de extractos acuosos vegetales a través de índices nutricionales en larvas de segundo instar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 45 pp.

- SAS. 1998. User's manual, Version 7.0. SAS Institute, Cary, N.C.
- Showler. A.T., S.M. Greenberg and J.T. Arnason. 2004. Deterrent effects of four neem-based formulations on gravid female boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding and oviposition on cotton squares. *J. Econ. Entomol.* 97(2): 414-421.
- Steffey, K.L., M.E.Rice., J.All., D.A. Andow., M.E. Gray and J. W. Van Duyn. 1999. Handbook of Corn Insects. Entomological Society of America. 164 pp.
- Scriber, J. M. y F. Slansky, Jr. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Ann. Rev. Entomol.* 26: 183-211.
- Seong Ng, S.; F. M. Davis and J. C. Reese. 1993. Southwestern corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): Comparative Developmental Biology and Food Consumption and Utilization. *J. Econ. Entomol.* 86: 394-400.
- Sifuentes, A., J.A. 1985. Plagas de maíz en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. SARH. Folleto técnico.No. 85 3° ed México, D.F. 44 p.
- Shea, C. S. and J. T. Romeo. 1991. Nutritional indices: do they explain toxicity of *Calliandra* amino acids? *Florida Entomologist* 74: 10-7.
- Slansky Jr., F. and J. M. Scriber. 1985. Food consumption and utilization. *In: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Regulation: digestion, nutrition, excretion.* G. A. Kerkut and L. I. Gilbert. (Eds.). Pergamon Press. New York, USA. p. 87-163.
- Van Randen , E.J. and B.D. Roitberg. 1998. Effect of neem (*Azadirachta indica*)-based insecticide on oviposition, deterrence, survival, behavior and reproduction of adult western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 91 (1): 123-131.
- Venkateswarlu, P.; G. Raghavaiah and B. Nagalingam. 1988. Effect of neem oil on certain behavioural aspects of *Spodoptera litura* Fabricius in urdbean. *Indian Journal of Pulses Research.* 1: 118-23.
- Walter., J.F. 1999. Commercial experience with neem products. pp 155-170. *In: F.R.Hall and J.J. Menn (eds) Biopesticides: use and delivery.* Humana. Totowa, N.J. E.U.A. .
- Weathersbee, AA. , Y.Q.Tang. 2002. Effect of neem seed extract on feeding, growth, survival, and reproduction of *Diasprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 95 (4): 661- 667.

**IV. COMPORTAMIENTO DE DOS LÍNEAS DE MAÍZ, RESISTENTE Y SUSCEPTIBLE, TRATADAS CON DIFERENTES OPORTUNIDADES Y DOSIS DE *Azadirachta indica* (A. Juss), POR LA INFESTACIÓN DE GUSANO COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).**

**BEHAVIOR OF TWO LINES OF MAIZE, RESISTANT AND SUSCEPTIBLE, DEALT WITH DIFFERENT OPPORTUNITIES AND DOSE FROM *A. indica*, BY THE INFESTATION OF BUD WORM *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).**

**RESUMEN**

En dos experimentos realizados durante dos ciclos de cultivo de maíz, se evaluó el efecto de un formulado de aceite de *Azadirachta indica* A. Juss en larvas de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). El objetivo fue conocer en campo, el efecto del daño del gusano cogollero mantenido en plantas de dos líneas de maíz clasificados como resistente (CML-67) y susceptible (CML-131) cultivados en Poza Rica, Veracruz, con aplicaciones de *A. indica*. En un primer experimento, se evaluaron los períodos de aplicación del aceite en concentración de 20.8% asperjado sobre las hojas superiores y cogollo de la planta. Se realizó la infestación artificial con larvas de primer instar a las 4 horas, 7 y 14 días después de la aplicación del aceite de *A. indica*. Se incluyó un tratamiento con el insecticida químico Permetrina y un testigo absoluto (sólo agua). En el segundo experimento, en plantas de las mismas dos líneas de maíz se aplicaron las dosis 20.8, 2.0 y 0.20% de aceite de *A. indica*. Cada dosis se aplicó tres veces, y se incluyó el tratamiento con el insecticida permetrina y el testigo absoluto. Se registró el daño foliar mediante la escala de daño del 0 al 9 propuesta por Mihm (1983), altura de la planta y el rendimiento. En las fechas de aplicación de *A. indica*, el daño foliar de la línea susceptible osciló de 6.7 a 8.1 en promedio; según la escala, representó daño alto y en la línea resistente, daño foliar moderado (4.6 a 6.0). En el experimento de concentración de *A. indica*, en el ciclo I se observaron daños de

4.4 a 6.2 en promedio y en el ciclo P-V los daños fueron de 6.5 a 8.5 en ambas líneas. La floración no presentó diferencias significativas en las diferentes fechas de aplicación, mientras que en el experimento de diferentes dosis, el tratamiento 20.8% de aceite de *A. indica* se adelantó 7.4 días con respecto al testigo. No se encontraron diferencias al cuantificar la altura, mientras que con el tratamiento de 20.8% de aceite de *A. indica* la defoliación fue menor, se obtuvieron bajos rendimientos y fitotoxicidad. *A. indica* en dosis menores al 2% aplicado antes de la infestación natural de la plaga y reforzado con aplicaciones semanales, proporcionó mayor protección al maíz. La línea resistente (CML-67), en combinación con el aceite de *A. indica*, tuvieron el menor daño por *S. frugiperda*.

Palabras clave: Maíz, daño foliar, fitotoxicidad, *Azadirachta indica*.

