

**Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo, A.C.**

Eficacia de Polvos Vegetales y Tierra de Diatomeas en el Control de  
*Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Bruchidae) en Frijol

POR

**Ernesto Armienta Aldana**

Tesis aprobada por la:

UNIDAD CULIACÁN  
EN FISIOLÓG[A Y TECNOLOG[A POSTCOSECHA  
DE FRUTAS, HORTALIZAS Y GRANOS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE:

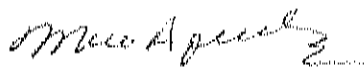
MAESTRÍA EN CIENCIAS

CULIACÁN, SINALOA

OCTUBRE DE 2002

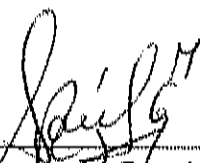
## APROBACIÓN

Los miembros del comité para revisar la tesis del Biólogo Ernesto Armienta Aldana, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



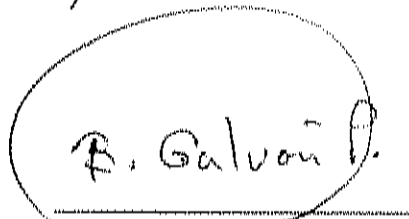
Dr. Miguel Angel Angulo Escalante

Director de Tesis



Dr. Raymundo García Estrada

Asesor



M.C. Blas Galván Piña

Asesor



M.C. Jacobo Enrique Cruz Ortega

Asesor

## DECLARACIÓN DEL AUTOR

Se permiten citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para citas y consultas más amplias o para la reproducción íntegra del documento con fines académicos, se podrá solicitar permiso al director del centro y al director de tesis con dirección en carretera Culiacán-Eldorado, Km. 5.5 A.P. 32-A, Culiacán Sinaloa, México. Bajo cualquier otra circunstancia, se deberá solicitar permiso al autor.



Ernesto Armienta Aldana

Autor

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación de comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de tesis.

Dr. Inocencio Higuera Ciapara  
Director General

## DEDICATORIAS

A mis padres Eduardo Armienta Rodelo y Amada Isaura Aldana Borboa por tanto amor y apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida. Sin ustedes nunca hubiera podido lograr esto. Muchas gracias por tantos consejos y orientaciones que me dan, los quiero mucho.

A mis hermanos Eduardo, Juan Miguel y Reyna de Jesús, por el cariño y apoyo que tanto me han ofrecido en el transcurso de mi vida, sin ustedes hubiera sido muy difícil cubrir el camino que hasta ahora tengo, gracias hermanos.

A la memoria de mis abuelos Filemón Aldana Valdez (q.e.p.d.) y Eduardo Armienta López (q.e.p.d.) y a mis muy queridas abuelas que se encuentran conmigo Guadalupe Borboa de Aldana y Reinalda Rodelo de Armienta, por brindarme todo su cariño y compañía hasta este momento.

Muy especialmente también dedico este trabajo a la Dra. María Guadalupe Aldana Borboa (q.e.p.d.), donde quiere que se encuentre tía siempre tendrá mi cariño.

Gracias también a todos mis familiares que de alguna manera han influido en la culminación de este trabajo, gracias tíos, tías y primos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Miguel Angel Angulo Escalante, por haber aceptado ser mi asesor de tesis y por permitirme se parte de su equipo de trabajo y por haberme ayudado durante el desarrollo de mi trabajo.

Al Dr. Raymundo García Estrada, por haber aceptado participar como asesor en mi trabajo de tesis y por sus sugerencias y comentarios aportados al mismo.

Al M.C. Blas Galván Piña, por haber sido asesor en mi trabajo de tesis y por los comentarios aportados al mismo.

Al M.C. Jacobo Cruz Ortega, por su participación como asesor en mi trabajo de tesis y por sus sugerencias aportadas al mismo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Culiacán por haberme aceptado como estudiante de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado la beca de maestría que me permitió cursar satisfactoriamente mis estudios de maestría.

A todo el personal del CIAD, Unidad Culiacán que influyo de alguna manera en la culminación de este trabajo, gracias por su apoyo.

Agradecemos especialmente al Gobierno del Estado de Sinaloa a través del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (CECyT) por el apoyo brindado para la culminación de mi trabajo de tesis.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Toxicología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Culiacán, bajo la asesoría del Dr. Miguel Angel Angulo Escalante.



## CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
RESUMEN .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVO GENERAL .....	3
Objetivos Específicos .....	3
REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
Insectos de Granos Almacenados .....	4
<i>Zabrotes subfasciatus</i> Boheman .....	5
Morfología .....	5
Biología .....	6
Alimentación .....	10
Distribución .....	10
Importancia económica .....	11
Métodos de control .....	11
Control cultural .....	12
Control fitogenético .....	14
Control físico-mecánico .....	15
Control químico .....	15
Insecticidas Botánicos .....	17
Árbol del Neem ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss) .....	18
Aspectos botánicos .....	19
Compuestos presentes en el neem .....	21
Azadiractina .....	23
Salañina .....	24
Nimbina .....	25
Modo de acción del neem .....	25

Efecto antialimentario .....	26
Efecto repelente .....	27
Efecto sobre la reproducción .....	27
Morfología .....	29
Estado físico .....	30
Toxicidad .....	30
El neem en la protección contra plagas agrícolas.....	31
El neem como protector de granos almacenados....	32
Árbol del Venadillo ( <i>Swietenia humilis</i> Zucc.).....	34
Aspectos botánicos .....	34
Compuestos activos .....	37
El venadillo en la protección contra plagas .....	37
Usos del venadillo .....	38
Polvos Minerales .....	39
Tierra de Diatomeas .....	39
Propiedades físicas y químicas de la tierra de diatomeas..	40
Modo de acción .....	41
Eficiencia contra insectos de granos almacenados .....	43
MATERIALES Y MÉTODOS .....	45
Material Biológico .....	45
Colecta de Plantas .....	45
Preparación de Polvos Vegetales .....	45
Tierra de Diatomeas .....	46
Cría de Insectos .....	46
Evaluación de Polvos Vegetales de Neem y Venadillo .....	46
Evaluación de la Tierra de Diatomeas.....	47
Planteamiento Experimental .....	50
Diseño de Tratamientos .....	50
Diseño Experimental .....	51

Variables de Respuesta .....	51
Mortalidad .....	51
Grano dañado .....	51
Emergencia .....	52
Análisis Estadístico .....	52
RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	53
Evaluación de Polvos de Semilla de Neem .....	53
Mortalidad .....	53
Grano dañado .....	56
Emergencia .....	59
Evaluación de Polvos de Semilla de Venadillo .....	62
Mortalidad .....	62
Grano dañado .....	63
Emergencia .....	68
Evaluación de la Tierra de Diatomeas .....	70
Mortalidad .....	70
Grano dañado .....	73
Emergencia .....	73
Evaluación entre Tratamientos .....	79
CONCLUSIONES .....	81
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	83

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con polvos de semilla de neem .....	54
Cuadro 2. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> tratado con polvos de semilla de neem .....	57
Cuadro 3. Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con polvos de semilla de neem .....	61
Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con polvos de semilla de venadillo .....	65
Cuadro 5. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> tratado con polvos de semilla de venadillo.....	67
Cuadro 6. Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con polvos de semilla de venadillo .....	68
Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con tierra de diatomeas .....	71
Cuadro 8. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> tratado con tierra de diatomeas .....	76
Cuadro 9. Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con tierra de diatomeas.....	78

Cuadro 10. Evaluación entre tratamientos para el control de <i>Z. subfasciatus</i> en granos tratados con polvos de semilla de neem, venadillo y tierra de diatomeas .....	80
--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Insecto hembra de <i>Z. subfasciatus</i> .....	7
Figura 2. Insecto macho de <i>Z. subfasciatus</i> .....	7
Figura 3. Larva de <i>Z. subfasciatus</i> .....	8
Figura 4. Árbol del neem .....	20
Figura 5. Frutos del neem .....	22
Figura 6. Árbol del venadillo .....	35
Figura 7. Fruto del venadillo .....	36
Figura 8. Procedimiento para la obtención de polvos de semilla de neem y venadillo .....	48
Figura 9. Evaluación de polvos de neem, venadillo y tierra de diatomeas en el control de <i>Z. subfasciatus</i> .....	49
Figura 10. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con polvos de semilla de neem.....	55
Figura 11. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> a los dos meses de haber sido tratado con polvos de semilla de neem.....	58
Figura 12. Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con polvos de semilla de neem.....	60
Figura 13. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con polvos de semilla de venadillo .....	64
Figura 14. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> a los dos meses de haber sido tratado con polvos de semilla de venadillo.....	66
Figura 15. Porcentaje de emergencia de <i>Z. subfasciatus</i> a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con polvos de semilla de venadillo.....	69
Figura 16. Porcentaje de mortalidad de <i>Z. subfasciatus</i> a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con tierra de diatomeas .....	72
Figura 17. Porcentaje de grano dañado por <i>Z. subfasciatus</i> a los dos meses de haber sido tratado con tierra de diatomeas.....	75

Figura 18. Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con tierra de diatomeas ..... 77

## RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue evaluar los polvos de semillas de neem y venadillo pertenecientes a la familia Meliaceae que se encuentran distribuidas en el estado de Sinaloa y polvos de tierra de diatomeas de la marca comercial Agrobiosol. Las evaluaciones se realizaron con el fin de encontrar una alternativa para el control del gorgojo mexicano del frijol (*Z. subfasciatus*) en frijol almacenado en condiciones de laboratorio. El planteamiento experimental consistió en un arreglo factorial 3 x 6, cuyo factores fueron los tratamientos con tres niveles y concentraciones de los polvos con seis niveles. Se llevaron a cabo 8 repeticiones por tratamiento y un testigo. Las variables de respuesta fueron porcentaje de mortalidad, grano dañado y emergencia. Los datos obtenidos se procesaron mediante la ecuación de Abbott y la comparación de medias se determinó utilizando la prueba de Tukey al 5 % de significancia.

Las evaluaciones consistieron en la mezcla de los polvos tanto de neem, venadillo y tierra de diatomeas con los granos de frijol a dosis de 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 y 1 %,

Los resultados de los polvos de semilla de neem mostraron que la dosis al 1 % fue eficaz en la reducción de la emergencia y grano dañado en un 1 % durante los dos meses de tratamiento.

Los polvos de venadillo a dosis de 0.2, 0.5 y 1 % resultaron eficaces en el control de *Z. subfasciatus*. Estas dosis provocaron de un 90-100 % de mortalidad entre los insectos y fue casi nulo el porcentaje de emergencia y grano dañado,

La tierra de diatomeas a dosis de 0.2, 0.5 y 1 % mostraron ser efectivas en la reducción de emergencia, grano dañado y mortalidad de los gorgojos.

Las dosis que resultaron ser más prometedoras para el control del gorgojo mexicano del frijol fueron los polvos de semilla de neem al 1 % y las dosis de 0.2, 0.5 y 1 % de los polvos de venadillo y tierra de diatomeas, las cuales no muestran una diferencia significativa entre ellas, por lo que se considera que dichos tratamientos proporcionan el mismo efecto protector contra *Z. subfasciatus* en condiciones de laboratorio.



THESE RECHERCHES SONT LE FRUIT D'UN TRAVAIL FAIT EN  
COOPERATION AVEC LE LABORATOIRE DE RECHERCHES  
AERONAUTIQUES DE LA COMMISSION NATIONALE  
FRANCAISE DE L'AERONAUTIQUE.

## INTRODUCCIÓN

En los países subdesarrollados, se estima que las pérdidas en granos almacenados por el ataque de insectos es de aproximadamente un 10 al 40 %. Lo antes señalado es debido a que no existe una infraestructura adecuada para el almacenamiento de los granos (Shaaya *et al.*, 1997). En América Latina, se estima que el ataque de insectos ocasiona pérdidas del 13 al 15 % de la producción de granos almacenados. En México, aun y cuando no existen datos exactos, se estima que se pierde alrededor del 35 % de la producción de granos almacenados (Juvera *et al.*, 1995).

Una de las plagas que más daño causa al frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) almacenado es *Zabrotes subfasciatus* (Boh.), el gorgojo mexicano del frijol. Este insecto ataca principalmente a semillas y granos almacenados en regiones tropicales y subtropicales del centro y este de África, Madagascar, India, Mediterráneo y el Continente Americano. En ocasiones ataca a las semillas y en otras incluye a las vainas (Dobie *et al.*, 1991).

El método más común para el control de insectos de almacén es el uso de fumigantes, que hasta el momento constituye uno de los métodos más efectivos en la protección de granos almacenados (Shaaya *et al.*, 1997); sin embargo, el uso por más de 40 años de insecticidas sintéticos han generado grandes problemas en el ambiente. En la actualidad una cantidad elevada de insectos presentan resistencia a cierto tipo de insecticidas; por esta razón los estudios recientes se han enfocado a la búsqueda de nuevas formulaciones de insecticidas de origen vegetal y mineral, los cuales no crean resistencia, sean selectivamente tóxicos, y presenten baja toxicidad en mamíferos (Stark y Walter, 1995; Araya *et al.*, 1996; Golob, 1997; Shaaya *et al.*, 1997).

Los polvos vegetales contienen metabolitos secundarios, que en algunos casos, son bioactivos y por esta razón se han utilizado como insecticidas. Entre este tipo de polvos se encuentran los obtenidos del árbol de neem (*Azadirachta*

*indica* A. Juss) y el de venadillo (*Swietenia humilis* Zucc), que pertenecen a la familia Meliaceae. Dentro de esta familia existen varias especies en las cuales se ha encontrado compuestos activos conocidos como limonoides. Dichos compuestos tienen un uso potencial como bioinsecticidas contra plagas de granos almacenados, los cuales se han empleado como polvos obtenidos de las semillas, frutos, hojas y corteza, presentando resultados efectivos, principalmente, con las semillas de estas plantas (Champagne *et al.*, 1992).

Los polvos minerales, por lo general tienen una acción deshidratante sobre los insectos. Uno de los más empleados en la actualidad, debido a que no es tóxico y se considera seguro para el ambiente, lo es, la tierra de diatomeas. La tierra de diatomeas se forma a partir de trillones de algas unicelulares microscópicas llamadas diatomeas, las cuales forman esqueletos delgados con el sílice extraído del agua. Al morir las diatomeas, sus esqueletos (llamados frústulas) quedan depositados en el fondo de antiguos lagos y lagunas. Cuando éstos se secan, los depósitos se fosilizan y se comprimen formando rocas, de las cuales se extraen la tierra de diatomeas. Su uso no solo se restringe para el control de plagas de cultivos y en granos almacenados, sino también se ha utilizado como fertilizante y recuperador del suelo. A la vez que elimina los insectos dañinos a las plantas, incorpora nutrientes al suelo (Golob, 1997; Korunic, 1998).

Para determinar realmente si estos polvos presentan características bioinsecticidas, es importante evaluarlos contra una plaga insectil en granos almacenados, que represente gran importancia por el daño que provoca.

Por tal motivo, el objetivo principal de este estudio fue evaluar la actividad insecticida de los polvos de semillas de neem y venadillo, así como, tierra de diatomeas contra el gorgojo mexicano del frijol (*Zabrotes subfasciatus* Boh.) en condiciones de laboratorio.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de polvos de semillas de plantas de la familia Meliaceae y polvo de tierra de diatomeas contra el gorgojo mexicano del frijol (*Z. subfasciatus* Boh.) en condiciones de laboratorio.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar bajo condiciones de laboratorio la eficiencia de los polvos de semilla de neem y venadillo en la mortalidad, grano dañado y emergencia del gorgojo mexicano del frijol.
- 2) Determinar bajo condiciones de laboratorio el efecto de mortalidad, grano dañado y emergencia de la tierra de diatomeas contra el gorgojo *Z. subfasciatus*.
- 3) Establecer que concentraciones de los polvos de neem, venadillo y de tierra de diatomeas son prometedoras en el control de el gorgojo mexicano del frijol.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Insectos de Granos Almacenados

Los granos son una importante fuente de proteínas en la alimentación diaria en muchos países, pero, como en otros cultivos los insectos causan considerables pérdidas en la producción (Chrispeels *et al.*, 1998). Estas pérdidas es un problema muy serio en los países en vías de desarrollo, las cuales se incrementan debido a las condiciones de humedad en el trópico, una deficiente sanidad y en gran parte por la pobre infraestructura con la que cuentan para almacenar el grano, lo que beneficia el ataque de insectos (Wong *et al.*, 1992; Cortez *et al.*, 1993). El ataque de insectos a los granos almacenados ocasiona tanto pérdidas cuantitativas como cualitativas, ya que debido a la perforación de la semilla por parte del insecto se reduce el peso, el valor comercial y la germinación de la semilla (Lale y Mustapha, 2000).

En las zonas templadas existen pérdidas aproximadas entre un 5-10 % del grano y en zonas tropicales de un 20-30 % por el ataque de insectos (Haque *et al.*, 2000). En América Latina se calcula que los insectos de granos almacenados producen pérdidas de entre el 13 al 15 % de la cosecha. Cerca de 1,000 especies de insectos han sido asociados con productos de almacén alrededor del mundo, los cuales en su mayoría corresponden a coleópteros (60 %) y lepidópteros (8-9 %) (Semple *et al.*, 1992). El daño que producen estos insectos puede llegar a observarse hasta que el grano es removido para su comercialización.

Dentro de los insectos de granos almacenados existen dos divisiones; las plagas primarias, las cuales se alimentan del grano que no ha sido dañado por otra plaga y plagas secundarias, las cuales se alimentan de fragmentos de granos que ya han sido dañados (Chappell y Herbert, 2001).

Una de las plagas primarias realmente importante por el daño que causa a los granos de frijol almacenado es el insecto *Zabrotes subfasciatus* (Araya *et*

*al.*, 1996; Guzmán *et al.*, 1996). El daño es causado por la larva al alimentarse del grano, disminuyendo su calidad por la presencia de huevos, excremento y adultos muertos (Matute, 1999).

### ***Zabrotes subfasciatus* Boheman**

El insecto *Z. subfasciatus* conocido como el gorgojo mexicano del frijol es un coleóptero perteneciente a la familia Bruchidae, se caracteriza por ser de metamorfosis completa y alimentarse solo de semillas (Dobie *et al.*, 1991). Los insectos de esta familia se encuentran estrechamente relacionados con las plantas de la familia Leguminosae y muchas de estas especies son importantes plagas primarias de granos almacenados (Rajapakse y Van Emden, 1997). Entre las especies más importantes dentro de esta familia se encuentran, *Z. subfasciatus*, *Acanthoscelides obtectus* y *Callosobruchus maculatus* (Dobie *et al.*, 1991). Los miembros de esta familia son fáciles de reconocer; el cuerpo, cubierto de pequeños pelos, es compacto y globular. Los élitros son cortos y con en el pigidio expuesto (Rees, 1996).

El daño causado en campo y almacenamiento por las larvas de estos insectos puede ser muy significativo, especialmente si las semillas son almacenadas por largos periodos, debido a que en algunos casos el insecto se multiplica en las semillas almacenadas y en otros casos el daño ocurre durante el desarrollo de la semilla en la vaina (Chrispeels *et al.*, 1998).

El gorgojo mexicano del frijol ocasiona serios problemas en las regiones tropicales en los países en desarrollo donde se carece de infraestructura adecuada para el almacenamiento de granos (Credland, 1992).

Morfología. El cuerpo del adulto es de forma oval, grueso, convexo, de color gris-café o negro, con excepción de la base de las antenas y el ápice de los tarsos. El cuerpo mide aproximadamente entre los 2 a 3 mm de longitud y de 1

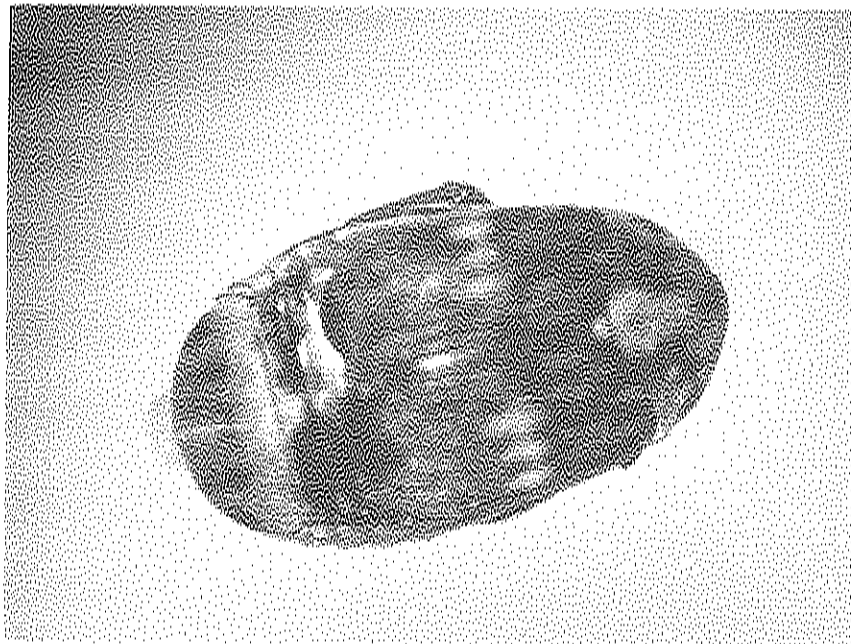
a 2 mm de ancho. Sus antenas son largas y pueden llegar a medir 1.5 mm, los artejos son largos de color negro, exceptuando los dos primeros que son de un color rojizo (Dell'Orto y Arias, 1985). Los élitros son cortos y relativamente anchos de forma cuadrada y ocultan a las alas posteriores (Dobie *et al.*, 1991).

La hembra es más grande que el macho y se caracteriza por tener cuatro manchas de color blanco en los élitros (Figura 1) (Latorre *et al.*, 1985). El macho es de un color gris-café uniforme (Figura 2). Su fémur posterior es liso, sin protuberancias o dientes. La parte de la tibia que se encuentra cerca al fémur presenta dos espolones móviles (Dobie *et al.*, 1991).

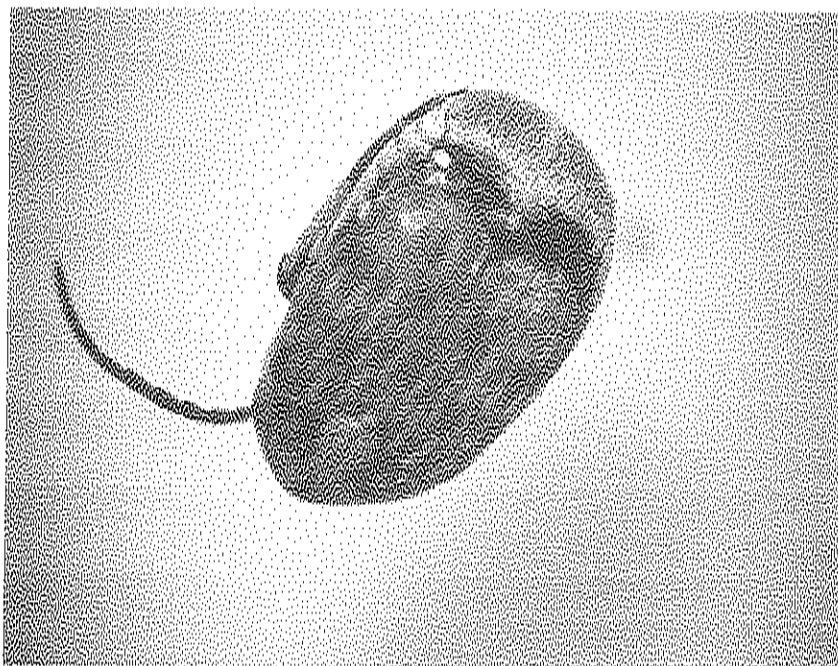
Las larvas son robustas, encorvadas de color blanco marfil. Son muy voraces, pudiendo existir varias de ellas en un solo grano (Figura 3) (Lindblad y Druben, 1979).

