

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO

**PRUEBAS DE EFECTIVIDAD DE NEEM (*Azadirachta indica* JUSS)
CONTRA EL GUSANO DEL FRUTO (*Heliothis virescens* FAB; 1777),
(LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) EN JITOMATE (*Lycopersicum
esculentum* Mill.).**

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO**

P R E S E N T A:

VALERIA MARTINEZ ESTRADA

DIRECTOR:

DRA. MARÍA INÉS AYALA ENRÍQUEZ

Cuernavaca, Mor.

2021

**“PRUEBAS DE EFECTIVIDAD DE NEEM (*Azadirachta indica* Juss.) CONTRA
EL GUSANO DEL FRUTO (*Heliothis virescens* Fab. ,1777), (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) EN JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)”**

Tesis realizada por **VALERIA MARTINEZ ESTRADA** bajo la dirección del comité revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

BIOLOGO

COMITÉ REVISOR

DR. ROGELIO OLIVER GUADARRAMA

BIÓL. ANDREA ELIZABETH GRANJENO COLÍN

DRA. MARÍA INÉS AYALA ENRÍQUEZ

BIÓL. GRACIELA BUSTOS ZAGAL

DR. GUADALUPE PEÑA CHORA

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A mi director de tesis Dr. Jesús Telesforo Hernández por brindarme la oportunidad de trabajar con él, apoyándome en todo momento.

A cada uno de mis sinodales, DR. ROGELIO OLIVER, BIÓL. ANDREA ELIZABETH GRANJENO, DRA. MARÍA INÉS AYALA, DR. GUADALUPE PEÑA, por dedicarle su valioso tiempo a este trabajo, por sus revisiones y mejoras de este.

A mi querida maestra BIÓL. GRACIELA BUSTOS ZAGAL quien tuve fortuna de que perteneciera a mis sinodales y a la cual tengo un gran aprecio por las enseñanzas que me ha dejado el conocerla y la amistad brinda desde segundo semestre hasta el momento.

Aa mi tutor Biol. Yirrael Muñiz por ser una guía en mi camino cuando comencé con esta travesía de estudiar biología.

Agradezco con todo mi corazón a mis padres Jorge Martínez y Ma. Cristina Estrada por darme la mejor herencia de todas que son mis estudios y las herramientas adecuadas para salir al mundo a ser una persona de provecho y valerme por mis propios méritos.

A mi compañero de vida Miguel Muñoz por su apoyo y su cariño sin medida.

A mis hermanas, Vania Martínez y Vanessa Martínez por los lasos tan grandes que tenemos y el apoyo que siempre he recibido de ellas que las amo y agradezco por su existencia.

A mi amiga Emily Gonzales por seguir en mi vida por sus consejos y ayuda en todas mis crisis existenciales espero esta amistad dure toda la vida.

A mis abuelitos Pedro Estrada y Ma. Del Carmen Viquez por ser un ejemplo de amor, cariño, esfuerzo y dedicación, por la gran labor de ser padres, abuelos y bisabuelos, por cuidar a mi hija cuando tenía que ausentarme y verla como otra hija propia, por no soltarme y ser mi pilar para mantenerme a flote cuando lo necesitaba.

A todos y cada uno de los antes mencionados gracias infinitas.

DEDICATORIAS

AMIS PADRES:

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor su dedicación y esfuerzo para que cada una de sus hijas tuvieran la oportunidad de estudiar y obtener un título.

AMIS ABUELOS:

Por su apoyo incondicional y por ser el primer trabajo de tesis de sus nietos, esperando ser de motivación para los demás.

A MI HIJA :

Mabel por haber llegado a darme el valor que requería para afrontarme a la vida, para que te sirva de inspiración amada hija, y sepas y tengas siempre en mente que todo lo que desees lo puedes lograr, espero estés orgullosa de tu madre con la que siempre podrás contar.

A MIS HERMANAS:

Vania y Vanessa que les sirva de inspiración y ganas de salir al mundo a dar lo mejor de ustedes se de sus capacidades y de lo lejos que van a llegar confié en que tomaran las mejores decisiones con respecto a su vida y de igual manera sepan que siempre contarán conmigo.

ÍNDICE

1.-	Introducción.....	1
2.-	Antecedentes.....	3
2.1	Producción en México de <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.....	3
2.2	Generalidades del cultivo de jitomate <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.....	4
2.3	Clasificación botánica del jitomate	4
2.4	Características morfológicas	5
2.4.1	Raíz.....	5
2.4.2	Tallo.....	5
2.4.3	Hoja.....	6
2.4.4	Flor.....	6
2.4.5	Fruto	6
2.4.6	Semilla.....	6
2.5	Importancia de los bio-insecticidas.....	7
2.5.1	Ventajas del uso de los bioinsecticidas.....	8
2.5.2	Métodos para preparación de bioinsecticidas botánicos.....	9
2.6	Dosis Letal Media (DL₅₀).....	10
2.7	Importancia del Neem <i>Azadirachta indica</i> Juss.....	10
2.7.1	Clasificación taxonómica.....	12
2.7.2	Características morfológicas.....	12
2.7.2.1	Tallo.....	12
2.7.2.2	Raíz.....	12