## SUMMARY

In two experiments realized during two breeding cycles of maize, the effect of oil formulating of *Azadirachta indica* was evaluated in larvae of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). The objectives were to know, in the field, the biological development of the maintained bud worm in plants of two classified lines of resistant maize like (CML-67) and susceptible (CML-131) cultivated in Rich Poza, Veracruz, with applications of *A. indica*. In the first experiment, the periods of application of the oil in concentration of 20,8% were evaluated sprinkled on the leaves superiors and bud of the plant. The artificial infestation with larvae of first insisting to 4 hours, 7 was realized and 14 days after the application of the oil of *A. indica*. One included a treatment with the chemical insecticide Permetrina and an absolute witness (only water). In the second experiment, in plants of the same two lines of maize concentrations 20.8, 2.0 were applied and 0,20% of oil of *A. indica*. Each dose was applied three times, and the treatment with the permetrina insecticide and the absolute witness was included. The foliar damage by means of the scale of damage from the 0 was registered to the 9 proposal by Mihm (1983), height of the plant and the yield. In the dates of application of A. it indicates, the foliar damage of the susceptible line oscillated from 6,7 to 8,1 in average; according to

the scale, it represented high damage and in the resistant line, moderate foliar damage (4,6 to 6,0). In the experiment of concentration of A. it indicates, in cycle I damages from 4,4 were observed 6,2 in average and in cycle P-V the damages went from 6,5 to 8,5 in both lines. The flowering did not present/display significant differences in the different dates from application, whereas in the experiment of different concentrations, oil treatment 20,8% of *A. indica* went ahead 7,4 days with respect to the witness. Were not differences when quantifying the height, whereas with the treatment of 20,8% of oil of *A. indica* the defoliation was smaller, obtained low yields and Phytotoxicity. *A. indica* in smaller concentrations to applied 2% before the natural infestation of the pest and reinforced weekly applications, it provided major protection to the maize. The resistant line (CML-67), in combination with the oil of *A. indica*, had the smaller damage by *S. frugiperda*.

**Key words:** Maize, foliar damage, phytotoxicity, *Azadirachta indica*.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) contiene en sus semillas, tallo y hojas a la azadiractina, sustancia con efectos antialimentarios y repelentes a insectos plaga de cultivos (Levin–Mitchell *et al.*, 2004). Su amplia gama de acción en aproximadamente 200 especies plaga de importancia agrícola, doméstica, médica y veterinaria (Mulla y Su, 1999; Levin–Mitchell *et al.*, 2004), en diversos cultivos y zonas agrícolas, ha estimulado su uso e investigación (Schmutterer, 1990; Yakkundi *et al.*, 1996); es el insecticida vegetal más estudiado (Mulla y Su, 1999) y utilizado como polvo, extracto acuoso y etanólico y como aceite; el más usado es el extracto acuoso de la semilla (Levin Mitchell *et al.*, 2004).

Existen 60 productos comerciales, formulados de extractos y aceite de *A. indica* (Schmutterer, 1995). Se han utilizado extractos del follaje al 2.0% y del fruto desde el 4.0 hasta el 13.3%, el polvo de la torta o de la semilla desde el 0.1 hasta el 5.0%, y el

aceite obtenido de la semilla desde el 0.2 hasta el 1.0%, lo que denota que los principios insecticidas se encuentran distribuidos en todo el árbol, pero en mayor concentración en la semilla y que dentro de una misma estructura vegetal existe una dinámica en la concentración (Lannacone-Oliver y Murrugarra-Bringas, 2002). El *A. indica*, al igual que la gran mayoría de insecticidas vegetales, no provoca mortalidad rápida como los insecticidas organosintéticos, por lo que las metodologías y técnicas de evaluación deben de encaminarse a probar el efecto insectistático (Schmutterer, 1990).

Aunque ha sido reportada la actividad de *A. indica* contra plagas de importancia agrícola, como *Ostrinia nubilalis*, *Spodoptera litura*, *Plutella xylostella*, *Clavigralla scutellaris* entre otras (Levin Mitchell *et al.*, 2004), no hay reportes de trabajos realizados dirigidos a integrar el *A. indica* con otros métodos de control, como la resistencia vegetal a insectos.

La presente investigación tuvo como objetivo: conocer en campo los daños causados por el gusano cogollero (*S. frugiperda*) mantenido en dos líneas de maíz clasificadas como resistente (CML-67) y susceptible (CML-131), con aplicaciones de diferentes dosis de aceite de *A. indica* dirigidas al follaje y cogollo.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación se realizó en el Campo Experimental del Centro Internacional para el Mejoramiento del Maíz y Trigo (CIMMYT) en Poza Rica, Veracruz, México, durante los ciclos de invierno 1998-1999 (22 de diciembre al 12 de mayo) y primavera-verano 1999 (16 de junio al 22 de octubre), en condiciones de riego.

### **2.1 Preparación del terreno**

Se inició con una labor de rastra al terreno para incorporar la cobertura vegetal *Crotalaria* spp. y *Mucuna gigantea* (Leguminosae), enseguida fue removido el suelo



con el implemento “pequeño gigante”, posteriormente se le dieron dos rastreos cruzados para nivelar el terreno y una aplicación de fertilizante NPK a una concentración de 200-80-00, finalmente se surcó y bordeó.

## **2.2 Diseño experimental**

En el terreno experimental correspondiente a 20 surcos con 40 plantas cada uno, los primeros trazos consistieron en crear a lo largo del surco cuatro bloques, que se constituyeron con 10 parcelas cada uno; definiendo a la parcela experimental de 2 surcos, con 10 plantas cada uno. En cada bloque se ubicaron alternadamente 5 parcelas con la línea susceptible y 5 parcelas con la línea resistente. Las unidades experimentales representaron las parcelas chicas en un diseño de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas. Las parcelas grandes fueron los cinco tratamientos que consistieron en 3 dosis de aceite de *A. indica*, testigo químico y testigo absoluto, considerados para cada experimento en los dos ciclos agrícolas. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones en cada experimento.