Biología . Presentan una biología similar a los miembros de la familia Bruchidae (Dobie *et al.*, 1991). La hembra se apareja sexualmente con el macho. Este apareamiento parece estar influenciado por las semillas de frijol. Al contacto con estas, aumenta el número de encuentros sexuales, estimula la oogenesis y actividad de ovoposición. Se ha sugerido que los quimiorreceptores olfatorios, gustatorios y táctiles regulan o controlan la actividad reproductiva de las hembras (Pimbert y Pierre, 1983).

Las hembras ovipositan en la semilla desnuda, jamás en las vainas (Credland y Dendy, 1992). Sin embargo, Pimbert y Pierre (1983), citan que sí son capaces de reproducirse en ambas partes en el campo y los almacenes. Cuando las vainas de *P. vulgaris* y *P. lunatus* se encuentran parcialmente o totalmente dehiscentes permite que la hembra pueda entrar en contacto con las semillas para ovopositar. Estos mismos autores refieren que *Z. subfasciatus* no puede perforar las vainas para ovopositar en las semillas y tampoco puede ovopositar en las vainas como pueden hacerlo otros miembros de la familia. En grado

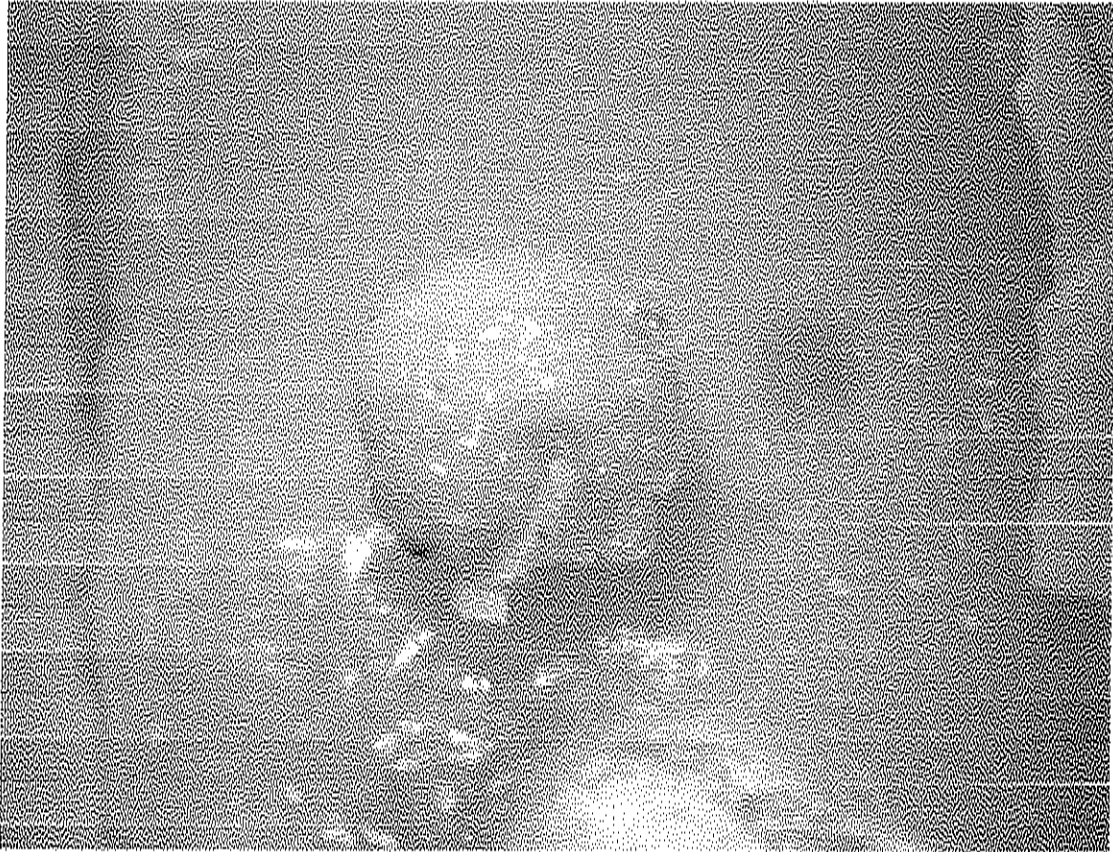


**Figura 1.** Insecto hembra de *Z. subfasciatus*, tomada en el laboratorio de toxicología del CIAD, unidad Culiacán (2001).



**Figura 2.** Insecto macho de *Z. subfasciatus*, tomada en el laboratorio de toxicología del CIAD, unidad Culiacán (2001).





**Figura 3.** Larva de *Z. subfasciatus* alimentándose dentro del grano de frijol, tomada en el laboratorio de toxicología del CIAD, unidad Culiacán (2001).

caso que la hembra deposite a los huevecillos en las paredes de las vainas estos se adhieren y la larva puede penetrar las paredes pero muere dentro de la vaina ya que no alcanza a penetrar en la semilla (Schoonhoven, 1978).

Las hembras ovipositan alrededor de 35 a 60 huevos en un período de 10 días. Después de dos días de haber emergido la hembra de *Z. subfasciatus* usualmente es cuando comienzan a ovopositar (Credland, 1992). Trabajos de Golob y Kilminster, (1982), indican que la hembra presenta un periodo de pre-ovoposición de 1 día, posteriormente la hembra pone 50 huevecillos en sus 13 días de vida, siendo la mayoría puestos después del cuarto día. El huevo es fuertemente adherido a la testa del grano por medio de un material viscoso que sirve de pegamento (Credland y Dendy, 1992). Este pegamento o secreción que adhiere los huevecillos generalmente se deposita pocos segundos antes de la ovoposición (Credland, 1992). Los huevos adheridos a la testa son de un color brillante y translúcidos, mientras que las posturas que ya eclosionaron son de color blanco y opacas. Las larvas recién emergidas, penetran al interior del grano construyendo un túnel, dejando únicamente una cubierta sobre el pericarpio del grano por donde posteriormente el adulto emerge (Dell'Orto y Arias, 1985). El lugar de donde sale el adulto da la apariencia de una ventana circular en la superficie de la semilla (Rees, 1996). Los adultos que emergen no necesitan alimentarse antes y después del apareamiento dado que durante su desarrollo larval obtiene todos los requerimientos nutricionales para llevar a cabo su ciclo biológico (Dendy y Credland, 1991). Los adultos son muy activos, pueden correr y volar rápidamente y son regularmente vistos corriendo sobre la superficie de la semilla infestada (Rees, 1996).

Su ciclo biológico dura de 24-25 días a 32 °C y 70 % de H.R (Dobie *et al.*, 1991). Sin embargo, otros autores indican que es de más de 30 días desde huevo a adulto (Golob y Kilminster, 1982; Dendy y Credland, 1991; Barbosa *et al.*, 1999). La temperatura máxima para desarrollarse es de 37-38 °C y una mínima ligeramente por debajo a los 20 °C (Dobie *et al.*, 1991).

Los adultos son de vida corta. Diversos autores han determinado la vida media de los adultos. Por ejemplo, Dell'Orto y Arias (1985), indicaron que el insecto adulto de *Z. subfasciatus* vive alrededor de 10 a 12 días; Barbosa *et al.* (1999), alrededor de los 36 días; Lindblad y Druben (1979), de 21 a 28 días.

Alimentación . Es la plaga más importante del frijol común almacenado y el frijol lima (*P. lunatus*) (Dobie *et al.*, 1991). También puede alimentarse de otros granos de leguminosas tal es el caso del caupí, arvejas, lentejas y soya (Dell'Orto y Arias, 1985). Rees (1996), cita que se han reportado ataques de *Z. subfasciatus* en los granos de caupí en Uganda y parte del oeste Africano. Dobie *et al.* (1991), señalan que se han observado ataques de *Z. subfasciatus* hacia el cacahuate de bambara (*Voandzeia unguiculata*) en Tanzania.

Distribución . La habilidad de esta especie para desarrollarse en condiciones de almacén le ha permitido ser una especie que sea fácil de encontrar a nivel mundial (Southgate, 1978). Este insecto se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales de África, Madagascar, India y América de donde se piensa es originario (Dobie *et al.*, 1991). En América se encuentra distribuido desde los Estados Unidos hasta Brasil (Latorre *et al.*, 1985). Principalmente se distribuye en los climas cálidos, húmedos con poca altitud sobre el nivel del mar (Dell'Orto y Arias, 1985). Sin embargo, Barbosa *et al.* (1999), cita que también puede ser encontrado en regiones de clima templado y frío. Su distribución también abarca los países tropicales y subtropicales de Asia Occidental y Europa (Díaz *et al.*, 1996). En Europa se ha encontrado en Italia y Portugal, pero no ha sido observado en otras regiones del Mediterráneo (Southgate, 1978).

Importancia económica . Se considera junto con *A. obtectus* una plaga primaria de gran importancia económica en las zonas productoras de frijol de las regiones tropicales y subtropicales de América Latina y África (Dell'Orto y Arias, 1985). A nivel mundial, este tipo de plagas causan pérdidas de aproximadamente el 25 % de la producción mundial de semilla (Guzmán *et al.*, 1996). En México *Z. subfasciatus* y *A. obtectus* provocan pérdidas que varían entre el 10 y 20 % del frijol almacenado (Sánchez *et al.*, 1997). En países de Centro América y Panamá las pérdidas se encuentran por arriba del 30 % y en Brasil entre un 7 y 17 % (Barbosa *et al.*, 1999).

El daño que provoca esta especie insectil es debido a la invasión y alimentación de las larvas en el interior de los granos, produciendo pérdida de peso, disminución del valor nutritivo y pérdida en la higiene del producto, por la presencia de excrementos, huevos e insectos. Además, el poder germinativo de las semillas puede ser reducido o totalmente perdido (Barbosa *et al.*, 1999).

Métodos de control . Generalmente, el control de plagas se hace a través del uso de insecticidas químicos; sin embargo, en las zonas rurales de México, donde se encuentran la mayoría de los campesinos que no cuentan con la infraestructura y los recursos económicos necesarios, este tipo de control es muy limitado. Además, se encuentra bien documentado que este tipo de control puede provocar resistencia en los insectos, contaminación ambiental y toxicidad en humanos y fauna en general (Araya *et al.*, 1996).

En la actualidad existe el interés de la búsqueda de nuevas alternativas para el control de insectos de almacén. El uso de polvos minerales, cenizas, aceites, polvos de semilla, hojas, raíces o el empleo de nuevas tecnologías tanto de equipo como de ingeniería genética con el fin de reducir la dependencia de los pesticidas sintéticos en el control de insectos están siendo implementadas (Proctor, 1994).

Cualquier método de control de insectos deberá empezar antes del almacenamiento del grano cuando este se encuentra en el campo y dependerá en gran medida del cuidado y limpieza de los sacos o envases y el lugar de almacenamiento (Lindblad y Druben, 1979).

Control cultural. Un método tradicional, empleado para el control de la población de *Z. subfasciatus*, es almacenar los granos de frijol dentro de su propia vaina (Schoonhoven, 1978; Latorre *et al.*, 1985). Esto se debe a que las hembras solo pueden ovopositar por lo general en la semilla desnuda y muy difícilmente en las vainas a menos que estas se encuentren dehiscentes (Pimbert y Pierre, 1983).

En muchos lugares se emplea la mezcla de plantas locales con el grano almacenado. La información acerca de que plantas se deben utilizar para el control de plagas y que partes de la misma deben mezclarse con el grano se transmiten de generación en generación en la zonas rurales (Lindblad y Druben, 1979). Las sustancias derivadas de plantas se han empleado en el control de plagas desde tiempos muy antiguos. Sin embargo, su utilización se vio reducida por la aparición de los insecticidas químicos, limitándose su uso a las zonas rurales (Juvera *et al.*, 1995).

En países en vías de desarrollo es muy común el empleo de productos de origen vegetal mezclados con el frijol almacenado para protegerlo durante el almacenamiento. Entre los productos que se han empleado se encuentran las hojas de neem, hojas de *Ocimum canum*, frutos de *Capsicum frutescens*, fruto de *Piper nigrum*, y extractos de flores y pétalos de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Weaver *et al.*, 1994; Dunkel *et al.*, 1995).

El empleo de plantas en contra de insectos de granos almacenados tales como *Z. subfasciatus* son prometedores (Cortez *et al.*, 1993; Lagunes, 1994; Rodríguez y López, 1999).

Por ejemplo, cuando se emplean polvos de hojas o semillas de plantas estos pueden ser removidos físicamente del grano por medio de tamizajes o lavados antes de su consumo y en el caso de que se apliquen extractos los cuales contienen compuestos volátiles se eliminan evaporándose antes que la mercancía llegue al consumidor (Dunkel *et al.*, 1995).

Otro método de control cultural muy empleado es el uso de aceites vegetales generalmente de origen local. Estos se han empleado en el control de bruchidos en semillas de leguminosas en almacén, los cuales reducen la ovipostura, son ovicidas, larvicidas, regulando la emergencia en adultos (Makanjuola, 1989; Credland, 1992). Entre los aceites vegetales que se ha visto poseen una efectividad en el control de *Z. subfasciatus* en frijol almacenado se encuentra el de palma y algodón (Shaaya *et al.*, 1997). Sin embargo, las desventajas en el uso de aceites es que producen un aspecto rancio y pegajoso en los granos, lo que podría reducir la aceptación en el mercado (Matute, 1999).

El empleo de polvos minerales como método de control cultural en insectos de granos almacenados incluyendo a *Z. subfasciatus* ha sido ampliamente usado (Lagunes, 1994). La mezcla de arena o ceniza con los granos es un método alternativo en el control de insectos. La arena o las cenizas dañan la cutícula del insecto debido a que la raspan haciendo que pierda humedad. Si el grano se encuentra seco, no habrá la suficiente humedad para que el insecto pueda reponer la que perdió por lo que morirá por desecación (Lindblad y Druben, 1979). Schoonhoven (1978), señala que para llevar a cabo el control de gorgojos se aplican cenizas de la chimenea a los granos de frijol almacenado, esto produce una barrera física para los gorgojos, teniendo resultados efectivos. Sin embargo este tipo de control dificulta la movilidad del grano dentro del almacén aunado a que se requieren cantidades muy grandes para ser efectivo (más del 5 % por peso de grano) (Golob, 1997). Matute (1999), cita que la mezcla del grano con el 20 % del peso del frijol en

arena o ceniza, permite que no queden espacios libres entre el grano y el insecto, evitando así la ovipostura.

La mezcla de cal con los granos almacenados es una práctica común en el noroeste de México. Wong *et al.* (1992), cita que los campesinos de la región antes de las cosecha limpian el área de almacenamiento eliminando la basura que se pueda encontrar, además de enjabonar el área, posteriormente que se cosecha el grano, se mezcla con la cal para prevenir el ataque de los insectos.

Otro método empleado es exponer a los granos al sol. Los insectos abandonan el grano que es expuesto a los rayos solares, debido a las altas temperaturas (superiores a 40-44 °C). Sin embargo, el asoleado no siempre mata a huevecillos y larvas que permanecen en el interior del grano (Lindblad y Druben, 1979). Este método solo protege a las capas superiores del grano, por lo cual solo puede dañar a los insectos adultos que se encuentran en la superficie o las larvas que se encuentran en libre movimiento (Proctor, 1994).

Control fitogenético. Se han empleado una gran variedad de proteínas que se encuentran almacenadas en las semillas de plantas silvestres de *P. vulgaris* (arcelina y inhibidores de  $\alpha$ -amilasas), para el control de *Z. subfasciatus* en frijol almacenado (Goossens *et al.*, 2000). En México se han reportado algunas variedades silvestres de frijol con líneas resistentes, las cuales actúan específicamente sobre *Z. subfasciatus* (Sánchez *et al.*, 1997). Guzmán *et al.* (1996), estudiaron 17 cultivares de frijol, a los cuales se les caracterizó la resistencia al ataque de *Z. subfasciatus*, encontrándose tres cultivares resistentes al daño del bruchido, Bayocel-1, Flor de Mayo Bajío y Bayo Victoria.

No obstante de que las semillas del frijol posean proteínas de defensa tales como inhibidores enzimáticos y metabolitos secundarios (alcaloides, saponinas), estas pueden ser atacadas. Esto se debe a que los insectos coevolucionan con sus fuentes alimenticias y en el curso de la evolución surgen

nuevas razas de insectos que les permite defenderse de los químicos naturales de las semillas (Chrispeels *et al.*, 1998).

La pérdida de la resistencia de un vegetal (silvestre o domestico) es un fenómeno natural, por lo que tarde o temprano biotipos de una plaga insectil irán adquiriendo las defensas necesarias para eliminar la acción tóxica que provocan los compuestos químicos producidos por las plantas (Díaz *et al.*, 1996).

Control físico-mecánico. En las áreas tropicales de algunos países de Centro América, así como también en México, el almacenaje hermético de granos para consumo humano es comúnmente empleado. Bajo condiciones de almacenaje hermético, los insectos sufren una situación estresante debido a la reducción de oxígeno lo que crea una desfavorable atmósfera para la sobrevivencia de los insectos (Moreno *et al.*, 2000). Los bajos niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> causan un estrés metabólico en los insectos, generalmente aumentando la mortalidad y disminuyendo la fecundidad y velocidad de desarrollo (Semple *et al.*, 1992).

Otro tratamiento físico-mecánico es por medio del calor. Consiste en calentar el edificio a una temperatura determinada (50-55 °C) por 20 ó 30 horas. Este tiempo permite que los materiales del edificio se expandan y se ajusten al cambio. Aunque los insectos de almacén mueren en menos de una hora a estas temperaturas, este tiempo tan largo es necesario debido a que el calor debe penetrar donde se podrían encontrar los insectos (Dowdy, 1999).

Sin embargo estos métodos de control no suelen ser costo-efectivos, debido que los contenedores o el equipo para calentar el edificio suelen ser muy costosos (Proctor, 1994).

Control químico. Es el método más usado en los almacenes de granos, entre los más empleados se encuentran los fumigantes (Matute, 1999). Últimamente



los fumigantes fosfaminas y el bromuro de metilo son ampliamente utilizados en el control de insectos de granos almacenados (Shaaya *et al.*, 1997).

El bromuro de metilo se ha usado como fumigante por alrededor de 60 años. Una importante propiedad del bromuro de metilo es que puede controlar un amplio número de plagas. Es usado contra insectos, ácaros, nematodos, roedores y patógenos (hongos, bacterias y virus). Sin embargo, el bromuro de metilo provoca efectos adversos en un gran número de mercancías, causando contaminación, manchados y olores desagradables (Ngigi y Ndalut, 2000). Además, es un producto altamente tóxico para el hombre y es uno de los causantes de los daños en la capa de ozono (Lee *et al.*, 2001). Por lo que se tomó la decisión en el 9<sup>no</sup> Protocolo de Montreal en 1997 de que el bromuro de metilo debe ser sacado del mercado para el 2005 en los países desarrollados y para el 2015 en los países en desarrollo (Haque *et al.*, 2000).

Las fosfaminas son gases que se emplean como fumigantes para la desinfestación de un gran número de insectos. En los últimos años se ha restringido el uso de este producto debido a la aparición de especies de insectos resistentes y por los efectos genotóxicos que se han observado en los trabajadores que están expuestos a este fumigante (Shaaya *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2001).

Otros insecticidas químicos empleados en el control de *Z. subfasciatus* se encuentran las piretrinas y el butóxido de piperonilo (Golob y Kilminster, 1982).

Sin embargo, el uso de insecticidas trae consigo serias desventajas, como desarrollo de generaciones resistentes, residuos tóxicos en los granos, inseguridad en el trabajo y aumento de costos (Cortez *et al.*, 1993).

### Insecticidas Botánicos

Los insecticidas químicos para el control de insectos se han empleado por más de 60 años de forma sistemática en la agricultura, lo cual ha permitido aumentar la producción de los productos agrícolas. Sin embargo, su uso desmedido a provocado una gran variedad de problemas como la contaminación ambiental, efectos tóxicos en humanos y organismos en general; así como resistencia de insectos al uso de estos productos (Cook y Armitage, 2000; Lee *et al.*, 2001).

Esto ha abierto las puertas para la búsqueda de nuevas alternativas en el control de insectos. Se han encontrado plantas con actividad insecticida sin producir los efectos antes mencionados. Estos productos y sus análogos son una fuente importante en la nueva agricultura química, porque se emplean en el control de insectos y enfermedades en plantas (Niber, 1994; Ley, 1990; Amadioha, 2000). La actividad insecticida se debe a la presencia de compuestos activos denominados metabolitos secundarios, que pueden interferir en el comportamiento, crecimiento y/o desarrollo de los insectos. La presencia de estos metabolitos se encuentra influenciada por diversos factores, tales como: el ambiente, la edad y la parte de la planta que se va a utilizar; por ejemplo, fruto, semilla, hojas, entre otros (Amadioha, 2000; Enriz *et al.*, 2000).

Los insecticidas de origen botánico ofrecen una fuente para el control de insectos y es una buena alternativa para disminuir la persistencia de los insecticidas sintéticos (Céspedes *et al.*, 2000). Son selectivos y son menos perjudiciales para el medio ambiente comparados con los insecticidas convencionales (Singh *et al.*, 1997). Son fácilmente disponibles y el costo es barato en países en desarrollo donde el empleo de insecticidas son escasos y caros para la mayoría de los agricultores (Amadioha, 2000; Haque *et al.*, 2000).

Los insecticidas botánicos constituyen el 1 % del mercado a nivel mundial, pero se espera que anualmente las ventas lleguen a crecer a una velocidad del 10-15 % debido a las nuevas normas regulatorias en el uso de

químicos y a la mentalidad del consumidor. El impacto de los insecticidas botánicos podría llegar a tener ventas cercanas al 25 % del mercado de insecticidas dentro de los próximos cinco años (Isman, 1997).

Entre las plantas más estudiadas, se encuentran las de la familia Meliaceae. Entre los miembros de esta familia que se han estudiado se encuentran los del género *Azadirachta*, *Swietenia*, *Cedrela*, *Melia*, *Toona*, *Trichilia* y *Guarea*; siendo los más importantes los del género *Azadirachta* y *Swietenia* (Champagne *et al.*, 1992; Da Silva *et al.*, 1999; Araiza, 2000; Céspedes *et al.*, 2000). Dentro de estos géneros las especies *Azadirachta indica* y *Swietenia humilis* han sido de gran interés debido a la presencia de compuestos activos llamados limonoides que se han encontrado tanto en semillas, hojas, corteza y frutos; y se caracterizan por una fuerte acción insecticida, antialimentaria, repelente y reguladora del crecimiento en un gran número de insectos (Schmutterer, 1990; Champagne *et al.*, 1992; Jiménez *et al.*, 1997; Araiza, 2000).

### **Árbol del Neem (*Azadirachta indica* A. Juss)**

El árbol del neem (*A. indica*) perteneciente a la familia Meliaceae es originaria de las zonas áridas de India y Pakistán (Ambrosino *et al.*, 1999). Fue introducido en las zonas áridas del continente Africano en el siglo pasado y actualmente crece en muchos países de Asia y en las regiones tropicales de América (Koul *et al.*, 1990; Kundu, 1999). En América se puede encontrar en la República Dominicana, Estados Unidos, Haití, México, Honduras, Cuba, Nicaragua, Brasil y las áreas tropicales y semi-tropicales de Centro y Sudamérica (Jacobson, 1983; Koul *et al.*, 1990).