## **2.3 Siembra**

La siembra de las líneas de maíz CML-67 y CML-131, proporcionadas y catalogadas por el CIMMYT como resistente (por antibiosis y tolerancia) y susceptible, respectivamente (Kumar, 1994), se realizó el 22 de diciembre de 1997 para el ciclo de invierno y el 16 de junio de 1998 para el ciclo de primavera-verano. Para cada uno de los experimentos, se sembraron 20 semillas de cada línea de maíz por surco, alternando 2 surcos de la línea resistente y 2 surcos de la susceptible para tener un total de 20 surcos (10 de CML-67 y 10 de CML-131) en un terreno de 16 m de ancho y 20 m de largo. En cada unidad experimental hubo 20 plantas de maíz por tratamiento a una distancia de 25 cm entre plantas y 80 cm entre surcos. Al terminar la siembra, se realizó el tapado de las semillas y la aplicación de 7 l/ha del herbicida Primagram 500 FW (mezcla de metolaclor 23.3% con atrazina 21.9%) de Ciba-Geigy Mexicana, S. A. de C. V.

## **2.4 Infestación artificial con larvas de *S. frugiperda*.**

Para asegurar altas densidades del gusano cogollero en los experimentos, se realizaron infestaciones artificiales con larvas de primer instar a los 50 días posteriores a la siembra. Las larvas fueron depositadas directamente al cogollo de cada planta mediante una “bazuka” (Mihm, 1989), diseñada para expulsar en promedio  $35 \pm 5$  larvas por cogollo cuando las plantas tuvieron una altura entre 20 a 25 cm.; las infestaciones artificiales fueron realizadas entre 8:45 y 9:45 a.m.

Las larvas de primer instar de *S. frugiperda* utilizadas en esta investigación se obtuvieron de la cría masiva de insectos que mantiene el CIMMYT, en el Laboratorio de Entomología de El Batán, Texcoco, México. En cada fecha de infestación, las larvas fueron transportadas en una hielera para evitar su deshidratación hacia el Campo Experimental de Poza Rica, Veracruz. A las larvas se les adicionaron pedazos de olote, para facilitar su manipulación durante el proceso de infestación artificial.

## **2.5 Tratamiento con *A. indica* y su aplicación**

El aceite de *A. indica* utilizado fue el NEEM OIL EXTRACT<sup>®</sup> (93%), con una concentración de azadiractina de 0.4463%, obtenido en la Consultoría Integral P.S., S.A. de C.V., México. Entre las 9:30 a las 10 a.m., el aceite se asperjó sobre el cogollo y hojas superiores de las 80 plantas de cada tratamiento, utilizando un atomizador manual de 1000 ml de capacidad.

Se prepararon las dosis del aceite de *A. indica* siguientes: 20.8%, 2.0% y 0.2% (67.2, 6.72 y 0.672 mL de producto en 300 mL de agua, respectivamente. Se utilizaron dos testigos de comparación, uno con agua potable y el tratamiento convencional con POUNCE<sup>®</sup> 4G (FMC Agroquímica de México S. de R.L. de C.V.).

Los períodos de aplicación de *A. indica* y las dosis conformaron dos experimentos. En el experimento de períodos de aplicación de *A. indica* se utilizó la concentración de 20.8%, en una aplicación en los 3 períodos siguientes: 4 h antes de la infestación artificial (IA) con *S. frugiperda*, 7 y 14 días después de la IA (50, 57 y 64 días después de la siembra, respectivamente). En el tratamiento convencional se aplicó 0.25 g/cogollo de POUNCE® (Permetrina 0.4%) una semana después de la IA (57 días después de la siembra); en el testigo se asperjó agua en los tres períodos de aplicación del aceite *A. indica*.

En el experimento de dosis (20.8, 2.0 y 0.2% de aceite de *A. indica*) se aplicaron 3 veces en cada fecha (4 h antes de la IA, 7 y 14 días después de la IA). En los dos experimentos se utilizaron testigos de comparación: el insecticida convencional y el agua. Las aspersiones de *A. indica* en el cogollo de cada una de las plantas fueron realizadas cuando el cultivo estaba en la etapa de 5 a 6 hojas (2 a 3 hojas liguladas), en las fechas y dosis establecidas para cada tratamiento.

## 2.6 Variables evaluadas

**Daño.** La defoliación causada por *S. frugiperda* se cuantificó para cada planta utilizando una escala de daño (Mihm, 1983) en la que se consideró como 0 al daño ligero con pequeñas perforaciones y 9 a la planta muerta. En ambos ciclos de cultivo, se efectuaron 3 registros de daño para cada tratamiento a los 7, 14 y 28 días después de la infestación artificial (DDIA).

**Floración y altura de planta.** El tiempo de la floración de maíz se registró en el momento en que se encontraban en floración media el 50% de las plantas de cada surco; en cada tratamiento se realizaron 2 tiempos de floración. La medición de altura se obtuvo en la primera planta de cada surco, midiendo a partir del nivel del suelo hasta el punto de inserción de la lámina de la última hoja formada.

**Rendimiento.** Se registró en peso seco el rendimiento de grano por parcela a los 141 días después de la siembra para el ciclo de invierno y a los 128 días después de la siembra para el ciclo primavera-verano.

**Análisis estadístico.** A los datos del nivel de daño, fecha de floración, altura y rendimiento se les aplicó un análisis de varianza para un diseño de bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas y en las variables donde hubo diferencias significativas se realizó la prueba de rango múltiple de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para la comparación de medias, utilizando el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2000); los datos de daños fueron transformados a arcoseno para facilitar el análisis.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 De las Fechas de aplicación del aceite de *A. indica*

El daño foliar causado por *S. frugiperda* en los tres muestreos osciló de 5.1 a 8.1 y fue estadísticamente igual en todos los tratamientos en el ciclo P-V, incluyendo el testigo con insecticida y el testigo absoluto. En el ciclo I el daño fue menor (4.6 a 6.9) esto indica que en el ciclo P-V el daño foliar fue 14.5% mayor (Cuadro 19). El daño ocasionado por *S. frugiperda* en la línea de maíz resistente varió de 5.9 a 5.12, lo que se considera daño moderado mientras que en la línea susceptible fue daño severo, con registros de 6.5 a 7.5. La línea resistente tuvo 15.9% menos daño foliar que la susceptible; esto concuerda con lo planteado por Williams y Davis (1997) y Williams *et al.* (1998) quienes encontraron que las variedades resistentes de maíz son menos defoliadas por *S. frugiperda* que las variedades susceptibles. El daño registrado en las tres períodos de aplicación (4 h antes de IA, 7 y 14 DDIA) no fue estadísticamente diferente del testigo absoluto en la mayoría de las parcelas, lo que indica que *A. indica* no protegió al maíz del daño de *S. frugiperda*. Una aplicación de *A. indica* al 20.8%, tanto en el ciclo I como en el P-V a los 50, 57 y 64 días después de la siembra, no protegió al maíz (susceptible o resistente) del daño de *S. frugiperda*. La nula protección de *A. indica* se debe posiblemente a la alta temperatura que osciló entre 25

a 30°C en el ciclo I y de 35 a 40°C en P-V, lo que contribuyó al mejor desarrollo de *S. frugiperda* y en consecuencia correspondió a mayor daño y a la degradación de los compuestos naturales de *A. indica*, evitando su eficacia en la protección al maíz; lo anterior, está en concordancia con Yakkundi *et al.*, (1996), Lannacone-Oliver y Murrugarra-Bringas, (2002), Premachandra *et al.*, (2005) quienes señalan que el aceite de *A. indica* sufre cambios químicos al ser expuesto a temperaturas mayores a 35 °C. Asimismo, la azadiractina, al ser una molécula fotosensitiva, puede sufrir cambios químicos en la presencia de luz, temperatura y solventes orgánicos, y por la exposición a los rayos de luz ultravioleta (Yakkundi *et al.*, 1996; Stocke y Redfern, 1982).

Cuadro 19. Daño de *Spodoptera frugiperda* en dos líneas de maíz (CML-67 y CML-131) con relación a diferentes fechas de aplicación de aceite de *A. indica* durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1998. Poza Rica, Ver. México.

Trata- miento	Fechas de Muestreo											
	7 días Después de la Infestación				14 Días Después de la Infestación				28 Días Después de la Infestación			
	Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible	
	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V
4 hr A.I.	4.31 a	6.00 a	6.19 a	8.00 a	4.96 a	5.08 a	5.86 b	6.95 a	4.34 a	7.18 a	5.19 a	7.64 a
7DDIA	4.81 a	6.38 a	7.00 a	8.00 a	5.76 a	5.09 a	7.68 a	6.65 a	5.11 a	7.15 a	6.13 a	7.85 a
14 DDIA	5.44 a	6.25 a	7.50 a	8.13 a	5.54 a	5.68 a	7.71 a	6.75 a	5.64 a	7.17 a	6.01 a	7.64 a
Pounce®	3.13 b	6.50 a	5.85 b	8.13 a	3.51 b	4.80 a	5.49 b	6.53 a	3.18 b	7.31 a	4.68 a	7.25 a
Testigo	5.44 a	6.63 a	7.81 a	8.25 a	5.30 a	4.93 a	6.73 a	6.93 a	4.73 a	6.88 a	5.13 a	7.38 a

A.I = Antes de la Infestación. I = invierno; P-V = primavera verano

DDIA = días después de la infestación artificial.

Tratamientos con la misma letra en la columna no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha < 0.05$ ).

Por el índice de daño foliar, se asevera que el *A. indica* actuó sobre el gusano cogollero únicamente a los 7 días posteriores a la IA; las observaciones del daño foliar realizadas a los 14 y 21 días indicaron que el *A. indica* no afectó el desarrollo biológico del gusano cogollero (Cuadro 19). Durante el ciclo I la aplicación de aceite de *A. indica* antes de la infestación del gusano cogollero en la línea resistente de maíz presentó los más bajos índices de daño (4.31 en promedio) aunque no hay diferencia significativa con los demás tratamientos de *A. indica* y el testigo absoluto; solamente el testigo químico fue estadísticamente diferente.

Otro factor ambiental que pudo influir en los resultados obtenidos, fueron las lluvias que ocasionaron la hidrolización del aceite de *A. indica*. Al respecto, según Levin-Mitchell *et al.*, (2004), el efecto del *A. indica* dura desde 3 días hasta 2 semanas máximo, dependiendo de las condiciones climáticas y de la concentración de *A. indica* utilizados.

En lo que respecta al efecto de las fechas de aplicación del aceite de *A. indica* en la floración, ésta requirió de 81.3 a 113.1 días en los dos ciclos; en el ciclo I fue más tardía con 97.3 días en promedio, a diferencia del ciclo P-V, esto fue más evidente en la línea susceptible. La floración en la línea resistente se retrasó en 5.7 días en ambos ciclos, en tanto que en la línea susceptible se atrasó 31.8 días. Los datos de floración de los tratamientos fueron similares al testigo, excepto en el tratamiento con aplicación realizada 4 horas antes de la infestación de *S. frugiperda*, que a pesar de no ser estadísticamente diferente de los tratamientos testigo absoluto e insecticida, se adelantó 2 días en promedio para ambas líneas (Cuadro 20).

En altura de planta, se apreció mayor altura en el ciclo P-V en comparación al ciclo I. La altura en la línea de maíz susceptible fue mayor en 12.8 cm en promedio con respecto de la línea resistente (Cuadro 20); hubo diferencias significativas entre tratamientos en la altura de planta durante el ciclo P-V en ambas líneas y se observaron plantas con menor altura en el tratamiento con aceite de *A. indica* en la aplicación a los 14 DDIA (Cuadro 20).