La distribución del neem es limitada, debido a que es un árbol tropical y no se desarrolla en climas fríos (Walter, 1999). Prospera en suelos secos con carencia de nutrientes y tolera las altas temperaturas. Su habitat son regiones

entre los 50-100 metros sobre el nivel del mar y una precipitación de 130 mm por año es suficiente para un crecimiento óptimo (Koul *et al.*, 1990).

El árbol del neem se ha caracterizado por sus propiedades medicinales e insecticidas (Jacobson, 1989; Koul *et al.*, 1990; Kaura *et al.*, 1998). El neem ha sido empleado tradicionalmente como remedio en la medicina tradicional de la India desde tiempos antiguos (Nair *et al.*, 1997). Las propiedades medicinales han sido observadas tanto en las hojas, frutos, corteza y la semilla del árbol. El aceite de su semilla es usado como antiséptico, antimicrobial, control de bronquitis, enfermedades de la piel, cancer, enfermedades virales, entre otras (Koul *et al.*, 1990).

En épocas recientes ha surgido el interés en éste árbol por su actividad biológica contra un amplio número de insectos y patógenos (Kundu, 1999). Esta actividad se atribuye a la presencia de compuestos triterpenoides llamados limonoides, los cuales presentan actividad contra un gran número de plagas insectiles (Aerts y Mordue, 1997).

Aspectos botánicos. El árbol del neem es de madera resistente cubierto siempre de hojas verdes que puede alcanzar hasta los 30 m de altura (Walter, 1999). El tronco es recto y alcanza los 1.8 m, la corteza moderadamente gruesa; resistente y durable (Figura 4). Rara vez es atacada por termitas y puede emplearse en la manufactura de materiales, tales como, muebles y otros objetos de valor comercial (Jacobson, 1983; Koul *et al.*, 1990).

El árbol del neem es perenne por lo que sus hojas son usualmente de un color verde, pinnadas solas y pueden alcanzar los 30 cm de largo (Figura 4). Las flores se dan en racimos, son blancas y pequeñas apreciándose por todo el árbol (Schmutterer, 1990). La época de floración y fructificación varia de lugar en lugar (Kundu, 1999). En la India el neem florece de enero hasta abril y las frutas maduran de mayo a agosto (Koul *et al.*, 1990). Las frutas empiezan



**Figura 4.** Árbol del neem (*A. indica* A. Juss) localizado en la Plazuela Rosales en Culiacán, Sinaloa, México (2000).

a madurar aproximadamente 10 semanas después de la floración y son despojadas de la planta en la semana 15 (Sacandé *et al.*, 1998). La fruta es oval, y cuando madura es de un color amarillo (Figura 5), con una pulpa carnosa dulce que contiene una semilla (Ambrosino *et al.*, 1999). Las frutas son producidas en panículos inclinados usualmente una vez al año, algunas veces dos (Schmutterer, 1990). La producción de fruta seca por árbol oscila entre los 37 y 50 kg por año y los frutos empiezan a parecer cuando el árbol alcanza una edad cinco años (Koul *et al.*, 1990).

La semilla es oval con un endocarpio puntiagudo de color pálido de alrededor de 13 mm de largo (Vaughan, 1970). La drupa de la semilla consiste de un pericarpio carnoso con una cáscara delgada la cual encierra un grano rico en aceite (Koul *et al.*, 1990). La semilla contiene aproximadamente 30-45 % de aceite de sabor amargo e incomedible (Chinnasamy *et al.*, 1993; Kumar y Parmar, 1996). El grano, que se encuentra dentro de la semilla, es de color café y ocupa aproximadamente el 10 % del volumen total del fruto (Ambrosino *et al.*, 1999). Bajo condiciones naturales (temperaturas entre los 20-30 °C) y con la presencia de un suelo húmedo causado por las precipitaciones pluviales, las semillas germinan en el suelo a los pocos días después de haber caído del árbol (Sacandé *et al.*, 1998). En la naturaleza, las semillas son principalmente dispersadas por pájaros y animales (Kundu, 1999).

El árbol de neem presentan una variación considerable en anatomía, fisiología, morfología y características genéticas dependiendo de su zona geográfica. Su sobrevivencia y reproducción depende de las condiciones ambientales (Kaura *et al.*, 1998; Kundu, 1999).

Compuestos presentes en el neem. Desde la identificación de los primeros compuestos del neem en 1942, más de 300 constituyentes han sido aislados de diversas partes de la planta. Entre los que se incluyen: limonoides, hidrocarburos, ácidos grasos, esteroides, fenoles, flavonoides, aminoácidos,



**Figura 5.** Frutos del neem (*A. indica* A. Juss), localizados en la Plazuela Rosales en Culiacán, Sinaloa, México (2000).

calcio, fósforo, grasas, fibra cruda, cenizas, entre otros (Udayasekhara Rao, 1987; Jacobson, 1989; Koul *et al.*, 1990; Kumar *et al.*, 1996).

En el neem se encuentra una gran variedad de compuestos activos y solamente de su semilla se han aislado y caracterizado más de 300 compuestos, un tercio de los cuales son triterpenoides (limonoides), los que presentan actividad contra un gran número de insectos. Estos efectos se caracterizan por alterar su crecimiento, patrones alimenticios y reproductivos. Entre estos compuestos se encuentran la azadiractina, salanina y nimbina que se consideran entre los más activos por sus efectos contra insectos (Jacobson, 1989; Koul *et al.*, 1990; Schmutterer, 1990; Cohen *et al.*, 1996; Dai *et al.*, 1999).

Azadiractina. Es un limonoide triterpenoide compuesto por carbono, hidrógeno y oxígeno (Johnson y Morgan, 1997). Es el principal ingrediente activo que se encuentra en el neem, el cual fue aislado y identificado por Butterworth y Morgan en 1968 (Gerard y Ruf, 1995).

Es el compuesto activo más importante que se encuentra en las semillas del neem (Mordue y Blackwell, 1993). Sin embargo, sólo se hallan cantidades pequeñas de este compuesto en la semilla (Raguraman y Singh, 1999), con una producción promedio de 2-4 mg/g<sup>-1</sup> de azadiractina por peso seco del grano de la semilla (Eeswara *et al.*, 1998). La producción de azadiractina en el grano puede ser variable y depende del ecotipo de la planta, el área geográfica de origen y el ambiente (Kumar y Parmar, 1996; Eeswara *et al.*, 1998; Kaura *et al.*, 1998). También puede ser encontrada en menor cantidad en los tallos de las hojas, hojas y la cáscara de la semilla (Dai *et al.*, 2001).

La azadiractina posee una actividad disuasiva en la ovipostura y la alimentación; además, regula el crecimiento, fecundidad y reduce el estado físico en los insectos (Ley, 1990; Schmutterer, 1990; Mordue y Blackwell, 1993; Walter, 1999); sin embargo, sus efectos bioquímicos a nivel celular aún no se encuentran totalmente claros (Hoffmann y Lorenz, 1998).



En la actualidad la azadiractina es el mayor constituyente limonoide que se emplea en la agricultura para el control de más de 200 plagas insectiles (Mordue y Blackwell, 1993; Cohen *et al.*, 1996). Es un compuesto compatible con el ambiente, biodegradable, posee bajos niveles de toxicidad en mamíferos y una gran actividad insecticida (Kumar *et al.*, 1996). Sin embargo, la azadiractina es un compuesto difícil de aislar debido a la gran cantidad de limonoides con características similares que se hallan presentes en el neem (Johnson y Morgan, 1997).

Estas distintas propiedades contra los insectos, junto con la aparente carencia de efectos en organismos benéficos, sugiere que la biosíntesis de la azadiractina es un mecanismo de respuesta del neem a la presión de los insectos herbívoros (Aerts y Mordue, 1997).

Salanina. Es un compuesto limonoide triterpeno, el cual se considera el segundo compuesto activo más importante que se encuentra presente en las semillas de neem (Cohen *et al.*, 1996) y es el metabolito activo que más abunda en el aceite de neem (Raguraman y Singh, 1999). Al igual que la azadiractina, su contenido en las semillas puede variar dependiendo de las características geográficas, medio ambiente y genotipo del árbol (Kumar y Parmar, 1996).

Este compuesto limonoide actúa como agente antialimentario contra una gran variedad de insectos, tales como, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera litura*, *Musca domestica*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Earias insulana*, *Trichogramma chilonis* (Champagne *et al.*, 1992; Kumar y Parmar, 1996; Aerts y Mordue, 1997; Mitchell *et al.*, 1997; Raguraman y Singh, 1999; Suresh, 1997).

Diversos autores citan que la salanina también inhibe el crecimiento en algunos insectos (Jarvis *et al.*, 1997; Morgan *et al.*, 2000). Por ejemplo, Mitchell *et al.* (1997), citan que la salanina inhibe el desarrollo de *Heliothis virescens* y puede inducir malformaciones en *Aedes aegypti*, *Drosophila melanogaster* y

*Manduca sexta*, mediante la inhibición de la biosíntesis de la hormona ecdisona. Esta hormona, es una de las responsables de los procesos de muda y metamorfosis en los insectos (Hoffmann y Lorenz, 1998).

Se ha observado que la salanina no solo presenta actividad antialimentaria e inhibición de crecimiento sino también antifúngica. Este compuesto inhibe el crecimiento radial del hongo *Drechslera oryzae* (Govindachari *et al.*, 1998).

Nimbina. Fue el primer limonoide triterpenoide purificado de *A. indica*. Se encuentra presente por todo el árbol, en semillas, raíz, tronco y hojas (Jacobson, 1989). Aunque es en las semillas donde se encuentra en mayor cantidad (Jarvis *et al.*, 1997; Johnson y Morgan, 1997). Estas cantidades pueden variar entre árboles de neem y depende de la región, genotipo y medio ambiente donde se encuentre el árbol (Kumar y Parmar, 1996).

La nimbina presenta una actividad antialimentaria contra especies insectíles, tales como, *S. littoralis* y *S. litura* (Aerts y Mordue, 1997; Suresh, 1997).

La nimbina también induce inhibición de crecimiento en insectos (Jarvis *et al.*, 1997; Morgan *et al.*, 2000). Así como una inhibición en la biosíntesis de ecdisona en *A. aegypti*, *D. melanogaster* y *M. sexta*, lo que puede inducir a malformaciones o inhibición en el crecimiento de los insectos (Mitchell *et al.*, 1997).

También se ha demostrado que la nimbina posee una actividad antiviral (Ngigi y Ndalut, 2000). Mordue y Blackwell (1993), mencionan que la nimbina inhibe la replicación del virus X de la papa (PVX).

Modo de acción del neem. El éxito de los productos a base de neem se debe a que posee varias formas de acción contra los insectos. Actúa como disuasivo alimentario, regulador de crecimiento, deteriora el estado físico del insecto,

altera patrones de conducta, reproductivos y en algunos casos toxicidad. Estos efectos pueden variar entre especies de insectos y dependen de la concentración de los principios activos (Schmutterer, 1990; Mordue y Blackwell, 1993; Pietrosevoli *et al.*, 1999).

Aún cuando la azadiractina se considera el principio activo de las semillas del neem, la presencia de otros limonoides en los extractos provee un mayor aumento en la actividad biológica, que cuando se encuentra en estado puro la azadiractina (Mordue y Blackwell, 1993; Xie *et al.*, 1995; Dai *et al.*, 1999). En estudios recientes llevados a cabo se ha reportado que el 30 % de la eficacia asociada con los insecticidas de neem podría deberse en parte a seis limonoides, entre ellos la salanina y la nimbina, que se encuentran presentes en la semilla (Mitchell *et al.*, 1997).

Efecto antialimentario. Los limonoides presentes en el neem provocan una fuerte actividad antialimentaria debido a que afecta a los quimiorreceptores presentes en los insectos (Aerts y Mordue, 1997) y suprime la actividad de los quimiorreceptores alimenticios a través del sistema nervioso central del insecto o por efectos de conducta (disuasivo alimenticio) (Isman, 1999); sin embargo, los mecanismos moleculares de esta actividad se encuentran hasta el momento confusos (Enriz *et al.*, 2000).

La capacidad del neem como agente disuasivo alimenticio varía con las especies de insectos (Aerts y Mordue, 1997). Da Silva *et al.* (1999), indican que la azadiractina es uno de los más eficientes compuestos antialimentarios de origen vegetal contra especies de lepidópteros. Dosis de 1 a 50 ppm producen un efecto antialimentario en diferentes especies de lepidópteros (Leskovar y Boales, 1996; Foster y Harris, 1997). La actividad antialimentaria de la azadiractina para especies de los ordenes Homoptera, Coleoptera y Hemiptera; varían entre los 110 a 660 g/ha<sup>-1</sup> (Leskovar y Boales, 1996).

También se ha observado que el empleo de polvos de semilla y hojas de neem a dosis de 1 ó 2 % (por peso), mezcladas con granos provoca un efecto antialimentario en una gran variedad de insectos de almacén reduciendo el porcentaje de grano dañado (Jacobson, 1989).

Efecto repelente. La repelencia que producen los compuestos del neem contra los insectos se atribuye al estímulo químico que provoca en el insecto, para que este se oriente o se mueva lejos de la fuente que esta llevando a cabo el estímulo. En muchas situaciones el uso de repelentes de neem puede afectar un número de reflejos que involucran conductas, algunas veces secuencialmente o algunas veces simultáneamente (Jacobson, 1989). Esto se debe al efecto en los quimiosensores tanto olfatorios como gustatorios de los insectos (Xie *et al.*, 1995).

Las hojas del neem presentan una acción repelente contra un gran número de insectos y arácnidos, incluyendo ácaros de libros, langostas, hormigas blancas, cucarachas, moscas del ganado y insectos de almacén (Balandrin *et al.*, 1988).

Schmutterer (1990), menciona que en estudios bajo condiciones de laboratorio, al aplicar extractos de neem en plantas de repollo y algodón, encontraron repelencia en las hembras de algunos lepidópteros (*Crociodolomia binotalis*, *Helicoverpa armigera* y *Spodoptera frugiperda*), evitando así la ovipostura.

Efecto sobre la reproducción. Una de las funciones más importantes de los productos de neem en especial la azadiractina es la acción antihormonal por la cual puede reducir la fecundidad. Esto se ha observado en insectos adultos de coleópteros y en larvas de lepidópteros. El mencionado efecto no se observa

inmediatamente, sin embargo contribuye a una reducción de la población de la plaga en generaciones sucesivas (Isman, 1999).

Estudios de Di Ilio *et al.* (1999), demostraron que la azadiractina reduce significativamente la fecundidad debido a que interfiere con la oogenesis, lo que resulta en una completa e irreversible esterilidad de las hembras. Observaciones histológicas indican que la oviposición disminuye como resultado de un bloqueo de la actividad de los ovarios y el número de huevos depositados disminuye al aumentar la dosis de azadiractina. Datos similares fueron proporcionados por Adel y SehnaI (2000), ellos indican que el proceso de esterilización de la azadiractina podría deberse a los disturbios que provoca en el sistema neuroendocrino, encargado en la regulación de la reproducción.

Los extractos de neem disminuyen la emergencia de adultos de *H. armigera*, debido a la reducción en la fecundidad de los adultos y fertilidad de los huevecillos (Singh *et al.*, 1997).

Estudios *in vitro* en pupas de machos de *Mamestra brassicae* utilizando 3 ppm de azadiractina provoca una reducción en la fertilidad del insecto cuando llega al estado adulto debido a una degeneración de los espermatoцитos (Adel y SehnaI, 2000).

Las hembras de *Epilachna varivestis* que se alimentaron de hojas de frijol tratadas con extractos de semillas de neem al 0.25 % por tres días, ovopositaron menos de cuatro huevecillos por hembra comparado con los 16 huevecillos por hembra en el control (Lowery y Isman, 1996).

La mezcla de polvos de semillas u hojas de neem en arroz y maíz almacenados reduce la progenie de *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais*, *Cadra cautella* y *Sitotroga cerealella* debido a un disturbio en la fecundidad de los adultos (Jacobson, 1989).

Los extractos y polvos de semilla de neem reducen el porcentaje de ovoposición y emergencia de *Callosobruchus maculatus* en granos de caupi

almacenados por un periodo de varios meses (Makanjuola, 1989; Schmutterer, 1990).

Morfología. La evidencia disponible indica que los limonoides presentes en el neem actúa primariamente en el sistema nervioso donde altera la programación o interfiere con los mecanismos en la regulación de las neurohormonas (Mitchell *et al.*, 1997; Adel y Sehna, 2000).

Estas neurohormonas se encargan de la dosificación de la hormona juvenil y ecdisteroide; al bloquear los limonoides a estas neurohormonas, las cuales liberan peptidos relacionados con la morfogenética de los insectos provoca que la dosificación de la ecdisteroide y hormona juvenil disminuya, lo que induce probablemente a un crecimiento severo (malformaciones), una aberración en el proceso de muda y una interrupción o retardo del desarrollo larval (Jacobson, 1989; Aerts y Mordue, 1997; Mitchell *et al.*, 1997).

Cuando la azadiractina es ingerida o absorbida por las larvas de insectos, esta afecta el proceso de muda, previniendo que la larva se desarrolle hasta el estadio adulto (Leskovar y Boales, 1996). Además, se ha observado que tratamientos que contienen azadiractina en *Oncopeltus fasciatus* retardan o bloquean el proceso de muda en el insecto. En *Locusta migratoria*, la azadiractina inhibe la secreción de la ecdisteroide de las glándulas protorácicas (Adel y Sehna, 2000). En *Coccinella septempunctata* la azadiractina, provoca un retraso o bloqueo del estadio pupal, deformaciones en las alas y élitros en insectos adultos (Banken y Stark, 1997).

El aceite de semilla de neem inhibe el desarrollo larval de *Hypsipyla grandella*. La exuvia queda adherida a las larvas, formando una especie de barrera, la cual le impide mudar, causando la muerte del insecto (Mancebo *et al.*, 2000).

Polvos de semilla de neem al 1 % mezcladas con trigo y maíz almacenado provocan una interrupción o retardo del desarrollo larval de *Trogoderma granarium* y *S. oryzae* (Jacobson, 1989).

Estado físico. La azadiractina produce daños histopatológicos en los tejidos de muchos insectos, afectando músculos, cuerpos grasos, fisiología del intestino, ritmo biológico y a las células epiteliales de la cutícula del intestino de los insectos (Aerts y Mordue, 1997; Banken y Stark, 1997). Mordue y Blackwell (1993), señalan que la azadiractina provoca daños directos a los tejidos debido a su propiedad oxidante, induciendo a un deterioro físico del insecto.

Langostas adultas al ser tratadas con azadiractina, presentaron una reducción en la actividad locomotora y de vuelo (Mordue y Blackwell, 1993). Una dieta artificial a larvas de *Ceratitidis capitata* de 20 mg/kg de extractos de neem, induce al 78.8 % de esas mismas larvas pero en estadio adulto a una incapacidad de volar normalmente. Pietrosevoli *et al.* (1999), mencionan que las sustancias contenidas en el neem afectan las habilidades de saltar, escalar y volar.

Toxicidad. La toxicidad de los diferentes insecticidas a base de neem puede variar extremadamente dependiendo del contenido de aceite y la presencia de limonoides tales como la azadiractina. Los insecticidas de neem poseen toxicidad al contacto, pero es mayor la toxicidad por ingestión (Banken y Stark, 1997).

Los estudios de Lowery *et al.* (1993), indican que el contacto tóxico del neem no contribuye significativamente en la reducción en el número de insectos. Resultados similares son citados por Schmutterer (1990), en los cuales clasifica al neem como un producto con baja toxicidad al contacto. Sin

embargo, Balandrin *et al.* (1988), sugieren que el olor del polvo de las hojas de neem es fatal para insectos.

La rapidez del efecto tóxico del neem depende de la especie, la edad y el tamaño de la población de el insecto (Walter, 1999).

Entre los insectos que son más susceptibles a los efectos tóxicos agudos se encuentran las larvas de mosquitos, las cuales al contacto con extractos de semilla o azadiractina pura produce un efecto letal (Dunkel y Richards, 1998).

El neem en la protección contra plagas agrícolas. El árbol del neem se considera como una alternativa para el combate de insectos por poseer sustancias químicas con propiedades insecticidas. Se ha empleado como polvos, extractos acuosos y alcohólicos. Pero no solo presenta una actividad insecticida (Koul *et al.*, 1990; Mordue y Blackwell, 1993; Gutiérrez *et al.*, 1999), sino también fungicida (Zeringue Jr. y Bhatnagar, 1994; Govindachari *et al.*, 1998; Amadioha, 2000), nematocida (Larew, 1988; Grewal, 1989; Pietrosevoli *et al.*, 1999), viricida (Koul *et al.*, 1990; Chinnasamy *et al.* 1993) y bactericida (Cohen *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1998; Melathopoulos *et al.*, 2000). Sin embargo, su principal uso ha sido en el control de plagas insectiles (Mordue y Blackwell, 1993).

Las semillas y hojas del árbol del neem se han empleado tradicionalmente por siglos en el control de plagas en India (Isman *et al.*, 1990). Los productos derivados de las semillas los que han tenido mejores resultados en el control de insectos. Las tres principales formulaciones (polvo, extractos acuosos y aceite) obtenidos de las semillas de neem se utilizan extensamente para el manejo de plagas insectiles. Las formulaciones de polvos y aceites se emplean generalmente para la protección de granos almacenados. Las soluciones acuosas se usan más frecuentemente como spray en cultivos agrícolas (Lale y Abdulrahman, 1999).



El neem como protector de granos almacenados. El neem provee de una efectiva protección en productos de almacén, particularmente en granos. Los efectos van desde disuasivo alimentario y ovipostura, reducción en el número de huevecillos adheridos al grano y emergencia (Mordue y Blackwell, 1993). El grano tratado con neem interrumpe la alimentación del insecto debido a que el grano adquiere una forma no apetecible o atractiva y como consecuencia el crecimiento, sobrevivencia y reproducción del insecto son afectados (Xie *et al.*, 1995).

La mezcla de hojas secas de neem al 2 y 5 % con granos de trigo y arroz almacenados es una práctica que se ha usado por bastante tiempo en India y Pakistán para prevenir el ataque de insectos (Jacobson, 1989; Nair *et al.*, 1997). Diversos autores también han citado que el polvo obtenido de las semillas de neem provee de protección a los granos almacenados (Lale y Abdulrahman, 1999; Lale y Mustapha, 2000).

El uso de polvos de hojas de neem son efectivos repelentes contra un gran número de plagas de almacén, entre las que se mencionan, *C. cautella* y *C. maculatus* en semillas de cacao, *Sitophilus granarius* y *Rhyzopertha dominica* en trigo y *S. oryzae* en arroz (Jacobson, 1989). Sin embargo, otros estudios indican que las semillas de neem tienen un mayor efecto de repelencia al compararse con las hojas y flores en insectos de granos almacenados (Cortez *et al.*, 1993).

Los polvos de semilla de neem han sido reportados como agentes disuasivos contra insectos de granos almacenados, tales como, *R. dominica*, *S. oryzae*, *T. granarium* en trigo, *Tribolium confusum* y *S. zeamais* en maíz y *C. maculatus* en legumbres. En los granos tratados con neem se observa un menor daño en el grano, un crecimiento pobre y una ovipostura deficiente de parte de los insectos (Jacobson, 1989).

Niber (1994), menciona que los polvos de semilla de neem tienen actividad protectora en granos almacenados contra el ataque de *S. oryzae* y

*Prostephanus truncatus*.