Cuadro 20. Floración, Altura de Planta y Rendimiento de las líneas de maíz (CML-67 y CML-131) con relación a diferentes fechas de aplicación durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1998. Poza Rica, Ver. México.

Tratamiento	Floración (días después de la siembra)				Altura de Planta (cm)				Rendimiento (Kg/ha)			
	Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible	
	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V
A. I.	90.0 a	85.25 a	103.1 c	84.00 a	62.5 a	81.3 b	63.3 a	115.5 a	1258.8 c	1048.5 c	182.5 b	256.0 e
1 SDIA	84.8 b	88.38 a	102.6 c	90.88 a	62.6 a	62.8 c	62.4 a	76.8 b	419.3 d	278.5 d	152.8 c	329.8 d
2 SDIA	85.0 b	90.50 a	105.5 b	89.75 a	62.9 a	52.3 d	62.5 a	64.5 c	24.0 e	26.8 e	144.3 c	524.5 b
Pounce®	90.3 a	85.25 a	108.9 a	81.25 b	61.6 a	84.5 a	63.4 a	118.3 a	1876.8 a	1895.0 a	402.5 a	618.0 a
Testigo	89.6 a	85.50 a	113.1 a	82.13 b	62.4 a	87.0 a	62.6 a	119.0 a	1447.3 b	1372.8 b	160.3 b	395.5 c

A.I = Antes de la Infestación. I = invierno; P-V = primavera verano

1 SDIA = Una semana después de la infestación artificial.

2 SDIA= Dos semanas después de la infestación artificial.

Tratamientos con la misma letra en la columna no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha < 0.05$ ).

Con relación al rendimiento (Cuadro 20), en el ciclo P-V se cosecharon 674.5 Kg/ha mientras que en el ciclo I fue menor, con 606.9 Kg/ha. El rendimiento en la línea resistente fue de 964.8 Kg/ha a diferencia de la línea susceptible con sólo 316.6 Kg/ha. Los rendimientos fueron mayores en el ciclo I, con respecto al de P-V. Los rendimientos menores se obtuvieron al aplicar el *A. indica* 14 días después de la IA, seguido por la aplicación de *A. indica* 7 días después de la IA, lo cual indica que aún cuando era un línea resistente, el gusano cogollero causó un daño de importancia económica en los diversos tratamientos y que a ese nivel de infestaciones de larvas o después de ese tiempo, la aplicación de *A. indica* no reduce drásticamente las poblaciones de cogollero sino que el daño continúa. En el ciclo P-V, en la línea

resistente hubo una disminución de 80.9 Kg/ha en el rendimiento con respecto a obtenido en el ciclo I. El rendimiento en la línea susceptible fue de 216.3 Kg/ha más en el ciclo de P-V que en el ciclo I. En cuanto al efecto sobre el rendimiento, en los tratamientos con aceite de *A. indica* el rendimiento fue 54.1% menor que el obtenido por el testigo con 844.0 Kg/ha en promedio. El insecticida propició un incremento del 42% en el rendimiento al compararlo con el testigo absoluto. La aplicación de *A. indica* a la concentración de 20.8% realizada antes de la IA, 7 y 14 DDIA no protegió adecuadamente al maíz del daño de *S. frugiperda*, indicando que no proporciona un efecto aditivo, ni potencia la protección con maíz resistente (Cuadro 20). La línea resistente tratada con *A. indica* mostró menor daño que la línea susceptible tanto en el ciclo I como en P-V (Cuadro 19). Al respecto, Ayyangar y Rao (1989) indican que el *A. indica* no presenta de manera contundente efectos biocidas exclusivamente sobre *S. frugiperda* y *S. litura*, sino que actúa como repelente e inhibidor de la alimentación de larvas, causando así menor daño al cultivo. De lo anterior, se plantea que es necesario realizar tantas aplicaciones como lo permita el ciclo de desarrollo del cultivo, para cubrir el período de protección necesario contra el gusano cogollero.

### **3.2 Experimento: Dosis con aceite de *A. indica***

No hubo diferencias significativas respecto al daño foliar causado por *S. frugiperda* en los tres muestreos durante el ciclo P-V, para ambas líneas de maíz. En cambio, en el ciclo I a la concentración de 20.8% se detectaron diferencias en los primeros dos muestreos (hasta los 14DDIA), donde se observaron daños menores. El daño foliar causado por *S. frugiperda* en el ciclo P-V osciló de 6.5 a 7.3, a diferencia del ciclo I donde varió de 4.5 a 6.0. En el ciclo I se redujo la defoliación de *S. frugiperda* en 21% (Cuadro 21). El daño foliar en la línea resistente varió de 4.3 a 6.8 y en la línea susceptible de 3.8 a 8.6. Se observó que el daño en la línea resistente fue menor que en la línea susceptible en 13.9% y el promedio de daño en la línea resistente en el ciclo P-V fue de 6.7 (daño severo) y en el ciclo I de 4.6 (daño moderado), por lo que hubo una reducción de 22.3% de daño foliar en el ciclo I. El daño promedio en la línea susceptible en P-V fue de 7.7 y en el ciclo I de 6.0, lo que indica que el daño fue severo



en ambos ciclos y se observó una reducción del daño foliar de 18.9% en el ciclo I con respecto al de P-V. Al comparar los resultados de daño en los 3 muestreos en ambos ciclos, la reducción del daño foliar en la línea resistente fue de 4.4%. Con relación al daño foliar en las diferentes dosis evaluadas de aceite de *A. indica*, éstas fueron similares al testigo, excepto en la concentración de 20.8% de aceite de *A. indica* (5.7 en promedio en la escala de daño), en la cual disminuyó en 8.3% el daño foliar en comparación al testigo (promedio de 6.4). Los resultados que se mencionan indican que el aceite de *A. indica* en al menos dos de las dosis (0.2 y 2.0%) no protegieron adecuadamente del ataque de *S. frugiperda* a las dos líneas de maíz durante todo el período.