Estudios realizados por Senguttuvan *et al.* (1995), en los que se mezclaron polvos de semilla de neem al 1 % con cacahuate almacenado contra *Corcyra cephalonica*, revelan que el número de adultos que emergieron y el porcentaje de grano dañado fue significativamente menor que el control.

En estudios de laboratorio en Togo, utilizando maíz rojo mezclado con polvo de semilla de neem a 20, 40, 80 g/kg y aceite de neem a concentraciones de 1, 2, 4 y 8 mL/kg, se observó una marcada reducción en el porcentaje de grano dañado causado por el ataque de *T. confusum* y *S. zeamais* (Semple *et al.*, 1992).

Las diferencias en cuanto a la efectividad del neem en productos almacenados depende de la especie de insecto, la mercancía almacenada y el periodo de almacenamiento del grano (Jood *et al.*, 1996).

### **Árbol del Venadillo (*Swietenia humilis* Zucc.)**

Se conoce en México como, venadillo, caobilla, gateado o zopilote. Se encuentra a lo largo de la costa del Pacífico en México y Centro América hasta Costa Rica (Salazar, 1998). En México se distribuye por todo el Pacífico cubriendo a los estados de Sinaloa, Guerrero, Colima, Michoacán y Chiapas (Segura *et al.*, 1993).

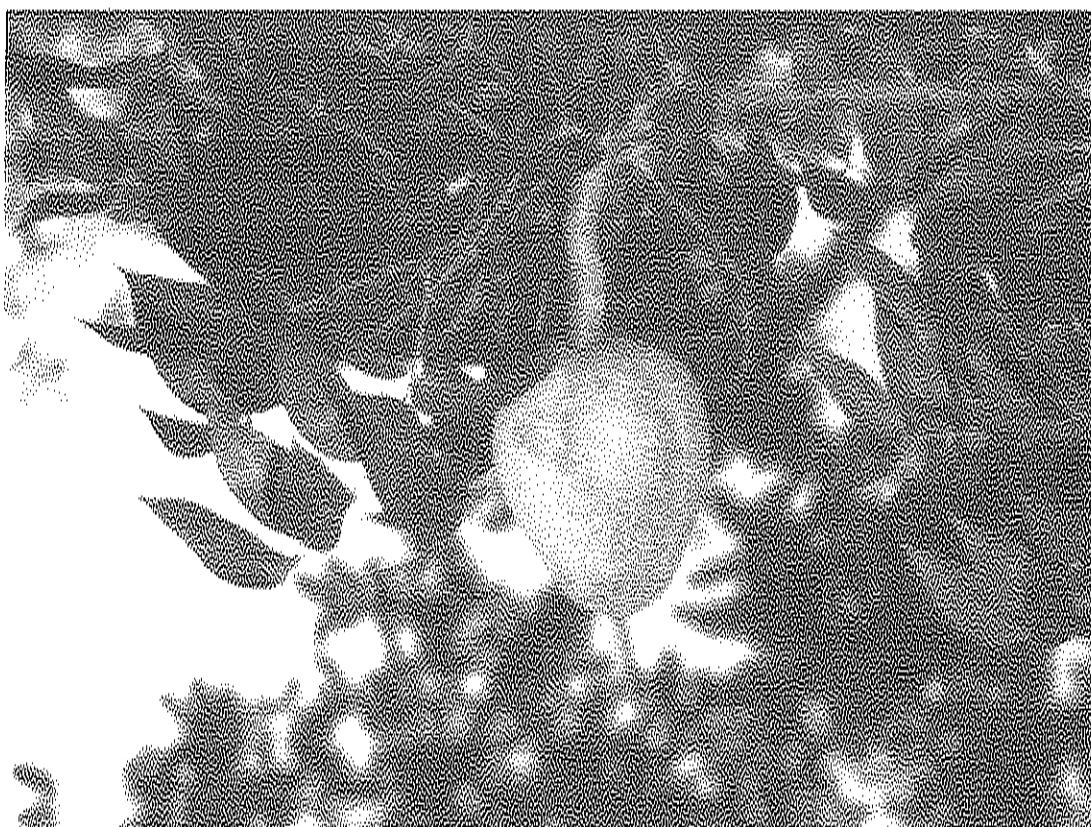
Es una especie que se encuentra en el bosque seco y húmedo tropical, en zonas planas de hasta 750 metros sobre el nivel del mar (Araiza, 2000). Presenta una mejor adaptación en los suelos ligeros, profundos y que se encuentren bien drenados, preferiblemente en los valles de la costa (Salazar, 1998).

Aspectos botánicos. Es un árbol monoico que alcanza alturas de hasta 25 m y hasta 100 cm de diámetro (Figura 6), su corteza es lisa y gris, su madera de color rojizo, rosada o amarillenta (Salazar, 1998). No es muy ramificado, las hojas son usualmente parapinnadas y raramente imparapinnadas, alternas, agrupadas al final de las ramas y algunas veces con folíolos terminales abortivos (Jiménez, 1999). Las ramas más jóvenes son de colores gris a café rojizo. Las hojas presentan lenticelas redondas protuberantes con pedúnculos de 7 a 15 cm de largo (Araiza, 2000).

Las flores son unisexuales, de las cuales solo una de la inflorescencia puede llegar a desarrollarse en fruto, las otras flores son abortadas aún cuando hallan sido polinizadas. El árbol florece cuando alcanza la edad de 5 a 7 años. La máxima producción de flores y frutos se da cuando el árbol tiene entre 15 y 25 años (Salazar, 1998). El fruto es una cápsula erecta u ovoide (Figura 7) algunas veces elongada-ovoide, de un color café claro-gris, de 8 a 20 cm de largo y de 10 a 12 cm de ancho (Jiménez, 1999). El fruto llega a producir hasta 50 semillas viables por fruto. La semilla es alada de color café de 5 a 7 cm de largo, la cual se dispersa por acción del viento (Salazar, 1998).



**Figura 6.** Arbol del venadillo (*S. humilis* Zucc) localizado en Culiacán, Sinaloa, México (2000).



**Figura 7.** Fruto del venadillo (*S. humilis* Zucc) localizado en Culiacán, Sinaloa, México (2000).

Compuestos activos. Investigaciones fitoquímicas han conducido al aislamiento de compuestos limonoides de estructura compleja formados por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, entre los cuales se encuentran los llamados humilínolides A-F, humilina B, swietenina C y swietemahonina C aislados principalmente de las semillas del venadillo. Estos compuestos se consideran los principios activos presentes en el venadillo (Segura *et al.*, 1993; Jiménez *et al.*, 1997; Jiménez *et al.*, 1998).

El venadillo en la protección contra plagas. Al igual que otros miembros de la familia Meliaceae, en el venadillo se encuentran limonoides que poseen un potente efecto en las plagas insectiles y baja toxicidad en organismos que no se consideran plagas (Segura *et al.*, 1993; Jiménez *et al.*, 1997).

Extractos de hojas de *S. humilis* son un disuasivo alimenticio e inhiben el crecimiento en *Peridroma saucia* (Jiménez *et al.*, 1997).

Extractos de semilla de venadillo al 1 % inducen a una disuasión en la alimentación del tercer instar larval de *Tenebrio molitor* (Segura *et al.*, 1993).

En estudios de Lagunes (1994), indica que los macerados de semilla de venadillo se considera como un método prometedor contra el gusano cogollero (*S. frugiperda*).

Jiménez *et al.* (1997), observaron que los compuestos presentes en el venadillo causan mortalidad en larvas de *Ostrinia nubilalis* así como también reducen el crecimiento y aumenta el tiempo de desarrollo de los sobrevivientes. El humilínolide D a 50 ppm provoca el 63.3 % de mortalidad en larvas de *O. nubilalis*.

La actividad de los limonoides presentes en el venadillo es comparable con la de otros insecticidas botánicos que se encuentran en el mercado tal es el caso del insecticida toosendanina, por lo que el venadillo pudiera ser considerado como un futuro insecticida botánico (Jiménez *et al.*, 1997).

Por otra parte, se ha observado que los extractos de la semilla de venadillo no solo presentan actividad insecticida, sino pueden también ser efectivos contra malezas. Compuestos humilínolides aislados de extractos de la semilla inhiben la elongación de la radícula de la maleza *Echinochloa crus galli* hasta en un 50 % (Segura *et al.*, 1993).

Usos del venadillo. La madera del venadillo es fuerte y resistente contra el ataque de hongos e insectos, por lo que se utiliza ampliamente en la ebanistería, carpintería y construcción en general (Mejía, 1996; Salazar, 1998). En el continente Americano representa una de las principales fuentes de maderas junto con otros miembros del género *Swietenia* (familia de las caobas) (Mancebo *et al.*, 2000).

El venadillo ha sido tradicionalmente empleado en la medicina naturista de México. Las semillas de esta planta son altamente valoradas por sus propiedades medicinales (Segura *et al.*, 1993). En el Estado de Nayarit a partir de las semillas se prepara un té contra el dolor de pecho. En Guerrero las semillas se usan contra la neurosis y la alopecia (Martínez, 1987). Los extractos o infusiones de la semilla también son usados como agentes antihelmíntico y para curar la amibiasis (Segura *et al.*, 1993).

20 millones de años en los lagos y océanos durante la etapa del eoceno y mioceno. Los depósitos pueden variar de grosor de pocos centímetros hasta cientos de metros, donde pueden encontrarse finamente laminado o masivamente (Korunic, 1998).

En años recientes y debido a la contaminación ambiental, el aumento en el costo de los insecticidas, además del problema de la resistencia de los insectos, los especialistas en el manejo de plagas de almacén han concentrado su interés en la tierra de diatomeas debido a que son seguras, no tóxicas y no dejan altos niveles de residuos, se ha permitido su uso en la mezcla con granos almacenados y en la industria de procesamiento de alimentos. En Estados Unidos son generalmente reconocidas como seguras por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) y están registradas para su uso como aditivo de alimentos (Golob, 1997). Al igual que la FDA la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) la considera segura para su uso en productos almacenados y en la industria de procesamiento de alimentos.

En 1981 la producción mundial de tierra de diatomeas fue de 1.5 millones de toneladas, el 40 % de los cuales provinieron del Oeste de los Estados Unidos. Otros importantes productores de tierra de diatomeas son Rusia, Francia, Alemania, Korea del Sur, Rumania, México, España, Islandia e Italia (Korunic, 1998).

Propiedades físicas y químicas de la tierra de diatomeas. La tierra de diatomeas está constituida por dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) de restos fosilizados de diatomeas de agua dulce y salada (Cook y Armitage, 2000). El  $\text{SiO}_2$  constituye cerca del 70-90 % del total de los compuestos presentes en la tierra de diatomeas, el resto son pequeñas cantidades de minerales, tales como, cristales de silicio, calcio, fósforo, azufre, níquel, zinc, manganeso, aluminio, óxido de hierro, magnesio, sodio, cal. Dependiendo del contenido de minerales es su color, el cual adquiere una tonalidad que va de blanco-gris a amarillo-rojo. (Golob, 1997;



Korunic, 1998; Fields y Korunic, 2000).-Existen dos tipos de formulaciones de tierra de diatomeas: las de agua dulce y las marinas. Las formulaciones marinas contienen una ligera concentración más alta de cristales de silicio (2 a 7 %) que la formulación de agua dulce (1 % o menos) (Korunic, 1998).

Las diferentes formulaciones de tierra de diatomeas pueden presentar una variación en la toxicidad. Esta variación se debe en gran parte a las características físicas del producto, las cuales dependen de la fuente donde se obtuvieron (Arthur, 2000 a; Arthur, 2000 b).

La tierra de diatomeas es preparada para su uso comercial por medio de canteras (en algunos casos), secado y molienda. El único cambio de la tierra de diatomeas durante este proceso es la reducción del contenido de humedad y el tamaño de partícula. El resultado de este proceso es un polvo fino tipo talco, con un tamaño de partícula promedio de 0.5 a 100  $\mu\text{m}$  (la mayoría entre 10 a 50  $\mu\text{m}$ ), con una alta capacidad de adsorción de aceites y con pequeñas cantidades de arcilla y otras impurezas. El pH que difiere de 4.4 a 9.2 dependiendo de la fuente y un contenido de humedad entre el 2 al 6 % (Korunic, 1997; Korunic, 1998).

La tierra de diatomeas es extremadamente estable y no produce residuos químicos tóxicos, ni tampoco reacciona con otras sustancias en el ambiente (Korunic, 1998).

Modo de acción. La teoría del mecanismo de acción de estos polvos contra insectos fue desarrollado en 1931, cuando Zacher y Kunike describieron el efecto "Zacher". El principal modo de acción es por deshidratación o desecación, debido a la pérdida de agua del cuerpo del insecto (Korunic, 1997). La tierra de diatomeas recubre la superficie del integumento del insecto ocasionando la deshidratación. Sin embargo, los detalles del mecanismo de deshidratación no son claros hasta el momento (Mewis y Ulrichs, 2001).

Otro de los mecanismos de acción es mediante la eliminación parcial de la cutícula externa del insecto (epicutícula) a través de la abrasión por resistencia de las partículas no adsorbentes, lo cual induce a que el insecto pierda agua de su cuerpo rápidamente causándole la muerte por desecación. (Glenn *et al.*, 1999). Cuando entran en contacto la tierra de diatomeas con adultos de *S. granarius*, *T. molitor* y *T. confusum*, inmediatamente provoca la pérdida de peso y reduce el contenido de agua de los insectos, aparentemente debido al rompimiento de la cutícula del insecto (Mewis y Ulrichs, 2001). Las partículas dañan a la cutícula a través de la adsorción de hidrocarburos presentes en la cutícula, lo que permite que el insecto no retenga agua y muera por deshidratación. Todas las partículas contienen pequeños poros internos los cuales tienen la habilidad física de absorber las moléculas cerosas (lípidos) de la cutícula de los insectos (Korunic, 1998). Los lípidos y las grasas son drenados de la cutícula y el insecto muere (Quarles, 1992). Cook y Armitage (2000), citan que los polvos inertes actúan contra los insectos adsorbiendo los elementos cerosos de la cutícula provocando la desecación.

El bloqueo del intestino posterior del insecto por la partículas inertes después de haber sido ingeridas, induce a una muerte ya que el insecto no digiere los polvos (Glenn *et al.*, 1999). La obstrucción de los espiráculos y tráquea provoca que no se lleve a cabo el intercambio de gases con el medio ambiente provocando la muerte en el insecto por falta de transpiración (Mewis y Ulrichs, 2001).

La tierra de diatomeas no afecta a los individuos que se desarrollan dentro del grano, sin embargo al salir del grano su acción de control es inmediata. Esto podría deberse a que la cutícula no se encuentra completamente endurecida y los hace más vulnerables al polvo (Cook y Armitage, 2000).

Cuando el insecto entra en contacto con la tierra de diatomeas aún después que se retire el insecto del grano sigue sufriendo los efectos de la exposición (Arthur, 2001).

Eficiencia contra insectos de granos almacenados. La tierra de diatomeas se considera como un candidato para reemplazar a los insecticidas en el control de plagas de almacén (Cook y Armitage, 2000). Las formulaciones comerciales de tierra de diatomeas se han usado en Estados Unidos desde hace más de 40 años para el control de insectos de granos almacenados (Arthur, 2001). Diversos estudios han demostrado que estas proveen una mejor protección a los granos almacenados que productos como el malation, un insecticida químico el cual es ampliamente usado en el control de plagas de almacén (Korunic, 1997).

Estos polvos inertes se han empleado para el control de un gran número de insectos de granos almacenados, entre los que se encuentran, *Oryzaephilus surinamensis*, *R. dominica*, *Tribolium castaneum*, *T. confusum*, *Cryptolestes ferrugineus*, *S. zeamais*, *S. granarius*, *Acarus siro*, *S. oryzae*, *T. molitor*, *P. truncatus*, *Acanthoscelides obtectus*, *C. maculatus* (Korunic, 1997; Korunic, 1998; Arthur, 2000 a; Cook y Armitage, 2000; Fields y Korunic, 2000; Arthur, 2001).

Golob (1997), cita que a dosis bajas de 0.05 % de tierra de diatomeas provocan el 100 % de mortalidad en *R. dominica* y *S. oryzae* a los siete días en condiciones de laboratorio. A dosis de 0.125 % de "Dryacide" (tierra de diatomeas modificada) en caupí y frijol, causan el 100 % de mortalidad en *C. maculatus* y *A. obtectus*.

Quarles (1992), señala que el frijol almacenado en sacos de 50 kg se puede proteger con cantidades tan pequeñas como 300 ppm de tierra de diatomeas.

Al aplicarse la tierra de diatomeas como un protector de superficie sin alimento (granos) a dosis de  $0.5 \text{ mg/cm}^2$ , en ensayos de laboratorio se obtiene el 100 % de mortalidad en *T. confusum* (Arthur, 2000 a). Mewis y Ulrichs (2001), demostraron que *T. confusum* y *T. molitor* en presencia de alimento mueren más lentamente que sin alimento. Fields y Korunic (2000), también mencionan que a dosis de 400 ppm producen el 92 % de mortalidad de *T. castaneum* en condiciones de laboratorio.

Tratamientos de laboratorio con dosis de 3 y  $5 \text{ g/kg}^{-1}$  en trigo, reduce las poblaciones de ácaros durante 23 semanas (Cook y Armitage, 2000).

La tierra de diatomeas es recomendado emplearla si el grano va a estar por largos periodos en el almacén y para ser usadas como parte de la estrategia en el manejo integrado de plagas en granos y en la industria de procesamiento de alimentos (Korunic, 1998; Chappell y Herbert, 2001).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico

Se emplearon granos de frijol mayocoba (*Phaseolus vulgaris* L.) de la cosecha 2000-2001, adquiridos en mercados locales.

*Zabrotes subfasciatus* Boh. Fueron adquiridos de una muestra de frijol infestada del mercado de la localidad y su identificación se llevó a cabo en el laboratorio de toxicología del CIAD A.C., Unidad Culiacán.

### Colecta de Plantas

Se recolectaron frutos de árboles de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en la Plazuela Rosales y semillas de venadillo (*Swietenia humilis* Zucc.) en Ciudad Universitaria ambos lugares en Culiacán, Sinaloa. La recolección de las semillas se hizo empleando el siguiente equipo: tijeras podadoras, bolsas de polietileno, etiquetas y guantes. Una vez seleccionados los frutos y las semillas se depositaron en bolsas de polietileno previamente etiquetadas.

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de toxicología del CIAD, A.C., Unidad Culiacán, donde se separaron y se seleccionaron las que se encontraban en mejor estado.

### Preparación de Polvos Vegetales

Para la preparación de polvos de semilla se empleó la metodología descrita por Lagunes (1994).

Con el propósito de obtener las semillas del neem, los frutos se despulparon manualmente, eliminando los restos de pulpa de la semilla. En el caso de la semillas de venadillo, dicho tratamiento no fue necesario, debido que las semillas se encuentran encerradas en una estructura alada tipo cáscara. Posteriormente, tanto las semillas de neem y venadillo, se almacenaron durante

15 días a la sombra para provocar la deshidratación. Una vez deshidratadas se les retiró la cáscara y los granos se trituraron en un molino marca Molino del Rey (1/2 HP) y se pasaron por un tamiz N° 40, marca W.S. Tyler, para homogenizar el tamaño de la partícula y obtener un polvo fino (Figura 8). Posteriormente, se guardaron en un frasco bien sellado a 4 °C hasta su utilización.

#### Tierra de Diatomeas

La tierra de diatomeas de la marca Agrobiosol fueron proporcionadas por investigadores de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

No se les aplicó ningún tratamiento previo antes de los bioensayos.

#### Cría de Insectos

La cría de *Z. subfasciatus* se llevó a cabo en el laboratorio de toxicología del CIAD, Unidad Culiacán, en condiciones de laboratorio.

Una población inicial de 200 parejas de insectos fueron colocados en cuatro frascos de vidrio que contenía 400 g de frijol mayocoba. Estos frascos fueron colocados en las mesas del laboratorio en condiciones de temperatura y humedad relativa ambiental en las cuales se llevó a cabo su ciclo reproductivo y biológico.

#### Evaluación de Polvos Vegetales de Neem y Venadillo

Las pruebas biológicas en esta investigación se realizaron añadiendo diferentes concentraciones de cada uno de los polvos de semilla de neem y venadillo: 0, 25, 50, 100, 250, 500 mg., en 50 g de frijol, para trabajar de esta manera con dosis de 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 y 1 % respectivamente.

Posteriormente, el frijol se infestó con 10 parejas del gorgojo *Z. subfasciatus* de 0-6 días aproximadamente en estadio adulto, y se etiquetó con la información del tratamiento respectivo. En cada uno de los tratamientos se realizaron ocho repeticiones. A los siete días después de la infestación se realizó el conteo de mortalidad de adultos. Posteriormente, a los dos meses de tratamiento se determinó la emergencia y el porcentaje de grano dañado de la primera y segunda generación de insectos (Figura 9) (Lagunes, 1987).

#### Evaluación de la Tierra de Diatomeas

Las pruebas biológicas en esta investigación se realizaron añadiendo diferentes concentraciones del polvo de tierra de diatomea: 0, 25, 50, 100, 250, 500 mg., en 50 g de frijol, para trabajar de esta manera con dosis de 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 y 1 % respectivamente. Posteriormente, el frijol se infestó con 10 parejas del gorgojo *Z. subfasciatus* de 0-6 días aproximadamente en estadio adulto, y se etiquetó con la información del tratamiento respectivo. Para cada uno de los tratamientos se realizaron ocho repeticiones. A los siete días después de la infestación se realizó el conteo de mortalidad de adultos. Posteriormente, a los dos meses de tratamiento se determinó la emergencia y el porcentaje de grano dañado de la primera y segunda generación de insectos (Figura 9) (Lagunes, 1987).

# Polvos Vegetales

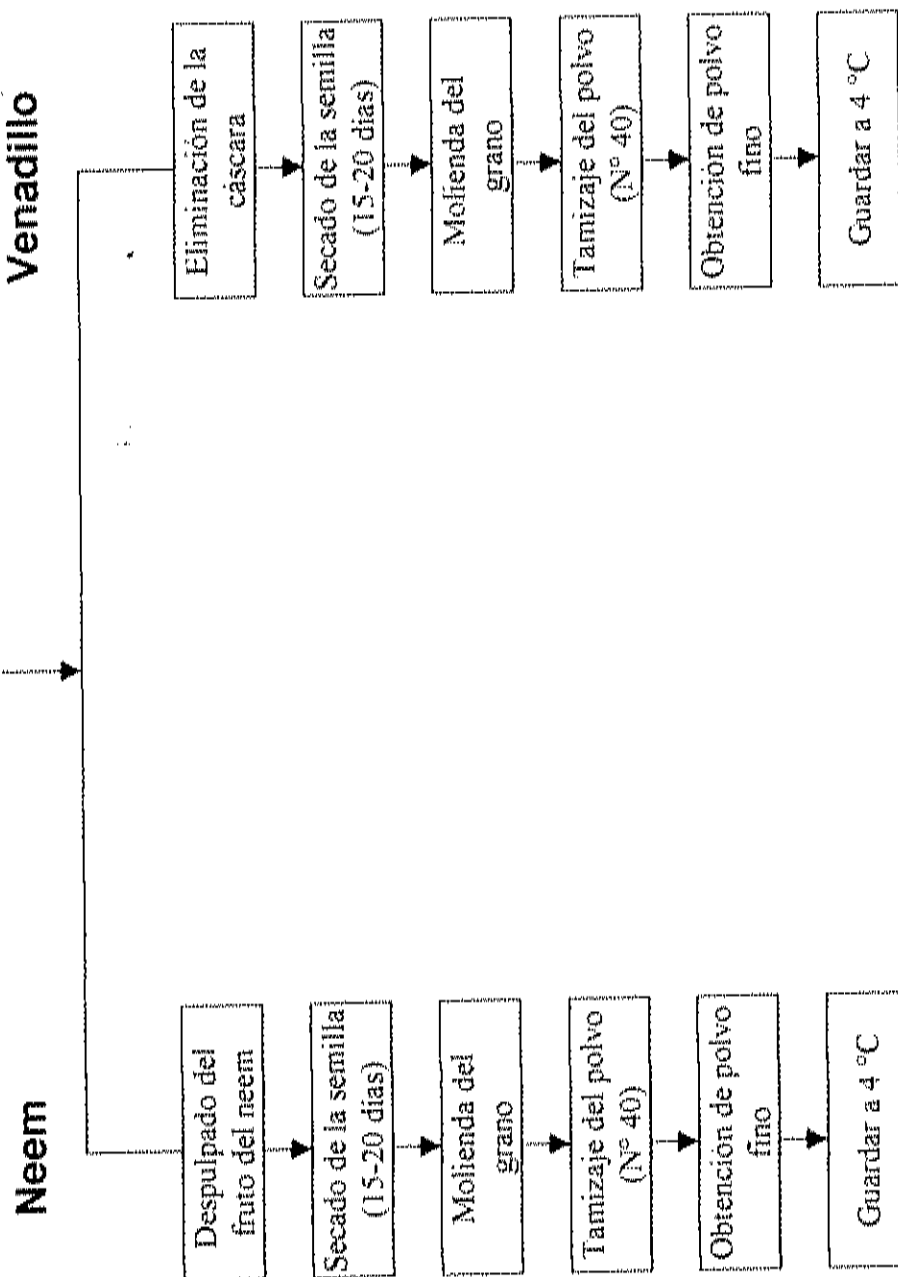


Figura 8. Procedimiento para la obtención de polvos de semilla de neem y venadillo (Lagunes, 1994).