Cuadro 21. Daño de *Spodoptera frugiperda* en dos líneas de maíz (CML-67 y CML-131) tratadas con diferentes dosis de aceite de *A. indica* durante el ciclo de invierno (I) y primavera-verano (P-V) 1999. Poza Rica, Ver. México.

Tratamiento (%)	Fechas de Muestreo											
	7 días Después Infestación				14 Días Después Infestación				28 Días Después Infestación			
	Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible	
	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V
20.8	3.31 b	6.75 a	3.81 b	8.00 a	4.01 b	6.68 a	4.81 b	7.30 a	4.21 a	6.64 a	5.19 a	7.30 a
2.0	4.13 a	6.75 a	6.44 a	8.50 a	4.93 a	6.91 a	6.03 a	7.13 a	4.90 a	6.91 a	6.00 a	7.13 a
0.2	5.13 a	6.62 a	7.06 a	8.75 a	5.49 a	6.32 a	6.35 a	7.42 a	4.59 a	6.32 a	5.61 a	7.42 a
Pounce	4.50 a	6.88 a	6.38 a	8.38 a	4.97 a	6.44 a	6.00 a	7.26 a	3.88 a	6.44 a	6.36 a	7.26 a
Testigo	4.69 a	6.88 a	7.31 a	8.63 a	5.17 a	6.39 a	6.60 a	7.53 a	4.50 a	6.39 a	5.44 a	7.53 a

I = invierno; P-V = primavera verano. Tratamientos con la misma letra en la columna no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha < 0.05$ ).

Con respecto a la floración (Cuadro 22) en el ciclo P-V fue de 61.4 días en promedio y en ciclo I de 95.2 días; se observó un adelanto en la floración de 33.8 días en promedio en la floración en el ciclo P-V respecto al ciclo I. Por otra parte, la línea resistente varió en promedio de 60.8 a 82.8 días y la susceptible de 61.3 a 117.8 días, por lo que la floración en la línea resistente se adelantó en promedio 16.6 días en los 2 ciclos evaluados. Respecto a la floración, la línea resistente en el ciclo P-V (61.3 días) se adelantó en promedio 17.4 días con respecto al ciclo I (78.7 días), en tanto que la línea susceptible en el ciclo P-V (61.6 días) se adelantó en promedio 50.0 días en comparación con el ciclo I (111.6 días). La floración presentada en las 3 dosis del aceite de *A. indica* fue más rápida que el testigo (80.7 días); por ejemplo, en la concentración 20.8% de aceite de *A. indica* la floración se adelantó 7.4 días.

La altura de planta (Cuadro 22) en ambos ciclos varió de 81.0 a 117.1 cm, mostrando mayor altura en el ciclo P-V con un promedio de 101.5 cm lo que correspondió a 15.5 cm más que el ciclo I (86.0 cm); fue sobresaliente el tratamiento 20.8% de aceite de *A. indica*. La altura promedio en la línea susceptible fue de 99.0 cm y en la resistente 88.5 cm, esto debido a que la línea resistente es generalmente de porte más bajo. Las plantas tratadas con el insecticida mostraron tres cm más de altura en promedio en comparación con el testigo.

El rendimiento (Cuadro 22) en general osciló de 102.0 Kg/ha a 1,739.3 Kg/ha, resaltando el ciclo P-V con 812.4 Kg/ha en promedio, mientras que en el ciclo I se cosecharon 705.2 kg/ha; lo cual correspondió a 13.2% más de producción en el ciclo P-V. El rendimiento promedio de la línea resistente en ambos ciclos fue similar con 1,133.5 Kg/ha en P-V y 1,131.1 Kg/ha en el ciclo I; en cambio, en la línea susceptible el rendimiento promedio en P-V fue de 491.2 Kg/ha en comparación al ciclo I que fue de 279.2 Kg/ha; de esta forma se observa un incremento de 747.1 Kg/ha en promedio de la línea resistente con respecto a la línea susceptible. El rendimiento promedio en las diferentes dosis de aceite de *A. indica*, fue de 809.3 Kg/ha en el tratamiento al 2.0% y de 992.7 Kg/ha en el 0.2%; esto significó 13.5 y 39.2% más de rendimiento que el testigo (713.3 Kg/ha). El rendimiento promedio contrasta con la obtenida en la

concentración 20.8% de aceite de *A. indica*, la cual fue menor en 36.8% en comparación con el testigo. El rendimiento promedio del tratamiento con el insecticida (1,016.2 kg/ha) mostró un incremento de 42.5% más que el testigo absoluto.

Cuadro 22. Floración, Altura de Planta y Rendimiento de las líneas de maíz (CML-67 y CML-131) tratadas con diferentes dosis de aceite de *A. indica* durante el ciclo de invierno y primavera-verano 1999. Poza Rica, Ver. México.

Tratamiento	Floración (días después de la siembra)				Altura de Planta (cm)				Rendimiento (Kg/ha)			
	Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible		Resistente		Susceptible	
	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V	I	P-V
20.8	70.3 b	60.8 a	100.5 c	61.4 a	90.1 a	91.0 a	100.5 a	112.8 a	102.0 e	215.0 c	250.3 b	481.3 a
2.0	79.8 a	61.6 a	114.8 a	61.8 a	83.9 b	93.8 a	81.0 c	109.5 b	1187.5 c	1282.5 b	335.3 a	432.0 b
0.2	79.0 a	61.1 a	109.8 b	61.5 a	85.4 b	93.1 a	83.8 b	117.1 a	1739.3 a	1363.5 b	290.3 b	577.8 a
Pounce	82.8 a	61.5 a	115.3 a	61.3 a	85.3 b	93.5 a	82.4 b	111.3 b	1588.8 b	1568.3 a	356.0 a	551.8 a
Testigo	81.8 a	61.5 a	117.8 a	61.8 a	84.9 b	83.6 b	82.4 b	109.6 b	1038.0 d	1238.3 b	164.0 c	413.0 b

I = invierno: P-V = primavera-verano.

Tratamientos con la misma letra en la columna no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha < 0.05$ ).

De manera general, la aplicación de las tres dosis del aceite de *A. indica* (0.2, 2.0 y 20.8%), 4 h antes de la IA, 7 y a los 14 días después de la IA permitió estructurar las siguientes inferencias: La concentración del 20.8% protegió ligeramente más al maíz del daño de *S. frugiperda*; esto es, puede existir compatibilidad entre la aplicación del aceite de *A. indica* a la concentración del 20.8% con la línea resistente (CML-67). Las aplicaciones de las tres dosis del aceite de *A. indica* adelantaron la floración aunque

fue sensiblemente más precoz en la concentración del 20.8%. La línea resistente fue más precoz en la floración que la línea susceptible. La concentración de 20.8% protegió al maíz del daño de *S. frugiperda*, adelantó la floración y se observó mayor altura de planta, en contraste, el rendimiento que fue muy bajo, 37% con respecto al testigo, lo que se interpreta como el resultado de posibles efectos de fitotoxicidad. En cambio, las líneas de maíz en los tratamientos 2.0 y 0.2% mostraron daño similar, floración precoz y mayor altura que el testigo y el incremento del rendimiento respecto al testigo, en 13.5 y 39.2%, respectivamente.

Para tener mejor desarrollo y mayor rendimiento de maíz, el aceite de *A. indica* debe aplicarse a la concentración del 0.2%, en tres ocasiones durante el período de crecimiento de 50 a 78 días después de la siembra. Las tres aplicaciones de *A. indica* a las dosis de 0.2, 2.0 y 20.8%, en la etapa de crecimiento de 50 a 78 días del maíz son compatibles con la línea resistente, las mejores dosis son las de 0.2 y 2.0%, debido a que la concentración mayor provoca fitotoxicidad.

## **4. CONCLUSIONES**

### **4.1 Efecto de los períodos de aplicación del aceite de *A. indica*.**

- 1) El *A. indica* en la dosis más alta (20.8%), no protegió a las líneas de maíz susceptible y resistente del daño de *S. frugiperda*. El daño a la línea resistente fue moderado (de 5.1 a 5.9) mientras que en la línea susceptible se observó daño severo, (6.5 a 7.5). El menor daño ocurrió en la línea resistente de maíz durante el ciclo I.
- 2) La floración en el ciclo I fue tardía. La altura de la planta fue 23.6 cm mayor en el ciclo P-V en comparación al ciclo de I. Los rendimientos de grano fueron 648.2 Kg/ha más en la línea resistente que en la susceptible. El rendimiento fue mayor en el ciclo P-V que en el ciclo I.

#### 4.2 En el efecto de las dosis con aceite de *A. indica*

- 3) En el ciclo P-V, todos los tratamientos fueron iguales entre si, en ambas líneas de maíz. En el ciclo I la concentración 20.8% tuvo menor daño hasta los primeros 14 DDIA, sobre todo en la línea resistente (CML-67). Se redujo el daño por gusano cogollero en 21% en comparación al ciclo P-V.
- 4) La floración en la línea resistente se adelantó en promedio 16.6 días en los dos ciclos evaluados. Las aplicaciones de las tres dosis del aceite de *A. indica* adelantaron la floración aunque fue más precoz en la concentración de 20.8%.
- 5) La altura de planta fue mayor en el ciclo P-V (15.5 cm) que en el ciclo I, en la línea susceptible mostró 10.5 cm más de altura que la línea resistente.
- 6) El rendimiento de grano en el ciclo P-V fue 107.2 Kg/ha mayor en comparación al ciclo I, presentando la línea resistente una diferencia de 747.14 Kg/ha en promedio con la línea susceptible. La concentración mayor de *A. indica* (20.8%) causó fitotoxicidad al cultivo, lo cual se reflejó en el rendimiento.

#### 5 LITERATURA CITADA

- Ayyangar, G. S. G. y Rao. P. J. 1989. Neem (*Azadirachta indica*) (A. Juss) extracts as larval repellents and ovipositional deterrents to *Spodoptera litura* (Fabr). Indian Journal of Entomology, 51(2): 121-124.
- Lannacone-Oliver, J. A. y Murrugarra-Bringas, Y. 2002. Efecto del *A. indica* y rotenona en las poblaciones de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) y en dos especies de áfidos (Homoptera: Aphididae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú. Folia Entomol. Mex. 41(2): 119-128.
- Kumar, H. 1994. Mechanisms of resistance in maize to Southwestern corn borer and Sugarcane borer. *In*: Insect resistant maize. Recent advances and utilization. Proceedings of International Symposium held at CIMMYT. J. A. Mihm. (Ed.). CIMMYT Batán, State of Mexico. p. 54-5.

- Levin-Mitchell, P., Gupta, R., Singh, A. A. and Kumar, P. 2004. Behavioral and developmental effect of neem extracts on *Clavigralla scutellaris* (Hemiptera: Heteroptera: Coreidae) and its egg parasitoid *Gryon fulviventre* (Hymenoptera: Scelionidae). J. Econ. Entomol. 97(3): 916-923.
- Mihm, J. A. 1983. Techniques for efficient mass rearing and infestation of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, for host plant resistance studies. Technical Bulletin. CIMMYT, Mexico. 16 p.
- Mihm, J. A. 1989. Evaluating maize for resistance to tropical stem borers, armyworms and earworms. *In: Toward Insect Resistant Maize for the Third World. Proceedings of the international symposium on methodologies for developing host plant resistance to maize insects.* J. A. Mihm and F. M. Davis (eds) CIMMYT. México D.F. pp. 109-121.
- Mulla, M. S. and Su, T. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. Journal of the American Mosquito Control Association, 15: 133-52.
- Premachandra, D. W. C.; Borgemeister, T.S. and Poehling, H. M. 2005. Effects of neem and Spinosad on *Ceratothripoides claratris* (Thysanoptera: Thripidae) an important vegetable pest in Thailand. J. Econ. Entomol. 98(2): 438-448
- S.A.S. Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics. Version 8.1 edition. SAS Institute, Cary, NC. 1028 p.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Ann. Rev. Entomol. 35: 271-97.
- Schmutterer, H. 1995. The neem tree *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceous plants. VHC Publishers Inc., New York, USA. p. 51-55.
- Stocke, J. B. and Redfern, R. E. 1982. Effect of sunlight on azadirachtin. J. Environ. Sci. Health. 17: 57-65.