# Evaluación de Polvos

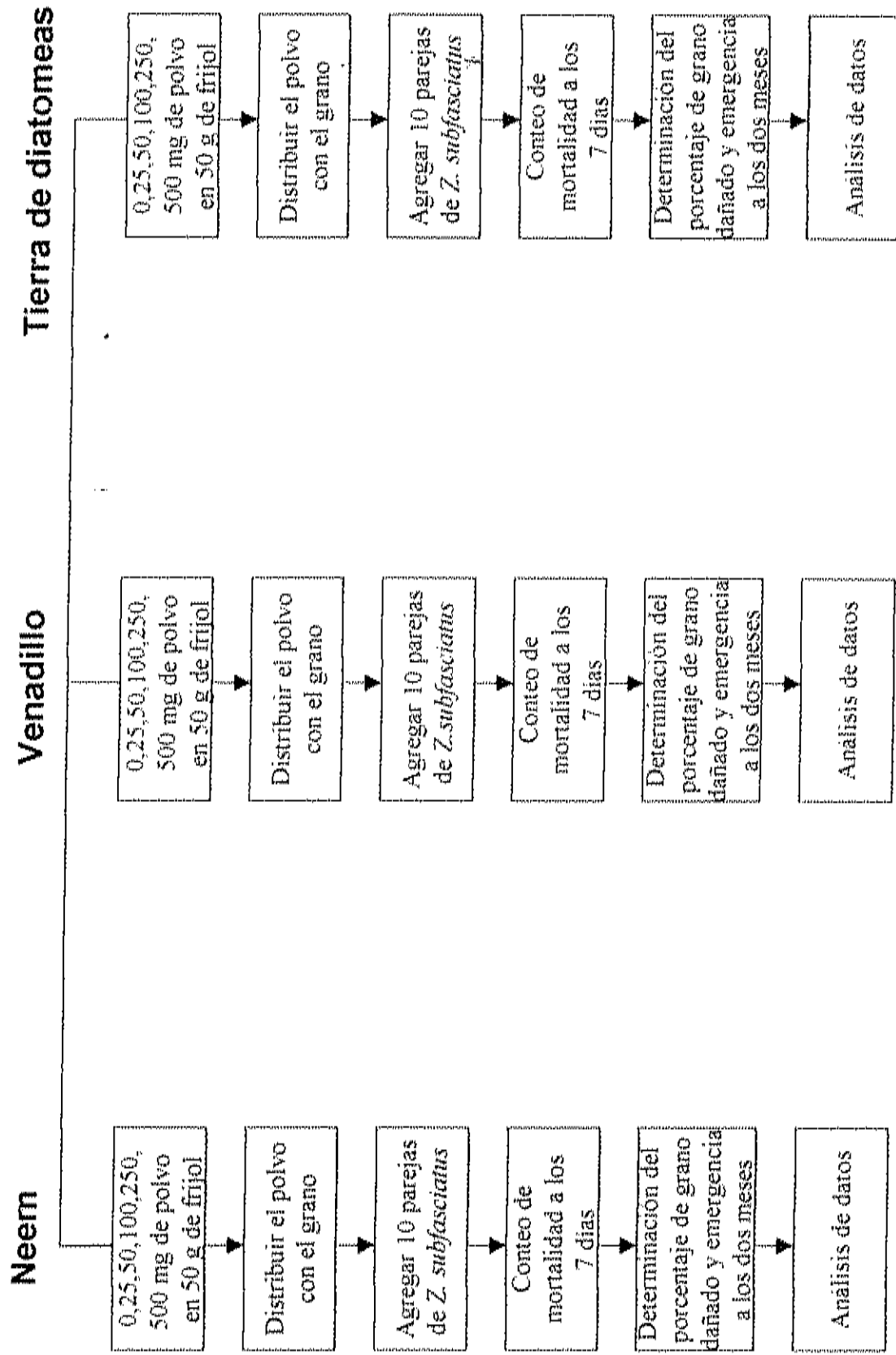


Figura 9. Evaluación de polvos de neem, venadillo y tierra de diatomeas en el control de *Z. subfasciatus* (Lagunes, 1987).

### Planteamiento Experimental

Se estableció un experimento factorial 3 x 6 cuyos factores y niveles fueron:

Factores	Niveles
A: Polvos de neem, venadillo y Tierra de diatomeas	$a_1 =$ Neem $a_2 =$ Venadillo $a_3 =$ Tierra de diatomeas
B: Concentraciones (%)	$b_1 =$ 0 (testigo) $b_2 =$ 0.05 $b_3 =$ 0.10 $b_4 =$ 0.20 $b_5 =$ 0.50 $b_6 =$ 1.0

### Diseño de Tratamientos

	Tratamiento
$a_1$	$b_1 = a_1 b_1$ ----- 1
	$b_2 = a_1 b_2$ ----- 2
	$b_3 = a_1 b_3$ ----- 3
	$b_4 = a_1 b_4$ ----- 4
	$b_5 = a_1 b_5$ ----- 5
	$b_6 = a_1 b_6$ ----- 6
$a_2$	$b_1 = a_2 b_1$ ----- 7
	$b_2 = a_2 b_2$ ----- 8
	$b_3 = a_2 b_3$ ----- 9
	$b_4 = a_2 b_4$ ----- 10
	$b_5 = a_2 b_5$ ----- 11
	$b_6 = a_2 b_6$ ----- 12

	$b_1 = a_3 b_1$ -----	13
	$b_2 = a_3 b_2$ -----	14
$a_3$	$b_3 = a_3 b_3$ -----	15
	$b_4 = a_3 b_4$ -----	16
	$b_5 = a_3 b_5$ -----	17
	$b_6 = a_3 b_6$ -----	18

### Diseño Experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con 8 repeticiones por tratamiento. Como unidad experimental se empleó un frasco de vidrio con 50 g de frijol, colocándose 10 parejas de *Z. subfasciatus*.

### Variables de Respuesta

Las variables de respuesta analizadas fueron las siguientes:

Mortalidad. La mortalidad observada en los tratamientos se evaluó de acuerdo a la ecuación de Abbott de 1925 (citada por Juvera *et al.*, 1995), para eliminar la mortalidad ajena al tratamiento:

$$\% MC = \frac{X - Y}{100 - Y} (100)$$

Donde:

MC = Mortalidad corregida (%)

X = Mortalidad de tratamiento (%)

Y = Mortalidad en el testigo (%)

Grano dañado. Para evaluar el porcentaje de grano dañado, se utilizó la siguiente ecuación de Abbott, 1925 (citada por Araiza, 2000):

$$\% \text{ GD} = \frac{X}{Y} (100)$$

Donde:

% GD = Porcentaje de grano dañado

X = Número de grano dañado en el tratamiento

Y = Número de grano dañado en el testigo

Emergencia. Para evaluar el porcentaje de emergencia, se utilizó la siguiente ecuación (Juvera *et al.*, 1995):

$$\% \text{ E} = \frac{X}{Y} (100)$$

Donde:

E = Emergencia (%)

X = Número de insectos emergidos en el tratamiento

Y = Número de insectos emergidos en el testigo

Los datos de mortalidad, grano dañado y emergencia fueron transformados al porcentaje de arco seno para aproximarlos a la distribución normal, y de esta manera cumplir con uno de los requisitos del análisis de varianza.

### **Análisis Estadístico**

El análisis estadístico comprendió el análisis de varianza para cada variable de respuesta y la comparación de medias se llevó a cabo mediante el método de Tukey con un nivel de significancia del 5 % .

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Evaluación de Polvos de Semilla de Neem

Se tomaron en cuenta las variables de mortalidad, grano dañado y emergencia para la evaluación del neem. Estas variables se determinaron empleando la fórmula de Abbott (1925) y para los niveles de significancia entre los tratamientos se empleó el paquete de diseños experimentales FAUANL (Olivares, 1994). Se decidió analizar los resultados del porcentaje de grano dañado y emergencia a los dos meses de exposición de los polvos contra el gorgojo mexicano del frijol (*Z. subfasciatus*) debido a que en dicho tiempo el testigo ya presentaba el 100 % de daño y emergencia.

#### **Mortalidad**

La Figura 10, ilustra el porcentaje de mortalidad contra el gorgojo del frijol mexicano con respecto a la cantidad de polvos de semilla utilizados como tratamientos a los siete días después de la aplicación. El tratamiento causante del mayor porcentaje de mortalidad fue el de 1 % con el 37.5 % de mortalidad; sin embargo, el testigo mostró también un alto porcentaje de mortalidad (35 %) en comparación con los demás tratamientos al 0.05, 0.1, 0.2 y 0.5 % con el 16.9, 16.2, 11.2, y 22.5 % de mortalidad respectivamente. Debido a esto como se observa en el Cuadro 1, el tratamiento al 1 % fue el único que se le determinó la mortalidad corregida; esto se debió a que los demás tratamientos estuvieron por debajo del porcentaje de mortalidad del testigo. Por ello, para determinar la diferencia entre las medias de cada tratamiento se tomó el porcentaje de mortalidad promedio de cada tratamiento. Estos resultados son similares a los obtenidos por Rodríguez y López (1999), quienes reportan que los polvos de semilla de neem al 1 % ocasionan un 17 % de mortalidad de *Z. subfasciatus*. Por lo tanto, estos resultados nos indican que el neem no posee

un efecto tóxico agudo en *Z. subfasciatus*. En este sentido, resultados similares han sido observados por otros autores en otras especies insectiles. Schmutterer (1990), clasifica al neem como una alternativa en el control de insectos con baja toxicidad al contacto. Además, en trabajos de Lowery *et al* (1993), muestran que el efecto tóxico agudo del neem no contribuye de manera significativa en la reducción de la población insectil. Sin embargo, estos datos difieren del trabajo de Niber.(1994), en los cuales reporta que polvos de semillas del neem al 1 y 10 % causaron el 60 % y 100 % de mortalidad en *S. oryzae* y *P. Truncatus*. Por lo tanto, el efecto tóxico que presente el neem dependerá en gran medida de la especie, la edad y tamaño de la población insectil (Walter, 1999).

En cuanto a las diferencias estadísticas entre tratamientos del neem, el Cuadro 1, muestra que el tratamiento al 1 % y el testigo producen un efecto de mortalidad significativa en comparación a los demás tratamientos.

**Cuadro1.** Porcentaje de mortalidad de *Z.subfasciatus* en granos tratados con polvos de semilla de neem.

Tratamiento (%)	Mortalidad Promedio (%) <sup>α</sup>	Mortalidad corregida (%)
Testigo	35 <sup>a</sup>	
P.S.N. 0.05	16.9 <sup>b</sup>	NC
P. S. N. 0.1	16.2 <sup>b</sup>	NC
P.S.N. 0.2	11.2 <sup>b</sup>	NC
P.S.N. 0.5	22.5 <sup>ab</sup>	NC
P.S.N. 1.0	37.5 <sup>a</sup>	3.8 <sup>+</sup>

\* NC <sup>^</sup> Dato no calculado.

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.N. Polvo de semilla de neem.

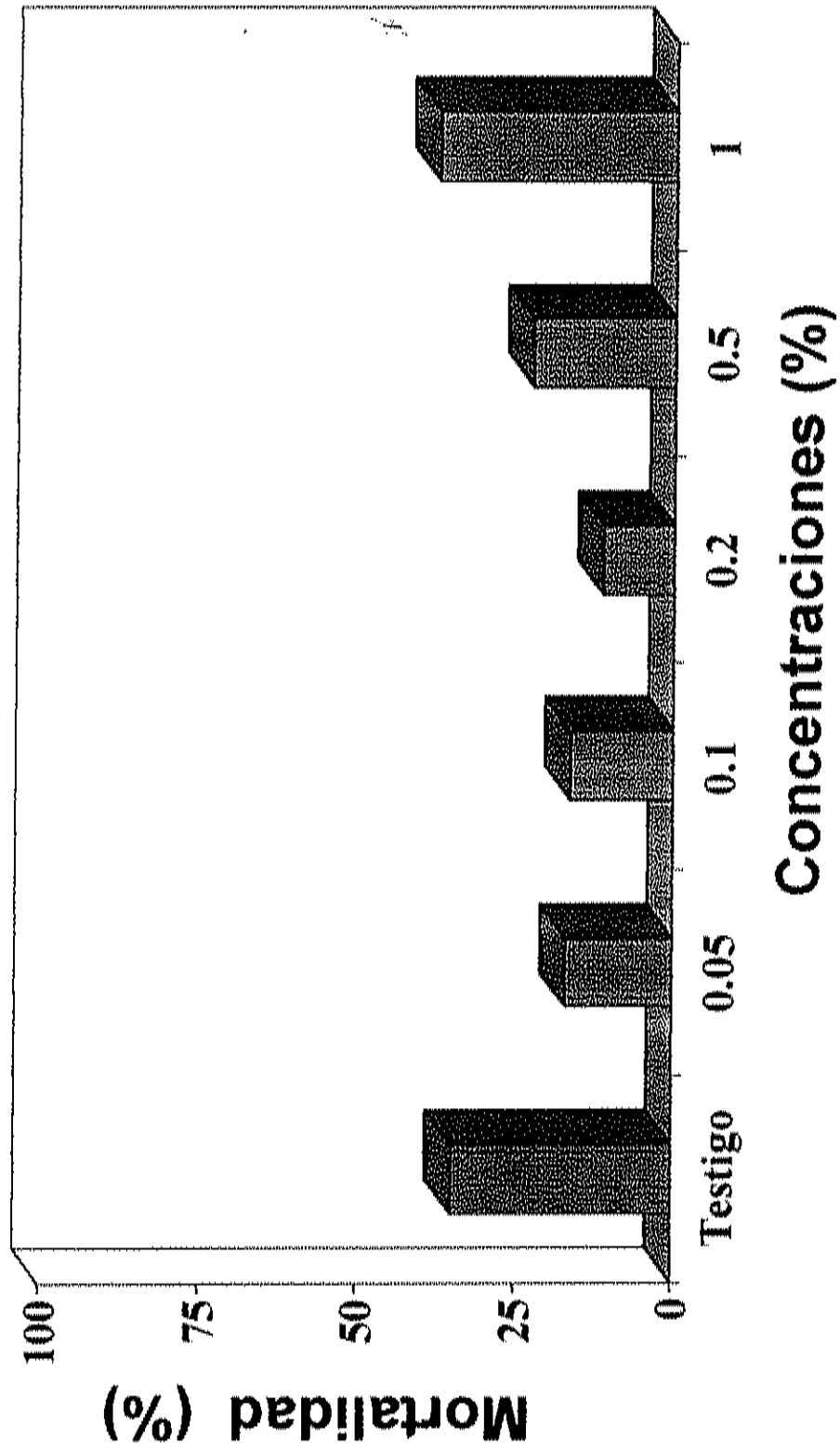


Figura 10. Porcentaje de mortalidad de *Z. subfasciatus* a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con polvos de semilla de neem.

## Grano dañado

En la Figura 11, se ilustra el efecto protector de los polvos de semilla de neem contra el daño producido por el gorgojo mexicano del frijol; se observa que a los dos meses de exposición, el tratamiento que presentó un mejor efecto contra *Z. subfasciatus* fue al 1 %; observándose un efecto protector del 99 %; sin embargo, en los tratamientos al 0.2 y 0.5 % solamente el 7.7 y 8.2 % del grano fue dañado por lo que pueden considerarse efectivos, no así en los tratamientos al 0.05 y 0.1 % que se observaron daños de un 72.6 y 54.5 % del grano respectivamente. Diversos autores han reportado que el neem posee un efecto protector en los granos almacenados al ataque de insectos, este efecto protector se debe a la acción repelente que induce el neem en los insectos al entrar en contacto con el grano. Los polvos de semilla de neem mezclados con granos de trigo al 1 o 2 % protege a los granos del ataque de *S. oryzae*, *R. dominica*, *T. granarium* y *C. maculatus* por alrededor de 9, 11, 13 y 11 meses respectivamente (Jacobson, 1989). Xie et al. (1995), citan que la mezcla de polvos de semillas de neem al 1 y 2 % con granos de trigo proporciona de 9-12 meses de protección contra el ataque de *T. granarium*, *S. oryzae* y *R. dominica*. En este sentido, Jood et al. (1996), observaron que la mezcla de granos de maíz con polvos de neem al 1 y 2 %, proporciona hasta 6 meses de protección contra el daño de larvas de *T. granarium*. Además, Rahim (1998), encontró que la mezcla de polvos de neem al 1 o 2 % con granos de trigo, redujo significativamente la alimentación de *R. dominica* y por consiguiente reduce el porcentaje del grano dañado de los 6 a 11 meses. Araiza (2000), reportó que el empleo de polvos de neem al 1 % protege durante dos meses a más del 90 % de los granos de maíz del ataque de *S. zeamais*.

Al comparar estadísticamente los tratamientos, en el Cuadro 2, se indica que no existe diferencia estadística entre los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 %, pero estos son significativamente mejores protectores que los tratamientos al



0.05 y 0.1 %; así mismo, estos últimos presentaron mayor eficacia que el testigo.

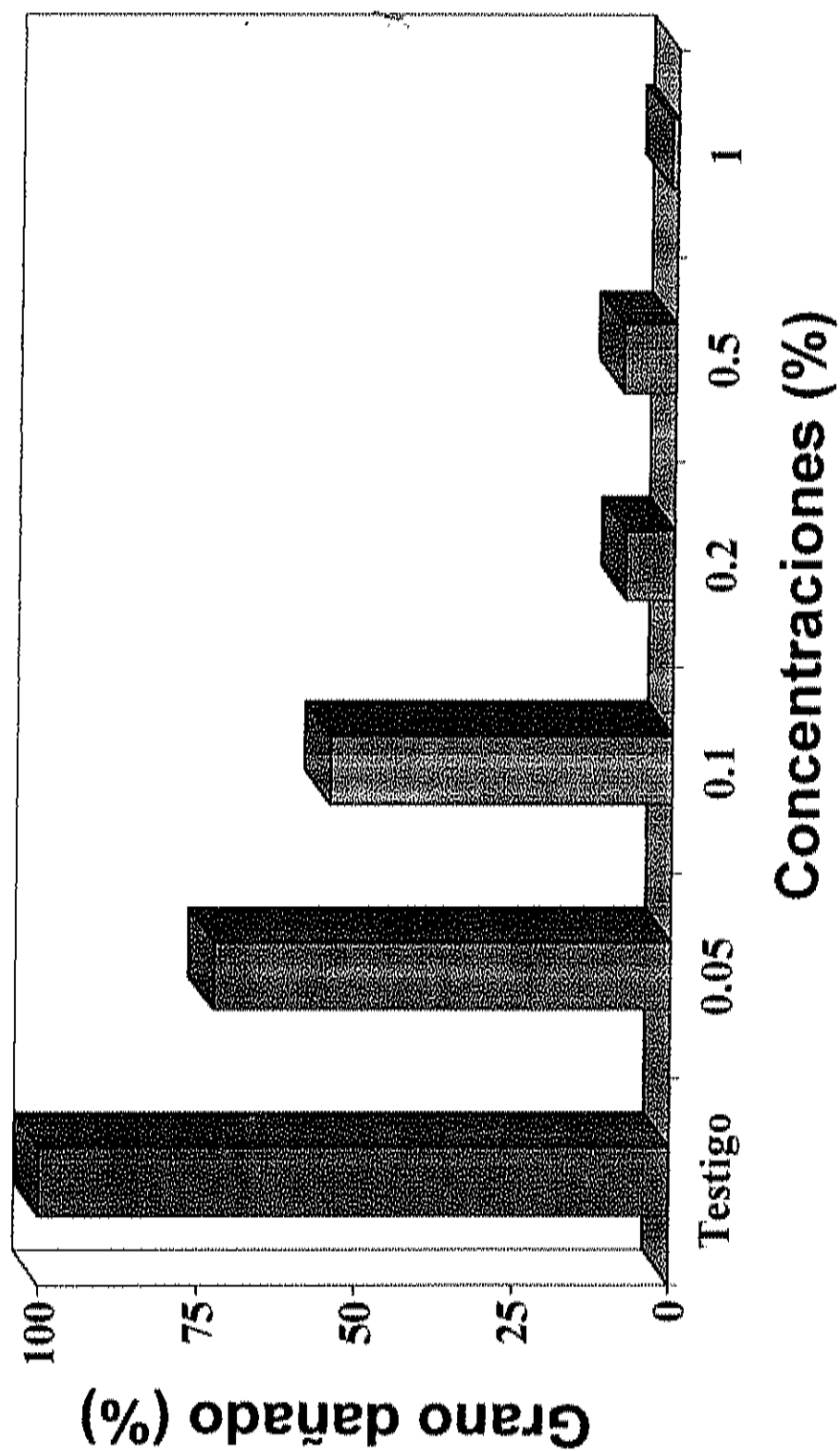
**Cuadro 2.** Porcentaje de grano dañado por *Z. subfasciatus* tratado con polvos de semilla de neem.

Tratamiento (%)	Grano dañado (%) <sup>† α</sup>
Testigo	100 <sup>a</sup>
P.S.N. 0.05	72.6 <sup>b</sup>
P.S.N. 0.1	54.5 <sup>b</sup>
P.S.N. 0.2	7.7 <sup>c</sup>
P.S.N. 0.5	8.2 <sup>c</sup>
P.S.N. 1.0	1.0 <sup>c</sup>

<sup>†</sup> Formula de Abbott (1925).

$\alpha$  Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.N. Polvo de semilla de neem.



**Figura 11.** Porcentaje de grano dañado por *Z.subfasciatus* a los dos meses de haber sido tratado con polvos de semilla de neem.

## Emergencia

La Figura 12 muestra el efecto de las concentraciones de polvos de semilla de neem contra la emergencia de *Z. subfasciatus*. Las poblaciones emergidas en las primeras dos generaciones en los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % fue menos del 4 % al compararla con la población emergida en el testigo. No así en los dos tratamientos restantes (0.05 y 0.1 %) en los cuales se observó un alto porcentaje de emergencia.

Estos datos son similares a los de otros autores que indican que uno de los principales efectos que produce el neem en los insectos es la acción antihormonal o repelente por lo cual se reduce la fecundidad de los insectos. Estos resultados no se observan inmediatamente; sin embargo, contribuyen a una reducción de las generaciones futuras. Por ejemplo, la mezcla de polvos de semilla de neem con maíz rojo al 2, 4 y 8 % repelen a *T. confusum* y *S. zeamais*, evitando que estos ovopositen en los granos (Jacobson, 1989). Además, Semple *et al.* (1992), comentan que en estudios en los cuales se emplearon polvos de semilla de neem a concentraciones de 0.5, 1 y 2 %, se reduce la capacidad de oviposición, prolonga el periodo larval y pupal, y reduce el porcentaje de emergencia de los insectos tratados. Lowery y Isman (1996), citan que la reducción en los niveles de oviposición que provocan los compuestos presentes en el neem podría deberse a la acción repelente. Rahim (1998), menciona que la mezcla de polvos de semilla con granos de trigo reduce significativamente la reproducción de *R. dominica* y en trabajos de laboratorio Lale y Abdulrahman (1999), indican que la mezcla de polvos de semilla de neem con semillas de caupí reduce significativamente la población de *C. maculatus*.

Al hacer la comparación entre tratamientos, el Cuadro 3, muestra que no existe una significancia en cuanto al número de insectos emergidos entre las concentraciones al 0.2, 0.5 y 1 %, pero sí con respecto a los otros dos tratamientos y el testigo.

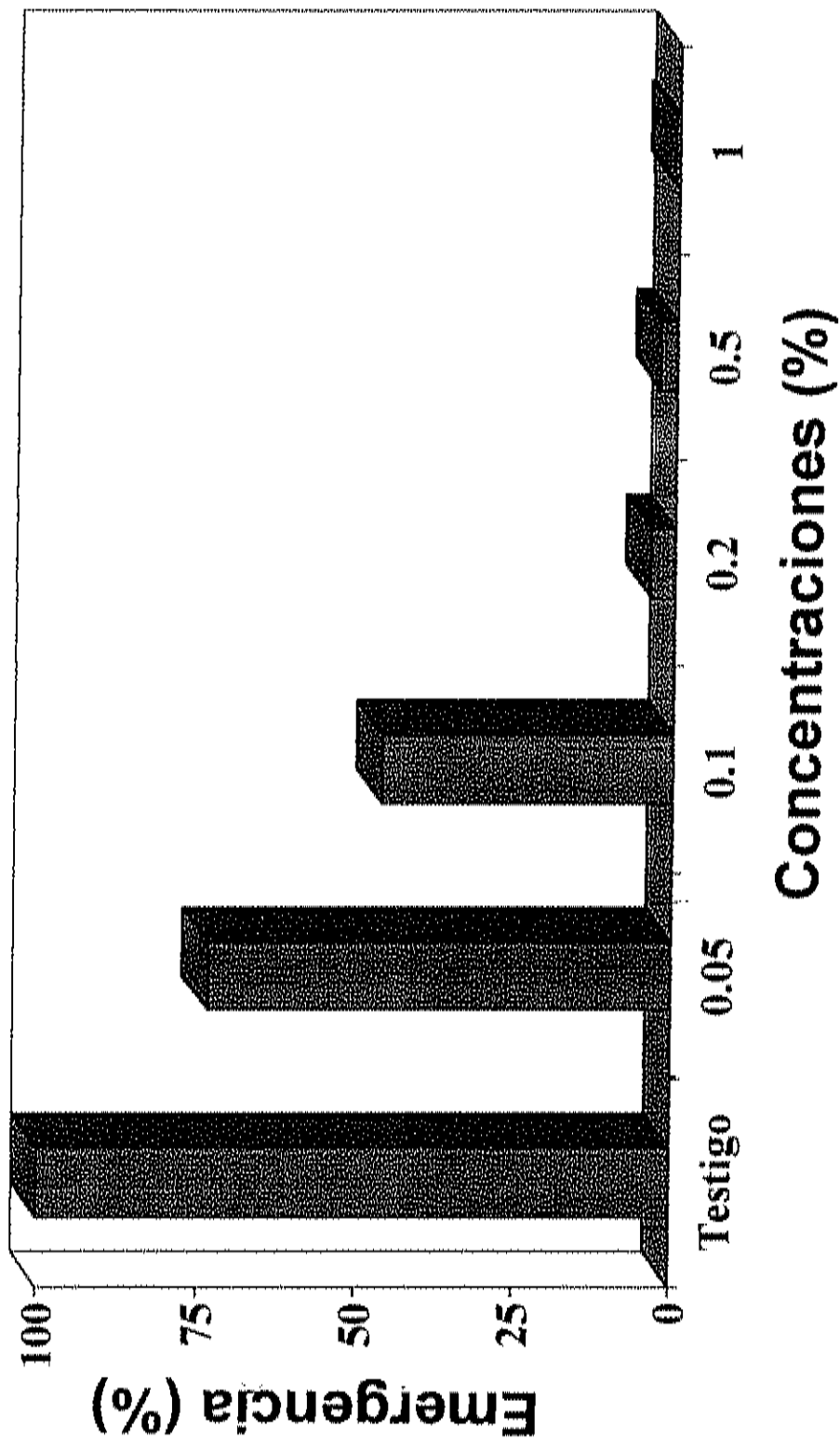


Figura 12. Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con polvos de semilla de neem.

**Cuadro 3.** Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* en granos tratados con polvos de semilla de neem.

Tratamiento (%)	Emergencia (%) <sup>+ α</sup>
Testigo	100 <sup>a</sup>
P.S.N. 0.05	73.4 <sup>b</sup>
P.S.N. 0.1	46.1 <sup>c</sup>
P.S.N. 0.2	3.9 <sup>d</sup>
P.S.N. 0.5	2.7 <sup>d</sup>
P.S.N. 1.0	0.6 <sup>d</sup>

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.N. Polvo de semilla de neem.

### Evaluación de Polvos de Semilla de Venadillo

Se tomaron en cuenta las variables de mortalidad, grano dañado y emergencia para la evaluación del venadillo. Las cuales se determinaron empleando la formula de Abbott (1925) y para los niveles de significancia entre los tratamientos se empleó el paquete de diseños experimentales FAUANL (Olivares, 1994). Se decidió analizar los resultados del porcentaje de grano dañado y emergencia a los dos meses de exposición de los polvos contra el gorgojo mexicano del frijol (*Z. subfasciatus*) debido a que en dicho tiempo el testigo ya presentaba el 100 % de daño y emergencia.

#### **Mortalidad**

En la Figura 13, se ilustra el porcentaje de mortalidad sobre los gorgojos expuestos a diferentes cantidades de polvos de semillas de venadillo. Los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % fueron los más prometedores, debido a que poseen un efecto altamente tóxico para los adultos de *Z. subfasciatus* con un porcentaje de mortalidad corregida del 79.8 y 100 %. En los tratamientos al 0.05 y 0.1 % no se pudo determinar la mortalidad corregida debido a que el número de insectos muertos en estos tratamientos fueron menor al testigo.

Estos resultados son similares a otros trabajos en los que se han empleado concentraciones de polvos vegetales al 0.5 y 1 % en el control de *Z. subfasciatus*. Por ejemplo, los trabajos de Weaver et al. (1994), sugieren que la mezcla de polvos de *Ocimum canum* al 1 % con frijol, causan el 100 % de mortalidad en adultos de *Z. subfasciatus* en 48 horas. En este sentido, Rodríguez y López (1999), al utilizar polvos de la raíz de chilca (*Senecio salignus*) al 0.5 y 1 % mezclados con granos de frijol, obtuvieron un 100 % de mortalidad en la misma especie insectil.

En el Cuadro 4, se muestra la diferencia estadística entre los tratamientos de polvos de venadillo, observándose que los tratamientos al 0.5 y

1 % con el 100 % de mortalidad de adultos de *Z. subfasciatus* no presentan diferencia significativa entre ellos. Sin embargo, estos tratamientos son significativamente más tóxicos que el resto de los tratamientos.

### **Grano dañado**

En la figura 14 se muestra la actividad protectora de los polvos de semilla de venadillo contra el daño a los granos de frijol ocasionados por *Z. subfasciatus*. Los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % fueron los que proporcionaron mayor protección a los granos. Al cabo de los dos meses, únicamente el 0.9 % del grano fue dañado en estos tratamientos, no así en los tratamientos al 0.05 y 0.1 %, en los que se observaron daños en un 92.5 y 31 % respectivamente. Araiza (2000), reporta que el empleo de polvos de semilla de venadillo al 1 % mezclados con granos de maíz, protege al grano del ataque de *S. zeamais* durante dos meses. Sin embargo, estos datos difieren de los de Lagunes (1987), en los cuales cita que los polvos de venadillo al 1 % no protegen del ataque de *P. truncatus* en ensayos de laboratorio. Por lo que la acción protectora del venadillo podría variar entre especies de insectos.

Al comparar estadísticamente los tratamientos, el Cuadro 5, muestra que no se encontró diferencia significativa en la protección del grano en los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 %, pero estos fueron significativamente mejores protectores al ataque de *Z. subfasciatus* que el resto de los tratamientos.

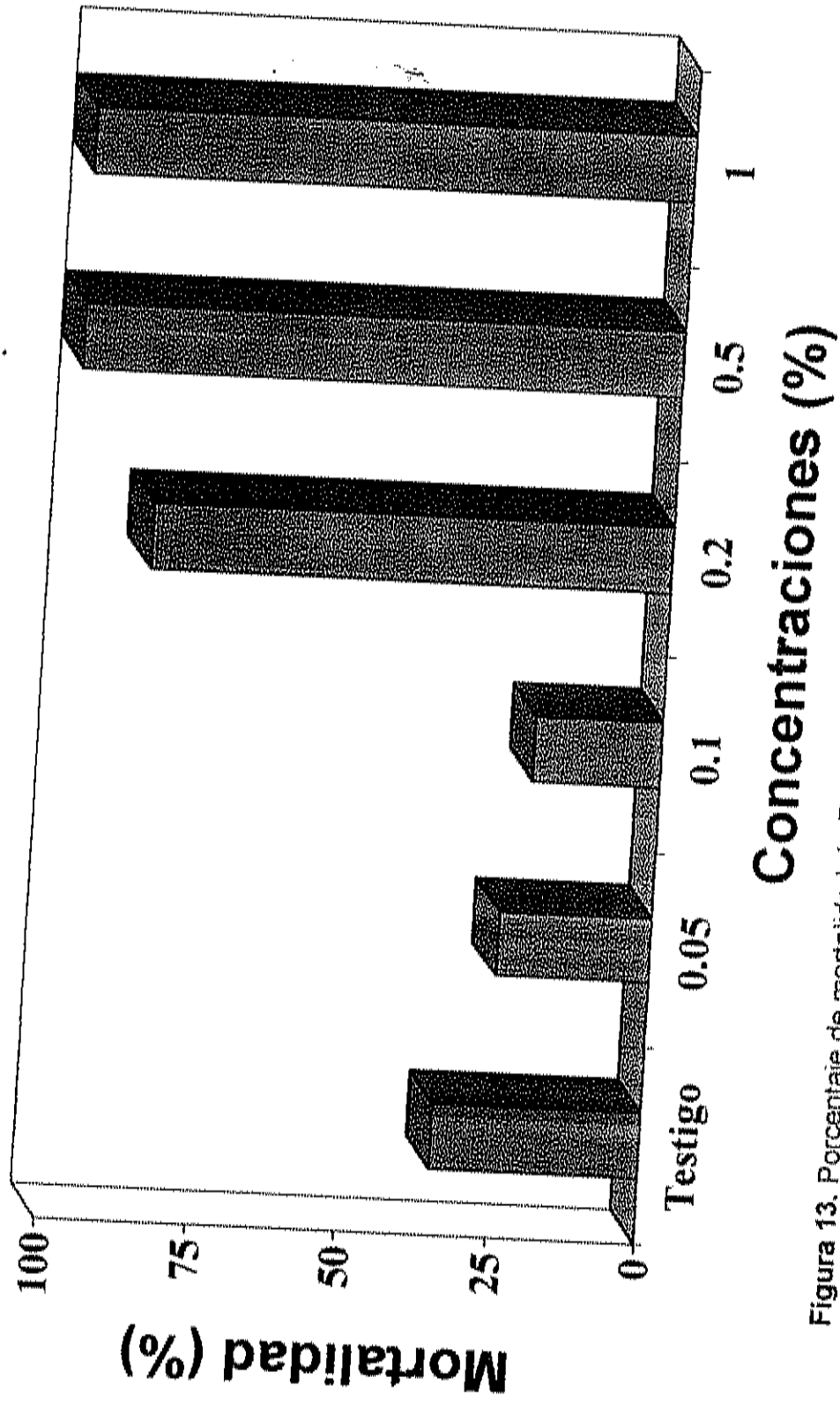


Figura 13. Porcentaje de mortalidad de *Z. subfasciatus* a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con polvos de semilla de venadillo.



**Cuadro 4.** Porcentaje de mortalidad de *Z. subfasciatus* en granos tratados con polvos de semillas de venadillo.

Tratamiento (%)	Mortalidad Promedio (%) <sup>α</sup>	Mortalidad corregida (%) <sup>†</sup>
Testigo	35 <sup>c</sup>	
P.S.V. 0.05	25.6 <sup>c</sup>	NC *
P.S.V. 0.1	21.2 <sup>c</sup>	NC
P.S.V. 0.2	86.9 <sup>b</sup>	79.8
P.S.V. 0.5	100 <sup>a</sup>	100
P.S.V. 1.0	100 <sup>a</sup>	100

\* NC <sup>h</sup> Dato no calculado.

<sup>†</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.V. Polvo de semilla de venadillo.

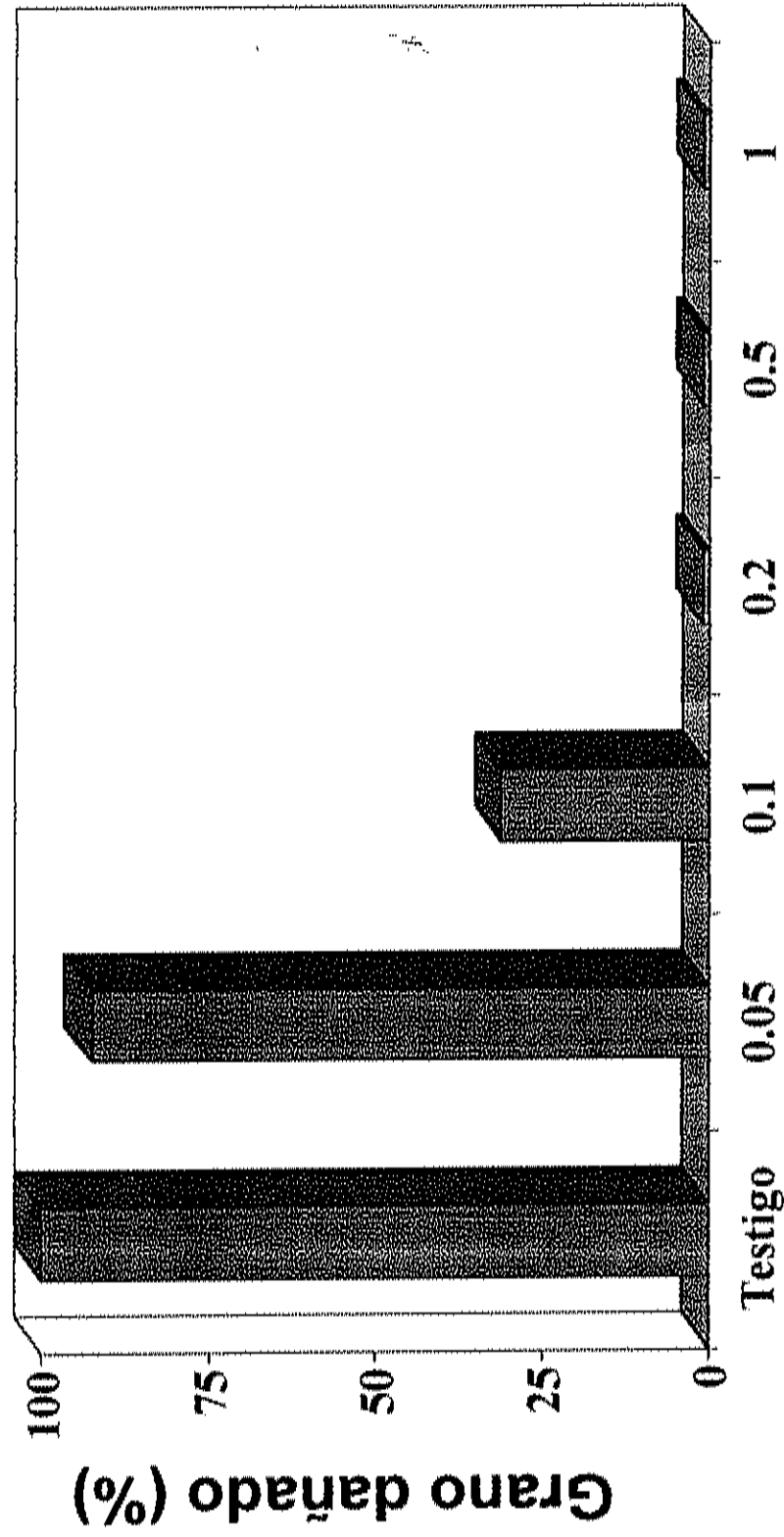


Figura 14. Porcentaje de grano dañado por *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber sido tratado con polvos de semilla de venadillo.

**Cuadro 5.** Porcentaje de grano dañado por *Z. subfasciatus* tratado con polvos de semilla de venadillo.

Tratamiento (%)	Grano dañado (%) <sup>+ α</sup>
Testigo	100 <sup>a</sup>
P.S.V. 0.05	92.5 <sup>a</sup>
P.S.V. 0.1	31.0 <sup>b</sup>
P.S.V. 0.2	0.9 <sup>c</sup>
P.S.V. 0.5	0.9 <sup>c</sup>
P.S.V. 1.0	0.9 <sup>c</sup>

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

$\alpha$  Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.V. Polvo de semilla de venadillo.

## Emergencia

La Figura 15, muestra que los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % son los mas prometedores en el control de la población de *Z. subfasciatus*, debido a que unicamente presentaron menos del 1 % de población emergida; sin embargo el tratamiento al 0.1 % también presente un bajo porcentaje de emergencia (6.9 %), no así en el tratamiento al 0.05 % en el cual ocurrió un 88.8 % de población emergente al compararlo con el testigo. Estos resultados fueron el reflejo del porcentaje de mortalidad y protección del venadillo en los granos de frijol al ataque de *Z. subfasciatus*.

Al hacer la comparación estadística de los tratamientos, en el Cuadro 6, se puede observar que no existe una diferencia significativa en el número de adultos emergidos entre los tratamientos al 0.1, 0.2, 0.5 y 1 %, pero estos si difieren significativamente en el número de insectos emergidos en relación al tratamiento al 0.05 % .

**Cuadro 6.** Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* en granos tratados con polvos de semilla de venadillo.

Tratamiento (%)	Emergencia (%) <sup>+ α</sup>
Testigo	100 <sup>a</sup>
P.S.V. 0.05	88.8 <sup>a</sup>
P.S.V. 0.1	6.9 <sup>b</sup>
P.S.V. 0.2	0.5 <sup>b</sup>
P.S.V. 0.5	0.6 <sup>b</sup>
P.S.V. 1.0	0.5 <sup>b</sup>

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.V. Polvo de semilla de venadillo.

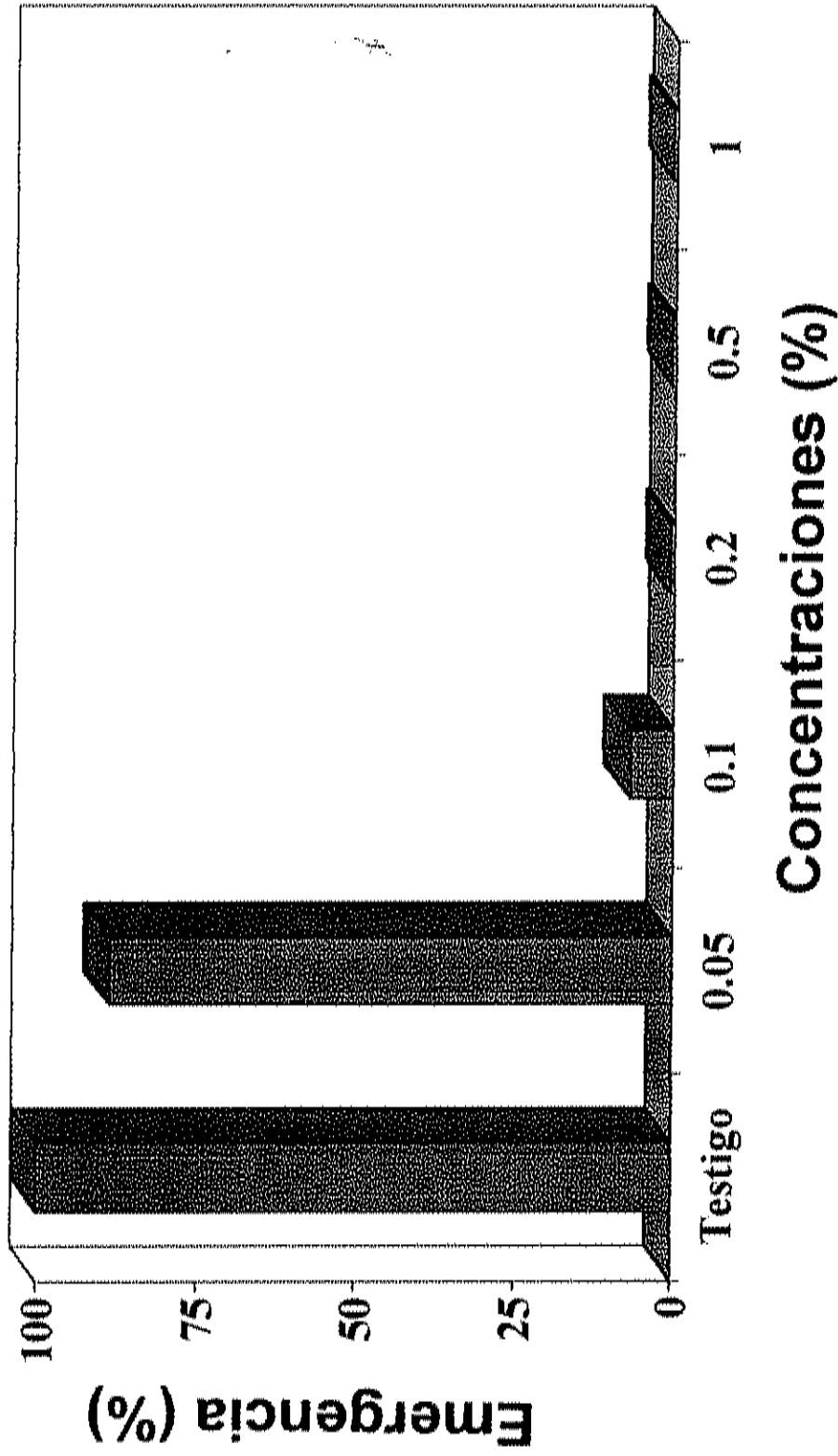


Figura 15. Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con polvos de semilla de venadillo.