Williams, W. P. and Davis, F. M. 1997. Mechanisms and bases of resistance in maize to southwestern corn borer and fall armyworm. *In*: J. A. Mihm (ed.), Proc. International Symposium. International Maize and Wheat Improvement Center. CIMMYT. México. 27 November-December 1994. CIMMYT. México, D. F. p. 29-36.

Williams, W. P., Davis, F. M., Buckley, P. M., Hedin, P. A., Baker, G. T. and Luthe, D. S. 1998. Factors associated with resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in corn at different vegetative stages. *J. Econ. Entomol.* 91: 1471-80.

Yakkundi, S. R., Kumar, C. S. S., Ravindranath, R. B. 1996. Photochemistry of azadirachtin. 5<sup>th</sup> International Neem Conference. Gatton, Australia. p. 21.

## V. CONCLUSIONES GENERALES

- 1) Hubo un incremento de la duración del estado de larva en hasta de 86.6 y 75.3% cuando se alimentó *S. frugiperda* con dieta artificial más aceite de *A. indica* al 0.16 y 0.09% de concentración y de 21.2 y 12.1% en la duración del estado de pupa para los mismos tratamientos.
- 2) 4) Las larvas de *S. frugiperda* alimentadas con la dieta artificial mezclada con las más altas dosis de aceite de *A. indica*, prolongaron más la duración del estado de larva y registraron los pesos menores, aproximadamente en un 61% menos del peso que el testigo.
- 3) La duración larval se prolongó más en los tratamientos con extractos acuosos, que en los tratamientos con aceite de *A. indica* así como el peso de excretas
- 4) Las tasas relativas de consumo, crecimiento y metabólica fueron menores para las larvas alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de *A. indica*, en comparación con las larvas con aceite de *A. indica*, observándose en ambos experimentos la reducción de la alimentación y como consecuencia las larvas fueron de menor tamaño que las del testigo.

- 5) Las tasas relativas de consumo, crecimiento y metabólica fueron menores para las larvas alimentadas en dieta artificial con extractos acuosos de semilla de *A. indica*, en comparación con las larvas con aceite de *A. indica*, observándose en ambos experimentos la reducción de la alimentación y como consecuencia las larvas fueron de menor tamaño que las del testigo.
- 6) En el ciclo P-V, todos los tratamientos fueron iguales entre si, en ambas líneas de maíz. En el ciclo I la concentración 20.8% tuvo menor daño hasta los primeros 14 DDIA, sobre todo en la línea resistente (CML-67). Se redujo el daño por gusano cogollero en 21% en comparación al ciclo P-V.

## VI. LITERATURA CITADA

- Di Ilio, V., M. Cristofaro, D. Marchini., P. Nobili, R. Dallai. 1999. Effects of a Neem Compound on the Fecundity and Longevity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 92, (1): 76-82.
- Levin-Mitchell, P., Gupta. R., Singh, A. A. and Kumar, P. 2004. Behavioral and developmental effect of neem extracts on *Clavigralla scutellaris* (Hemiptera: Heteroptera: Coreidae) and its egg parasitoid *Gryon fulviventre* (Hymenoptera: Scelionidae). J. Econ. Entomol. 97(3): 916-923.
- Li, S. Y ., T. Rideout., D. M. Stone., H. Crummey and G. Holloway. 2003. Lethal and Sublethal Effects of a Neem-based Insecticide on Balsam Fir Sawfly (Hymenoptera: Diprionidae). J. Econ. Entomol. 96 (1): 35-42
- Melathopoulos, A.P. , M. L. Winston., R. Whittington ., H. Higo. And M. Le Doux, 2000. Field Evaluation of Neem and Canola Oil for the Selective Control of the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Mite Parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) . J. Econ. Entomol. 93 (3): 559-567.
- Mulla, M. S. and Su, T. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. Journal of the American Mosquito Control Association, 15: 133-52.
- Prabhaker, N., N.C. Toscano and T.J. Henneberry. 1999. Comparison of Neem, Urea, and Amitraz as Oviposition Suppressants and Larvicides Against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 92, (1): 40-46.



- Premachandra, Dammini W.T.S., C. Borgemeister ., H. M. Poehling. 2005. Effects of Neem and Spinosad on *Ceratothripoides claratris* (Thysanoptera: Thripidae), an Important Vegetable Pest in Thailand, Under Laboratory and Greenhouse Conditions. J. Econ. Entomol. 98 (2): 438-448.
- Saber, M., M. J. Hejazi, S.A. Sherif 2004. Effects of Azadirachtin/Neemazal on Different Stages and Adult Life Table Parameters of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J. Econ. Entomol. 97 (3): 905-910.
- Tang, Y. Q , A.A. Weathersbee., R.T. Mayer 2002. Effect of Neem Seed Extract on the Brown Citrus Aphid (Homoptera: Aphididae) and its Parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae) . Environ. Entomol. 31 (1): 172-176.
- Weathersbee, A. A. and Y. Q. Tang, 2002. Effect of Neem Seed Extract on Feeding, Growth, Survival, and Reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) . J. Econ. Entomol. 95 (4): 661-667.