### Evaluación de la Tierra de Diatomeas

Se tomaron en cuenta las variables de mortalidad, grano dañado y emergencia en la evaluación de la tierra de diatomeas. Estas se determinaron empleando la fórmula de Abbott (1925) y para los niveles de significancia entre los tratamientos se empleó el paquete de diseños experimentales FAUANL (Olivares, 1994). Se decidió analizar los resultados del porcentaje de grano dañado y emergencia a los dos meses de exposición de los polvos contra el gorgojo mexicano del frijol (*Z. subfasciatus*) debido a que en dicho tiempo el testigo ya presentaba el 100 % de daño y emergencia.

#### **Mortalidad**

La tierra de diatomeas resultaron muy prometedoras en el control de *Z. subfasciatus* en todas las dosis que se aplicaron. En la Figura 16 se observa que los mejores tratamientos fueron las concentraciones al 0.2, 0.5 y 1 %, las cuales provocaron el 100 % de mortalidad corregida entre los insectos, los otros dos tratamientos al 0.05 y 0.1 provocaron el 86.3 y 94.1 % de mortalidad corregida respectivamente. Estos resultados son similares a los presentados por otros autores que citan que la tierra de diatomeas poseen un efecto de mortalidad a dosis relativamente bajas. Golob (1997), sugiere que dosis por arriba del 0.15 % de tierra de diatomeas mezcladas con los granos inducen a una mortalidad del 100 % en insectos adultos. La aplicación de  $0.3 \text{ g/kg}^{-1}$  de tierra de diatomeas bajo determinadas condiciones, puede producir el 100 % de mortalidad de *T. castaneum* después de 21 días de haber aplicado el tratamiento (Korunic, 1998). En este sentido, Fields y Korunic (2000), sugieren que la aplicación de 30 mg/g de tierra de diatomeas provoca el 100 % de mortalidad en *C. ferrugineus* y además a dosis de 60 mg por gramo de grano induce un 97 % de mortalidad en *S. oryzae*. Cook y Armitage (2000), citan que la mezcla de tierra de diatomeas a dosis de  $1 \text{ g/kg}^{-1}$  con granos de trigo

producen el 99.99 % de mortalidad de *S. granarius* después de cuatro semanas de haber sido tratados los granos.

El Cuadro 7, muestra que los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % no presentan una diferencia significativa en cuanto mortalidad de insectos, pero estas dosis son significativamente más letales que las dosis a 0.05 y 0.1 % contra *Z. subfasciatus*.

**Cuadro 7.** Porcentaje de mortalidad de *Z. subfasciatus* en granos tratados con tierra de diatomeas.

Tratamiento (%)	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%) <sup>† α</sup>
Testigo	35 <sup>c</sup>	
T.D. 0.05	91.2 <sup>b</sup>	86.3 <sup>b</sup>
T.D. 0.1	96.2 <sup>ab</sup>	94.1 <sup>ab</sup>
T.D. 0.2	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
T.D. 0.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
T.D. 1.0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>

<sup>†</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

T.D. Tierra de diatomeas.

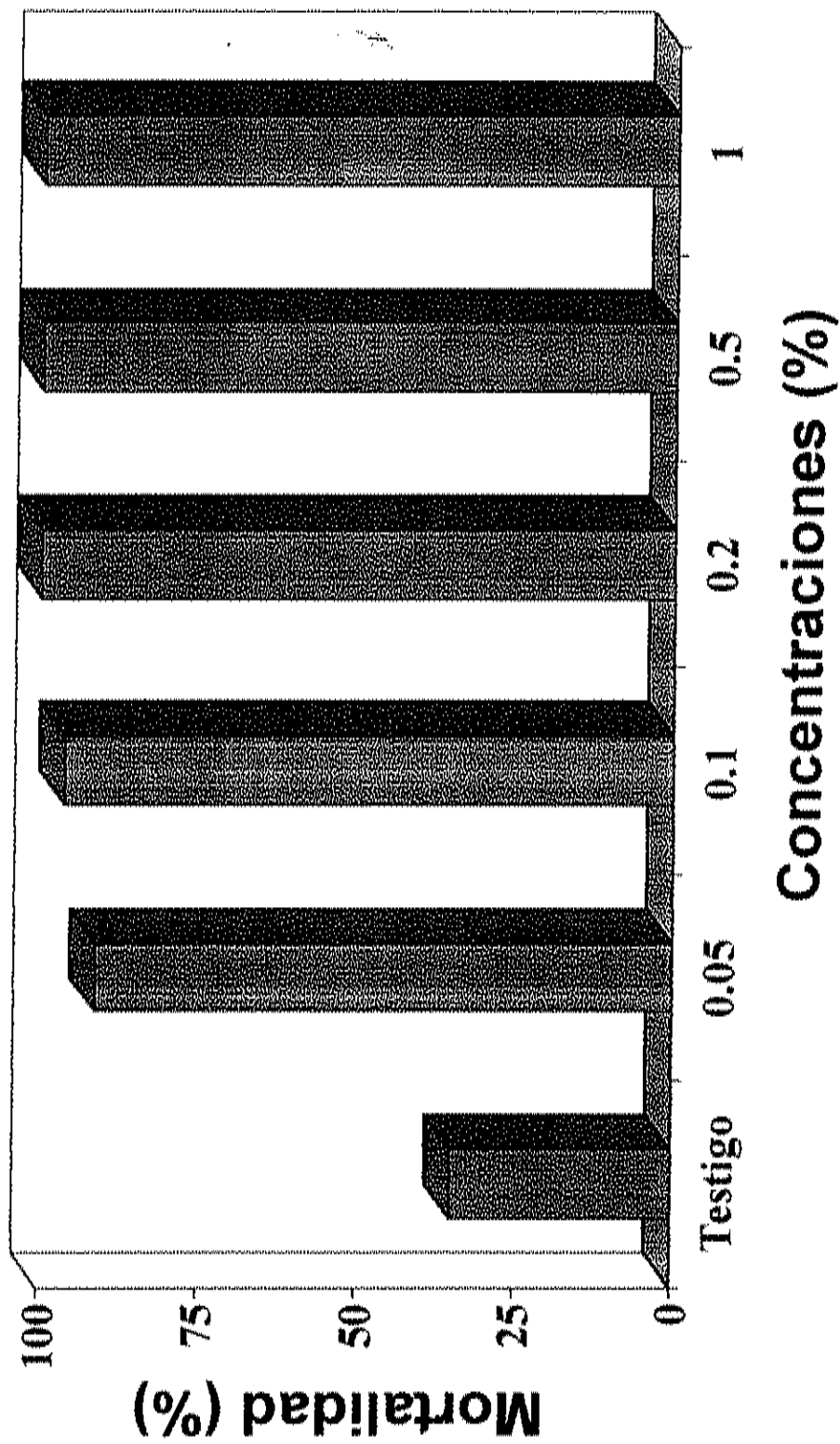


Figura 16. Porcentaje de mortalidad de *Z. subfasciatus* a los siete días de haber sido tratados los granos de frijol con tierra de diatomeas.



## Grano dañado

La Figura 17, ilustra el efecto protector de la tierra de diatomeas. En dicha figura se observa que a los dos meses de exposición, los tratamientos al 0.2, 0.5 y 1 % proporcionaron un mejor efecto protector contra *Z. subfasciatus*, con menos del 1 % del grano dañado, no así en los tratamientos al 0.05 y 0.1 %, en los que se observaron daños de un 71.6 y 10.5 % respectivamente. Este efecto se debe en gran medida a la alta mortalidad mostrada en los primeros días que se aplicaron los tratamientos lo que permitió que las hembras de *Z. subfasciatus* no alcanzaran a ovopositar. Aun cuando algunas de las hembras lograron ovopositar, al emerger los nuevos adultos y entrar en contacto con la tierra de diatomeas sufrieron al instante sus efectos.

Al comparar estadísticamente estos tratamientos no se encontró una diferencia significativa en cuanto al porcentaje de grano dañado en los tratamientos al 0.1, 0.2, 0.5 y 1 %, pero sí fueron significativamente mejores protectores que el tratamiento a 0.05 como se observa en el Cuadro 8.

## Emergencia

Los tratamientos con tierra de diatomeas resultaron ser efectivos en cuanto a la disminución en el número de insectos emergidos. En las dosis al 0.2, 0.5 y 1 % emergieron menos de 1 % de insectos y a dosis del 0.1 emergieron el 5.4 %. En concentraciones de 0.05, emergieron más del 56.2 % de insectos en comparación con el testigo, como se observa en la Figura 18. Estos resultados son similares a los presentados en los estudios de Cook y Armitage (2000), en los que a dosis de 1-5 g/kg<sup>-1</sup> de tierra de diatomeas en trigo, la primera generación de *A. siro* fue inhibida en un 99 %. En este mismo estudio pero a concentraciones de 3-5 g/kg<sup>-1</sup>, inhibieron el 100 % la población de *Tyrophagus putrescentiae* y *Lepidoglyphus destructor*.

En el Cuadro 9, se puede observar que no existe una diferencia estadística entre el número de adultos emergidos en los tratamientos al 0.1, 0.2, 0.5 y 1 %, pero son significativos al compararlos con el número de insectos emergidos en el tratamiento a 0.05 % y el testigo.

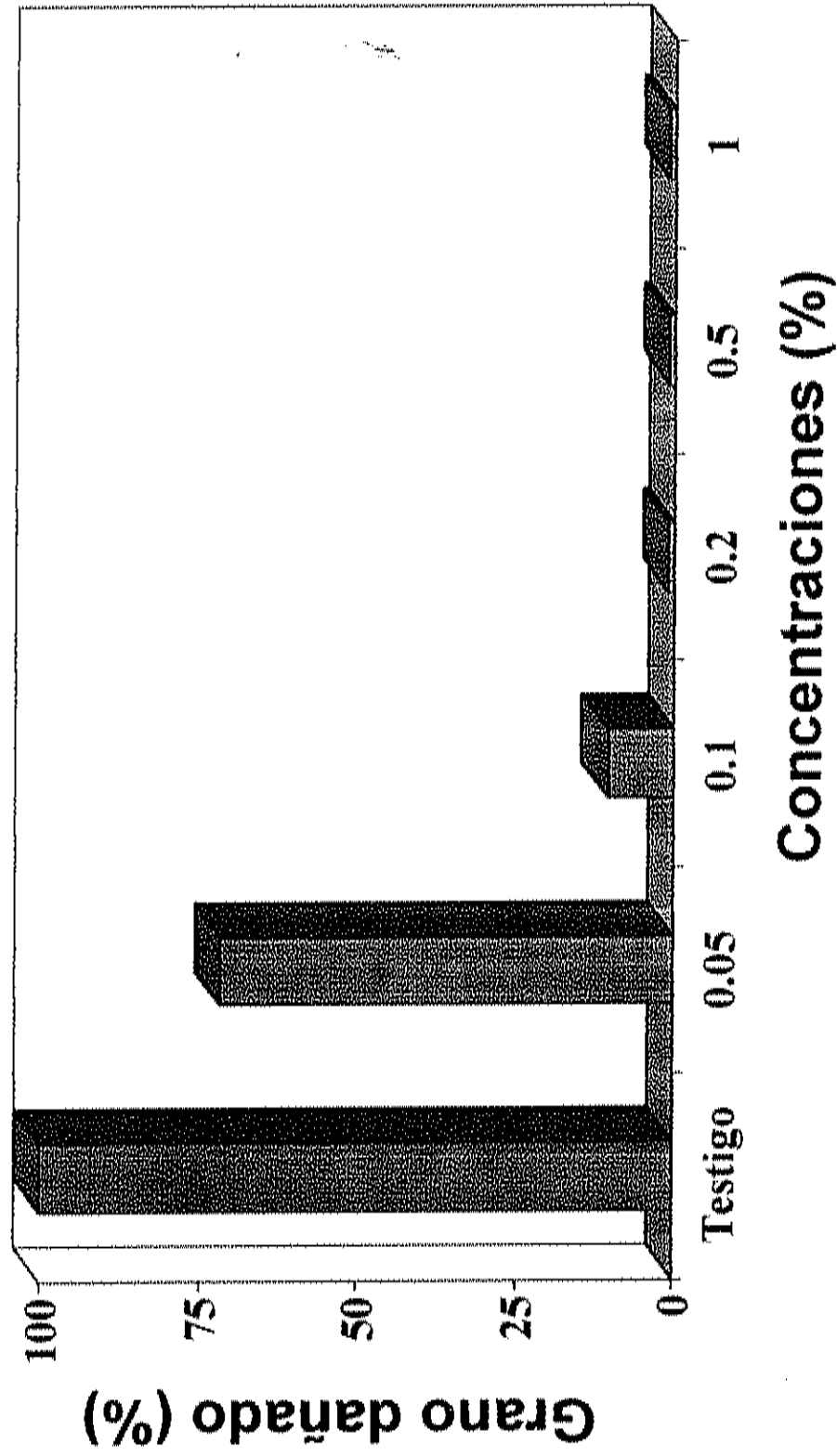


Figura 17. Porcentaje de grano dañado por *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber sido tratado con tierra de diatomeas.

**Cuadro 8.** Porcentaje de grano dañado por *Z. subfasciatus* tratado con tierra de diatomeas.

Tratamiento (%)	Grano dañado (%) <sup>+ α</sup>
Testigo	100 <sup>a</sup>
T.D. 0.05	71.6 <sup>b</sup>
T.D. 0.1	10.5 <sup>c</sup>
T.D. 0.2	0.9 <sup>c</sup>
T.D. 0.5	0.8 <sup>c</sup>
T.D. 1.0	0.8 <sup>c</sup>

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

$\alpha$  Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

T.D. Tierra de diatomeas.

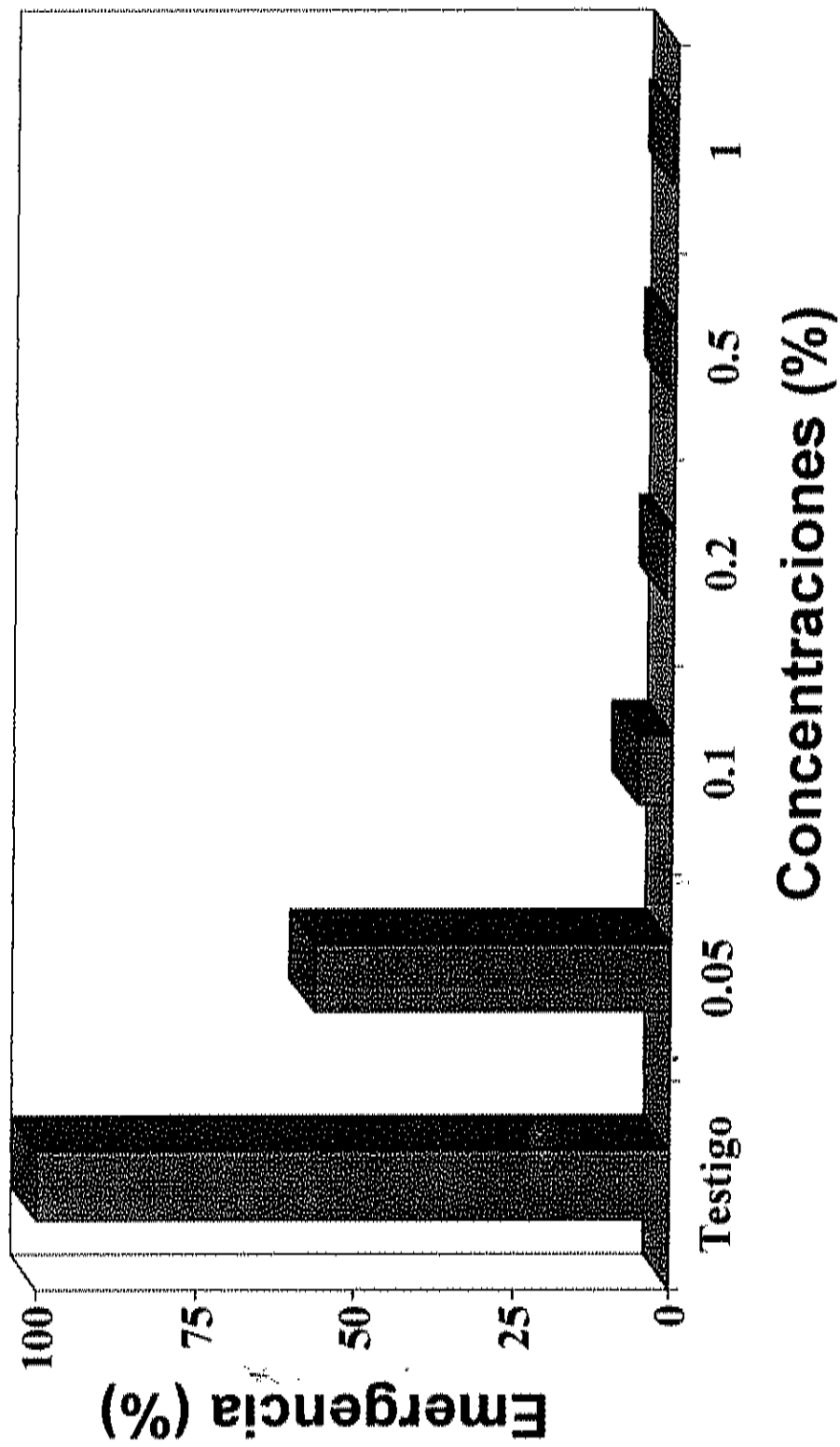


Figura 18. Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* a los dos meses de haber tratado los granos de frijol con tierra de diatomeas.

**Cuadro 9.** Porcentaje de emergencia de *Z. subfasciatus* en granos tratados con tierra de diatomeas.

Tratamiento (%)	Emergencia (%) <sup>†</sup> $\alpha$
Testigo	100 <sup>a</sup>
T.D. 0.05	56.2 <sup>b</sup>
T.D. 0.1	5.4 <sup>c</sup>
T.D. 0.2	1.25 <sup>c</sup>
T.D. 0.5	0.9 <sup>c</sup>
T.D. 1.0	0.5 <sup>c</sup>

<sup>†</sup> Formula de Abbott (1925).

$\alpha$  Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

T.D. Tierra de diatomeas.

### Evaluación entre Tratamientos

En base a los antecedentes y a los análisis de porcentaje de mortalidad, grano dañado y emergencia, se tomaron los tratamientos de neem al 1 %, venadillo al 0.2, 0.5 y 1 % y tierra de diatomeas al 0.2, 0.5 y 1 % como los más prometedores en el control de *Z. subfasciatus*. Dichos tratamientos en base al planteamiento experimental factorial 3 x 6 se compararon unos con otros para determinar cual de los tratamientos fue el más efectivo en cuanto a protección del grano. El Cuadro 10, nos indica que dichos tratamientos no presentan diferencia significativa entre ellos por lo cual se considera que los tratamientos a las concentraciones antes mencionadas presentan un efecto similar en el control de *Z. subfasciatus*. Solamente se observó diferencia significativa en el tratamiento de neem al 1 % en cuanto porcentaje de mortalidad con respecto a los tratamientos con tierra de diatomeas y venadillo; sin embargo, esa diferencia no se observó en el porcentaje de emergencia y grano dañado, por lo que se considera que dicho tratamiento proporciona el mismo efecto protector que los tratamientos con tierra de diatomeas y venadillo en las pruebas de laboratorio.

**Cuadro 10.** Evaluación entre tratamientos para el control de *Z. subfasciatus* en granos tratados con polvos de semilla de neem, venadillo y tierra de diatomeas.

Tratamiento (%)	Mortalidad Promedio (%) <sup>+ α</sup>	Mortalidad Corregida (%) <sup>+ α</sup>	Grano dañado (%) <sup>+ α</sup>	Emergencia (%) <sup>+ α</sup>
Testigo	35 <sup>c</sup>		100 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>
P.S.N. 1.0	37.5 <sup>c</sup>	3.8 <sup>c</sup>	1.0 <sup>b</sup>	0.6 <sup>b</sup>
P.S.V. 0.2	86.9 <sup>b</sup>	79.8 <sup>b</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>
P.S.V. 0.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.6 <sup>b</sup>
P.S.V. 1.0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>
T.D. 0.2	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	1.25 <sup>b</sup>
T.D. 0.5	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.9 <sup>b</sup>
T.D. 1.0	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>

<sup>+</sup> Formula de Abbott (1925).

<sup>α</sup> Prueba de Tukey, 5 % de significancia.

P.S.N. Polvo de semilla de neem.

P.S.V. Polvo de semilla de venadillo.

T.D. Tierra de diatomeas.



## CONCLUSIONES

En la evaluación de polvos de vegetales los tratamientos con semillas de neem y venadillo resultaron ser prometedores en el control de *Z. subfasciatus*.

En el tratamiento con neem los polvos de semilla al 1 % fueron los más efectivos en base al análisis de datos de mortalidad, grano dañado y emergencia.

En los tratamientos de polvos de semilla de venadillo los más prometedores en el control de la sobrevivencia, emergencia y grano dañado fueron las dosis al 0.2, 0.5 y 1 %.

La tierra de diatomeas resultaron ser un método prometedor en el control de *Z. subfasciatus*. Las dosis al 0.2, 0.5 y 1 % mostraron excelentes resultados, reduciendo el número de insectos vivos, grano dañado y emergencia de adultos.

No se encontró ninguna diferencia significativa entre los tratamientos de neem al 1 %, venadillo al 0.2, 0.5 y 1 % y tierra de diatomeas al 0.2, 0.5 y 1 %, por lo que se considera que dichos tratamientos proporciona el mismo efecto protector contra *Z. subfasciatus* en condiciones de laboratorio.

## ESTUDIOS FUTUROS

En base a estas conclusiones se requiere llevar acabo estudios de campo en los almacenes de la localidad utilizando las cantidades que fueron prometedoras en las pruebas de laboratorio, además de llevar acabo pruebas de calidad sensorial de los granos que se vayan a tratar, así como un estudio costo-efecto de los tratamientos con neem, venadillo y tierra de diatomeas, para dar un resultado definitivo en cuanto efectividad de estos productos en el control de *Z. subfasciatus* en frijol almacenado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

**Abbott, W. S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267.

**Adel, M. M. and Sehna, F. 2000.** Azadirachtin potentiates the action of ecdysteroid agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis*. *Journal of Insect Physiology.* **46**: 267-274.

**Aerts, R. J. and Mordue (Luntz), A. J. 1997.** Feeding deterrence and toxicity of neem triterpenoids. *Journal of Chemical Ecology.* **23** (9): 2117-2132.

**Amadioha, A. C. 2000.** Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protection.* **19**: 287-290.

**Ambrosino, P., Fresa, R., Fogliano, V., Monti, S. M. and Ritieni, A. 1999.** Extraction of azadirachtin A from neem seed kernels by supercritical fluid and its evaluation by HPLC and LC/MS. *J. Agric. Food Chem.* **47** (12): 5252-5256.

**Araiza-Lizarde, N. 2000.** Extractos de la familia Meliaceae una alternativa para el control de insectos de impacto agrícola. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Culiacán. (En imprenta).

**Araya, J. A., Sánchez, H., Lagunes, A. y Mota, D. 1996.** Control de plagas de maíz y frijol almacenado mediante polvos minerales y vegetales. *Agrociencia.* **30**: 223-231.

**Arthur, F. H. 2000 a.** Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): effects of temperature and relative humidity. *J. Econ. Entomol.* **93** (2): 526-532.

**Arthur, F. H. 2000 b.** Impact of food source on survival of red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed to diatomaceous earth. *J. Econ. Entomol.* **93** (4): 1347-1356.

**Arthur, F. H. 2001.** Immediate and delayed mortality of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) exposed on wheat treated with diatomaceous earth: effects of temperature, relative humidity, and exposure interval. *Journal of Stored Products Research.* **37**: 13-21.

**Balandrín, M. F., Lee, S. M. and Klocke, J. A. 1988.** Biologically active volatile organosulfur compounds from seeds of the neem tree, *Azadirachta indica* (Meliaceae). *J. Agric. Food Chem.* **36** (5): 1048-1054.

**Banken, J. A. O. and Stark, J. D. 1997.** Stage and age influence on the susceptibility of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) after direct exposure to neemix, a neem insecticide. *J. Econ. Entomol.* **90** (5): 1102-1105.

**Barbosa, F. R., Yokoyama, M., Arraes Pereira, P. A. e Pfeilsticker Zimmermann, F. J. 1999.** Efeito da proteína arcelina na biologia de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman 1833), em feijoeiro. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília.* **34** (10): 1805-1810.

**Céspedes, C. L., Calderón, J. S., Lina, L. and Aranda, E. 2000.** Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). *J. Agric. Food Chem.* **48** (5): 1903-1908.

**Champagne, D. E., Koul, O., Isman, M. B., Scudder, G. G. E. and Neil Towers, G. H. 1992.** Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry.* **31** (2): 377-394.

**Chappell, G. F. and Herbert, D. A. 2001.** Stored-grain insect pest management. *Field Crops.* pp: 213-220.

**Chinnasamy, N., Harishankar, N., Uday Kumar, P. and Rukmini, C. 1993.** Toxicological studies on debitterized neem oil (*Azadirachta indica*). *Fd. Chem. Toxic.* **31** (4): 297-301.

**Chrispeels, M. J., Grossi de Sa, M. F. and Higgins, T. J. V. 1998.** Genetic engineering with  $\alpha$ -amylase inhibitors makes seeds resistant to bruchids. *Seed Science Research.* **8**: 257-263.

**Cohen, E., Quistad, G. B. and Casida, J. E. 1996.** Cytotoxicity of nimbolide, epoxyazadiradione and other limonoids from neem insecticide. *Life Sciences.* **58** (13): 1075-1081.

**Cortez, M.O., Sánchez, R. I., García, G., Villaescusa, M. I. and Cinco, F. J. 1993.** Plant powders as stored grain protectants against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). *Southwestern Entomologist.* **18** (1): 73-75.

**Cook, D. A. and Armitage, D. M. 2000.** Efficacy of a diatomaceous earth against mite and insect populations in small bins of wheat under conditions of low temperature and high humidity. *Pest Management Science.* **56**: 591-596.

**Credland, P. F. 1992.** The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research.* **28** (1): 1-9.

**Credland, P. F. and Dendy, J. 1992.** Comparison of seed consumption and the practical use of insect weight in determining effects of host seed on the mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus* (Boh.). *Journal of Stored Products Research.* **28** (4): 225-234.

**Da Silva, M. F. das G. F., Agostinho, S. M. M., De Paula, J. R., Neto, J. O., Castro-Gamboa, I., Rodrigues Filho, E., Fernandes, J. B. and Vieira P. C. 1999.** Chemistry of *Toona ciliata* and *Cedrela odorata* graft (Meliaceae): chemosystematic and ecological significance. *Pure Appl. Chem.* **71** (6): 1083-1087.

**Dai, J., Yaylayan, V. A., Vijaya Raghavan, G. S. and Pare, J. R. 1999.** Extraction and colorimetric determination of azadirachtin-related limonoids in neem seed kernel. *J. Agric. Food Chem.* **47** (9): 3738-3742.

**Dai, J., Yaylayan, V. A., Vijaya Raghavan, G. S. and Pare, J. R. and Liu, Z. 2001.** Multivariate calibration for the determination of total azadirachtin-related limonoids and simple terpenoids in neem extracts using vanillin assay. *J. Agric. Food Chem.* **49** (3): 1169-1174.

**Dell'Orto-Trivelli, H. y Arias-Velázquez, C. J.,1985.** Insectos que dañan granos y productos almacenados. Serie: Tecnología Poscosecha 4. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe (Santiago-Chile).

**Dendy, J. And Credland, P. F. 1991.** Development, fecundity and egg dispersion of *Zabrotes subfasciatus*. *Entomol. Exp. Appl.* **59**: 9-17.

**Díaz, A., Vera, J. y Domínguez, B. 1996.** Tablas de vida y fertilidad de *Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) por tres generaciones sucesivas en líneas y variedades de frijol. *Agrociencia.* **30**: 103-109.

**Di Ilio, V., Cristofaro, M., Marchini, D., Nobili, P. and Dallai, R. 1999.** Effects of a neem compound on the fecundity and longevity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* **92** (1): 76-82.

**Dobie, P., Haines, C. P., Hodges, R. J., Prevett, P. F. and Rees, D. P. 1991.** Insects and arachnids of tropical stored products: their biology and identification. Second edition revised and edited by Haines, C. P. Natural Resources Institute (NRI), United Kingdom, pp: 246.

**Dowdy, A. K. 1999.** Mortality of red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed to high temperature and diatomaceous earth combinations. *Journal of Stored Products Research*. **35**: 175-182.

**Dunkel, F. V., Serugendo, A., Breene, W. M. and Sriharan, S. 1995.** Influence of insecticidal plant materials used during storage on sensory attributes and instrumental hardness of dry edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. **48**: 1-16.

**Dunkel, F. V. and Richards, D. C. 1998.** Effect of an azadirachtin formulation on six nontarget aquatic macroinvertebrates. *Environ. Entomol.* **27** (3): 667-674.

**Eeswara, J. P., Stuchbury, T., Allan, E. J. and Mordue (Luntz), A. J. 1998.** A standard procedure for the micropropagation of the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). *Plant Cell Reports*. **17**: 215-219.

**Enriz, R. D., Baldoni, H. A., Zamora, M. A., Jáuregui, E. A., Sosa, M. E., Tonn, C. E., Luco, J. M. and Gordaliza, M. 2000.** Structure-antifeedant activity relationship of clerodane diterpenoids. Comparative study with withanolides and azadirachtin. *J. Agric. Food Chem.* **48** (4): 1384-1392.

**Fields, P. and Korunic, Z. 2000.** The effect of grain moisture content and temperature on the efficacy of diatomaceous earths from different geographical locations against stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research*. **36**: 1-13.

**Foster, S. P. and Harris, M. O. 1997.** Behavioral manipulation methods for insect pest-management. *Annu. Rev. Entomol.* **42**: 123-146.

**Gerard, P. J. and Ruf, L. D. 1995.** Effect of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss, Meliaceae) extract on survival and feeding of larvae of four keratinophagous insects. *Journal of Stored Products Research*. **31** (2): 111-116.

**Glenn, D. M., Puterka, G. J., Vanderzwet, T., Byers, R. E. and Feldhake, C. 1999.** Hydrophobic particle films: a new paradigm for suppression of arthropod pests and plant diseases. *J. Econ. Entomol.* **92** (4): 759-771.

**Golob, P. and Kilminster, A. 1982.** The biology and control of *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) infesting red kidney beans. *Journal of Stored Products Research*. **18**: 95-101.

**Golob, P. 1997.** Current status and future perspectives for inert dusts for control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research*. **33** (1): 69-79.

**Goossens, A., Quintero, C., Dillen, W., De Rycke, R., Flower Valor, J., De Clercq, J., Van Montagu, M., Cardona, C. and Angenon, G. 2000.** Analysis of bruchid resistance in the wild common bean accession GO2771: no evidence for insecticidal activity of arcelin 5. *Journal of Experimental Botany*, **51** (348): 1229-1236.

**Govindachari, T. R., Suresh, G., Gopalakrishnan, G., Banumathy, B. and Masilamani, S. 1998.** Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. *Phytoparasitica*, **26** (2): 1-8.

**Grewal, P. S. 1989.** Nematicidal effects of some plant-extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. *Revue Nématol.* **12** (3): 317-322.

**Gutiérrez, S. del C., Rodríguez, C., Bergvinson, D., Carballo, A., Leyva, J. L., y Martínez, A. 1999.** Inhibición del crecimiento de larvas de gusano cogollero con extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*). Resúmenes de avances en la investigación 1999. Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad.

**Guzmán, S. H., Marín-Jarillo, A., Castellanos, J. Z., González de Mejía, E. and Acosta-Gallegos, J. A. 1996.** Relationship between physical and chemical characteristics and susceptibility to *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Stored Products Research*, **32** (1): 53-58.

**Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H. and Sota, N. 2000.** Development-inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, **36**: 281-287.

**Hoffmann, K. H. and Lorenz, M. W. 1998.** Recent advances in hormones in insect pest control. *Phytoparasitica*, **26** (4): 1-8.

**Isman, M. B., Koul, O., Luczynski, A. and Kaminski, J. 1990.** Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *J. Agric. Food. Chem.* **38** (6): 1406-1411.

**Isman, M. B. 1997.** Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. *Phytoparasitica*, **25** (4): 339-344.

**Isman, M. B. 1999.** Neem and related natural products. In methods in biotechnology, vol. 5, biopesticides: use and delivery. Edited by: Hall, F. R. and Meen, J. J. Humana Press Inc. pp: 139-153.

**Jacobson, M. 1983.** Insecticides, insect repellants, and attractants from arid/semiarid-land plants. In plants: the potentials for extracting protein, medicines, and other useful chemicals. Edited by: Washington, D.C. U.S. Congress, Office of Technology Assessment, OTA-BP-F-23. pp: 138-146.

**Jacobson, M. 1989.** Focus on phytochemical pesticides, vol. 1: the neem tree. Edited by: CRC Press Inc. Boca de Raton, Florida.

**Jarvis, A. P., Johnson, S., Morgan, E. D., Simmonds, M. S. J. and Blaney, W. M. 1997.** Photooxidation of nimbin and salannin tetranortriterpenoids from the neem tree (*Azadirachta indica*). *Journal of Chemical Ecology*. **23** (12): 2841-2860.

**Jiménez, A., Mata, R., Pereda, R., Calderón, J., Isman, M. B., Nicol, R. and Arnason, J. T. 1997.** Insecticidal limonoids from *Swietenia humilis* and *Cedrela salvadorensis*. *Journal of Chemical Ecology*. **23** (5): 1225-1234.

**Jiménez, A., Villarreal, C., Toscano, R. A., Cook, M., Arnason, J. T., Bye, R. and Mata, R. 1998.** Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). *Phytochemistry*. **49** (7): 1981-1988.

**Jiménez, Q. 1999.** *Swietenia humilis* Zucc. Unidades básicas de información. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). [http:// www.inbio.ac.cr/](http://www.inbio.ac.cr/)

**Johnson, S. and Morgan, E. D. 1997.** Comparison of chromatographic systems for triterpenoids from neem (*Azadirachta indica*) seeds. *Journal of Chromatography A*. **761**: 53-63.

**Jood, S., Kapoor, A. C. and Singh, R. 1996.** Evaluation of some plant products against *Trogoderma granarium* Everts in sorghum and their effects on nutritional composition and organoleptic characteristics. *Journal of Stored Products Research*. **32** (4): 345-352.

**Juvera, J. J., Ortiz, E. y López, M. S. 1995.** Actividad tóxica de plantas silvestres del Estado de Chihuahua sobre el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Rev. de Ciencias Alim.* **2** (2): 9-13.

**Kaura, S. K., Gupta, S. K. and Chowdhury, J. B. 1998.** Morphological and oil content variation in seeds of *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem) from northern and western provenances of India; *Plant Foods for Human Nutrition*. **52**: 293-298.



- Korunic, Z. 1997.** Rapid assessment of the insecticidal value of diatomaceous earths without conducting bioassays. *Journal of Stored Products Research*. **33** (3): 219-229.
- Korunic, Z. 1998.** Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research*. **34** (2/3): 87-97.
- Koul, O., Isman, M. B. and Ketkar, C. M. 1990.** Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. *Can. J. Bot.* **68**: 1-11.
- Kumar, CH. S. S. R., Srinivas, M. and Yakkundi, S. 1996.** Limonoids from the seeds of *Azadirachta indica*. *Phytochemistry*. **43** (2): 451-455.
- Kumar, J. and Parmar, B. S. 1996.** Physicochemical and chemical variation in neem oils and some bioactivity leads against *Spodoptera litura* (F.). *J. Agric. Food Chem.* **44** (8): 2137-2143.
- Kundu, S. K. 1999.** The mating system and genetic significance of polycarpy in the neem tree (*Azadirachta indica*). *Theor. Appl. Genet.* **99**: 1216-1220.
- Lagunes-Tejeda, A. 1987.** Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rusticas. Proyecto, Clave: PVT/AI/NAL/85/3149. Tercer informe técnico de avance, periodo: Nov/1986-Abr/1987. Colegio de Postgraduados, Montecillo Municipio de Texcoco, Edo. de México, pp: 66.
- Lagunes-Tejeda, A. 1994.** Memoria: extractos y polvos vegetales, y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de Postgraduados, Montecillo Municipio de Texcoco, Edo. de México, pp: 32.
- Lale, N. E. S. and Abdulrahman, H. T. 1999.** Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil obtained by different methods and neem powder for the management of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. *Journal of Stored Products Research*. **35**: 135-143.
- Lale, N. E. S. and Mustapha, A. 2000.** Potential of combining neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with varietal resistance for the management of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.). *Journal of Stored Products Research*. **36**: 215-222.
- Larew, H. G. 1988.** Limited occurrence of foliar-, root-, and seed-applied neem seed extract toxin in untreated plant parts. *J. Econ. Entomol.* **81** (2): 593-598.

**Latorre, B. A., Apablaza, J. y Vaughan, M. A. 1985.** Guía para el control de plagas de leguminosas alimenticias. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile. p: 40.

**Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. and Park, B. S. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*. **20**: 317-320.

**Ley, S. V. 1990.** Synthesis of antifeedants for insects: novel behaviour-modifying chemicals from plants. In bioactive compounds from plants. Edited by: Ciba Foundation Symposium 154. John Wiley & Sons. pp: 80-87.

**Leskovar, D. I. and Boales, A. K. 1996.** Azadirachtin: potential use for controlling lepidopterous insects and increasing marketability of cabbage. *HortScience*. **31** (3): 405-409.

**Lindblad, C. y Druben, L. 1979.** Almacenamiento del Grano. Ed. Concepto S.A. pp: 130-159.

**Lowery, D. T., Isman, M. B. and Brard, N. L. 1993.** Laboratory and field evaluation of neem for the control of aphids (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* **86** (3): 864-870.

**Lowery, D. T. and Isman, M. B. 1996.** Inhibition of aphid (Homoptera: Aphididae) reproduction by neem seed oil and azadirachtin. *J. Econ. Entomol.* **89** (3): 602-607.

**Makanjuola, W. A. 1989.** Evaluation of extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) for the control of some stored product pests. *Journal of Stored Products Research*. **25** (4): 231-237.

**Mancebo, F., Hilje, L., Mora, G. A. and Salazar, R. 2000.** Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. *Manejo Integrado de Plagas*. Marzo, N° 55.

**Martínez, M. 1987.** Las plantas medicinales de México. 6ª Edición., Ed. Botas. pp: 390-391.

**Matute, D. E. 1999.** Guía para el manejo de plagas invertebradas. Manejo integrado de plagas invertebradas en Honduras. Departamento de Protección Vegetal de Zamorano (Escuela Agrícola Panamericana).  
[http:// arneson.cornell.edu/ZamoPlagas/principal.htm](http://arneson.cornell.edu/ZamoPlagas/principal.htm)

**Mejia, D. A. 1996.** Research into species of *Cedreia* and *Swietenia* in Honduras including observations on damage by *Hypsipyla* sp. Proceeding of an international workshop held at Kandy, Sri Lanka 20-23 August 1996. Editors: Floyd, R. B. and Hauxwell, C. Australian Center for International Agricultural Research Canberra, 2001. pp: 96-101.

**Melathopoulos, A. P., Winston, M. L., Whittington, R., Smith, T., Lindberg, C., Mukai, A. and Moore, M. 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.

**Mewis, I. and Ulrichs, Ch. 2001.** Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum*, *Tenebrio molitor*, *Sitophilus granarius* and *Plodia interpunctella*. *Journal of Stored Products Research.* **37**: 153-164.

**Mitchell, M. J., Smith, S. L., Johnson, S. and Morgan, E. D. 1997.** Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology.* **35**: 199-209.

**Mordue (Luntz), A. J. and Blackwell, A. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* **39** (11): 903-924.

**Moreno, E., Jiménez, S. and Vázquez, M. E. 2000.** Effect of *Sitophilus zeamais* and *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. *Journal of Stored Products Research.* **36**: 25-36.

**Morgan, E. D., Jarvis, A. P. and Jones, G. R. 2000.** Ratio of products formed on photo-oxidation of the neem triterpenoids nimbin and salannin. *ARKIVOC.* **1** (3): 312-319.

**Nair, M. S., Gopal, S. and Issac, D. 1997.** Optimised isolation procedure for biologically active compounds nimbolide and 28-deoxonimbolide from *Azadirachta indica* leaves. *Phytochemistry.* **46** (7): 1177-1178.

**Ngigi, A. N. and Ndalut, P. K. 2000.** Evaluation of natural products as possible alternatives to methyl bromide in soil fumigation. In annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions. November 6-9, 2000, Orlando, Florida. pp: 1-16.

**Niber Tierto, B. 1994.** The ability of powders and slurries from ten plant species to protect stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*. **30** (4): 297-301.

**Olivares-Sáenz, E. 1994.** Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N.L.

**Pietrosemoli, S., Olavez, R., Montilla, T. y Campos, Z. 1999.** Empleo de hojas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nematodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, **16** (1): 220-225.

**Pimbert, M. P. and Pierre, D. 1983.** Ecophysiological aspects of bruchid reproduction. I. The influence of pod maturity and seeds of *Phaseolus vulgaris* and the influence of insemination on the reproductive activity of *Zabrotes subfasciatus*. *Ecological Entomology*, **8**: 87-94.

**Proctor, D.L. 1994.** Grain storage techniques: evolution and trends in developing countries. FAO, agricultural services bulletin, No. 109. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, Rome.

**Quarles, W. 1992.** Diatomaceous earth for pest control. *The IPM Practitioner*. **14** (5/6): 1-11.

**Raguraman, S. and Singh, R. P. 1999.** Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed oil on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis*. *J. Econ. Entomol.* **92** (6): 1274-1280.

**Rahim, M. 1998.** Biological activity of azadirachtin-enriched neem kernel extracts against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat. *Journal of Stored Products Research*. **34** (2/3): 123-128.

**Rajapakse, R. and Van Emden, H. F. 1997.** Potential of four vegetable oils and ten botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. *Journal of Stored Products Research*. **33** (1): 59-68.

**Rees, D. P. 1996.** Coleoptera. In *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Edited by Subramanyam, B. and Hagstrum, D. W. Marcel Dekker Inc. pp: 9-12.

**Rodríguez, C. y López, E. 1999.** Uso de la chilca *Senecio salignus* (Asteraceae) contra el gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus*. Resúmenes de avances en la investigación 1999. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México.

**Sacandé, M., Hoekstra, F. A., Van Pijlen, J. G. and Groot, S. P. C. 1998.** A multifactorial study of conditions influencing longevity of neem (*Azadirachta indica*) seeds. *Seed Science Research*, **8**: 473-482.

**Salazar, R. 1998.** *Swietenia humilis* Zucc. Nota técnica sobre el manejo de semillas forestales N° 35. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

**Sánchez, A., Domínguez, B. y Vera, J. 1997.** Resistencia de tres líneas de frijol al ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). *Agrociencia*, **31** (2): 209-216.

**Schoonhoven, A. V. 1978.** Pests of beans in Latin America and their control. In *Pests of Grain Legumes: Ecology and Control*. Edited by Singh, S. R., Van Emden, H. F. and Taylor, T. A. Academic Press. pp: 151-165.

**Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* **35**: 271-297.

**Segura, R., Mata, R., Anaya, A. L., Hernández, B., Villena, R., Soriano, M., Bye, R. and Linares, E. 1993.** New tetratanortriterpenoids from *Swietenia humilis*. *Journal of Natural Products*, **56** (9): 1567-1574.

**Semple, R. L., Hicks, P. A., Lozare, J. V. and Castermans, A. 1992.** Towards integrated commodity and pest management in grain storage. A REGNET (RAS/86/189) in collaboration with The National Post Harvest Institute for Research and Extension (NAPHIRE), May, 1992. FAO, Rome. pp: 526.

**Senguttuvan, T., Abdul Kareem, A. and Rajendran, R. 1995.** Effects of plant products and edible oils against rice moth *Corcyra cephalonica* Stainton in stored groundnuts. *Journal of Stored Products Research*, **31** (3): 207-210.

**Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, **33** (1): 7-15.

**Singh-Jaglan, M., Khokhar, K. S., Malik, M. S. and Singh, R. 1997.** Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *J. Agric. Food Chem.* **45** (8): 3262-3268.

**Southgate, B. J. 1978.** The importance of the Bruchidae as pests of grain legumes, their distribution and control. In *Pests of Grain Legumes: Ecology and Control*. Edited by Singh, S. R., Van Emden, H. F. and Taylor, T. A. Academic Press. pp: 219-229.

**Stark, J. D. and Walter, J. F. 1995.** Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agric. Food Chem.* **43** (2): 507-512.

**Suresh, G. 1997.** Structure-activity relationship analysis of bioactive limonoids from Meliaceae. In *biotechnological perspectives in chemical ecology of insects*. Edited by Ananthakrishnan, T. N. Science Publishers Inc. pp: 63-75.

**Udayasekhara Rao, P. 1987.** Chemical composition and biological evaluation of debitterized and defatted neem (*Azadirachta indica*) seed kernel cake. *JAOCS.* **64** (9): 1348-1351.

**Vaughan, J. G. 1970.** The structure and utilization of oil seeds. Chapman and Hall LTD. pp: 155-156.

**Walter, J. F. 1999.** Commercial experience with neem products. In *methods in biotechnology, vol. 5 biopesticides: use and delivery*. Edited by: Hall, F. R. and Meen, J. J. Humana Press Inc. pp: 155-170.

**Weaver, D. K., Dunkel, F. V., Potter, R. C. and Ntezurubanza, L. 1994.** Contact and fumigant efficacy of powdered and intact *Ocimum canum* Sims (Lamiales. Lamiaceae) against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) adults (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research.* **30** (3): 243-252.

**Williams, J. R., Peng, C. Y. S., Chuang, R. Y., Doi, R. H. and Mussen, E. C. 1998.** The inhibitory effect of azadirachtin on *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Journal of Invertebrate Pathology.* **72**: 252-257.

**Wong, F. J., Cortez, M. O., Borboa, J. and Bustamante, F. 1992.** Insect species infesting grain stored in rural communities in the northeast of Sonora, Mexico. *Southwestern Entomologist.* **17** (4): 327-331.

**Xie, Y. S., Fields, P. G. and Isman, M. B. 1995.** Repellency and toxicity of azadirachtin and neem concentrates to three stored-product beetles. *J. Econ. Entomol.* **88** (4): 1024-1031.

**Zeringue Jr., H. J. and Bhatnagar, D. 1994.** Effects of neem leaf volatiles on submerged cultures of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*. *Applied and Environmental Microbiology.* **60** (10): 3543-3547.

## ABREVIATURAS

EPA	Agencia de Protección Ambiental
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
cm	Centímetros
°C	Grados Centígrados
g <sup>-1</sup>	Gramo
g	Gramos
ha <sup>-1</sup>	Hectárea
HP	Caballo de Fuerza
H.R.	Humedad Relativa
Kg <sup>-1</sup>	Kilogramo
kg	Kilogramos
m	Metros
µm	Micrometros
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
ppm	Partes por Millón
%	Por ciento