2.7.2.3 Hoja.....	12
2.7.2.4 Flor.....	12
2.7.2.5 Fruto.....	13
2.7.2.6 Semilla.....	13
2.7.3 Propiedades del neem <i>Azadirachta indica</i> Juss.....	14
2.8 Generalidades del gusano del fruto, <i>Heliothis virescens</i>	17
2.8.1 Clasificación taxonómica de <i>Heliothis virescens</i>	17
2.8.2 Características morfológicas.....	18
2.8.2.1 Huevos.....	18
2.8.2.2 Larvas.....	18
2.8.2.3 Pupa	18
2.8.2.4 Adulto.....	19
2.8.3 Daños.....	20
3.- Justificación.....	21
4.-Hipotesis.....	22
5.- Objetivo.....	22
5.1Objetivo General.....	22
5.2 Objetivo Particular.....	22
6.- Materiales y métodos.....	23
6.1 Localización del área de estudio	23
6.2 Fase de campo.....	23
6.2.1 Colecta del material.....	23
6.3 Fase de laboratorio.....	24
6.3.1 Separación demuestras.....	24
6.3.2 Preparación de extracto.....	25
6.4 Establecimiento del bioensayo.....	26

6.5 Diseño experimental.....	27
6.5.1 Tratamientos a evaluar.....	27
6.5.2 Distribución de tratamientos en bioensayo.....	27
6.5.3 Evaluación de DL ₅₀ y El TL ₅₀	28
6.5.4 Análisis Estadístico.....	30
7.- Resultados y Discusión.....	31
7.1 Efectos del extracto de Neem en larvas de <i>H. virescens</i>	31
7.2 Pruebas de efectividad de <i>H. virescens</i>	33
8.- Conclusiones.....	36
9.- Perspectivas.....	37
10.- Bibliografía.....	38

Índice de figuras

Figura 1.- Producción de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. Ton/ ha en México de 2016 a 2017.....	3
Figura 2.-Ciclo fenológico del jitomate.....	5
Figura 3.- Partes principales del Neem.....	14
Figura 4.- Ciclo Biológico de <i>H. virescens</i>	19
Figura 5.- Daños causados por <i>H.v</i> en fruto.....	20
Figura 6.- Invernadero de donde se obtuvo la muestra.....	23
Figura 7.- Rama del árbol <i>A. indica</i>	23
Figura 8.- Partes separadas de la rama colectada.....	24
Figura 9.- Proceso de obtención de la infusión.....	25
Figura 10.- Materiales utilizados para el establecimiento del bioensayo.....	26
Figura 11.- Distribución de los tratamientos en el bioensayo.....	28
Figura 12.- Prueba de efectividad de extracto vegetal de neem.....	33
Figura 13.- Prueba de Tukey, con intervalo de confianza al (95 %).....	35

Índice de cuadros

Cuadro 1.- Distribución de tratamientos/insecticidas en estudio.....	31
Cuadro 2. Modelo lineal número de larvas expuestas a la infusión de neem en el Tratamiento.....	32

1.- INTRODUCCIÓN.

El género *Lycopersicon* y la especie *esculentum* (Bolaños, 1998), consta de tres fases fenológicas (inicial, vegetativa y reproductiva) y cuenta con una producción entre 17 y 38 toneladas por hectárea, pero debido a la alta vulnerabilidad de la planta a problemas fitosanitarios se puede perder hasta el 100% (Bolaños, 1998).

La producción y el consumo mundial de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), así como, el consumo promedio per cápita, registran una tendencia a la alza durante la década reciente, china es el más importante productor y consumidor mundial, Estados Unidos es el principal importador, y México el principal exportador de esta hortaliza. En México, la producción de jitomate creció a una tasa promedio anual de 4.8% entre 2006 y 2016, para ubicarse en un máximo de 3.3 millones de toneladas. El jitomate mantiene su importancia y dinamismo en el comercio exterior agropecuario del país. En 2016 fue el principal productor agropecuario de exportación, con una participación de 13.2% en el total de las ventas al exterior de productos agropecuarios y pesqueros. Durante la última década, el valor de las exportaciones mexicanas creció a una tasa promedio anual de 5.5%, mientras que el volumen lo hizo a una tasa promedio anual de 4.5%, para ubicarse en un máximo de 1.6 millones de toneladas. El volumen exportado fue equivalente al 48.0% de la producción nacional de esta hortaliza en 2016, y el 99.7% de las ventas de jitomate mexicano se destinó a Estados Unidos. En ese año, México abasteció el 90.7 % de las compras estadounidenses (Panorama Agroalimentario, Tomate Rojo, 2017).

Actualmente, se ha utilizado el control biológico como una alternativa viable para combatir las plagas agrícolas, dado que es altamente específico contra las plagas blanco y generalmente representan poco o ningún riesgo para los agricultores, el medio ambiente e insectos benéficos (EPA, 2010). El uso de extractos de origen botánico, ha llamado mucho la atención como una alternativa efectiva. Estos productos vegetales son menos costosos, biodegradables y más seguros, que sus equivalentes sintéticos, los cuales son altamente persistentes en el ambiente y

tóxico para los organismos no blanco, incluidos los humanos (Singh *et al.*, 1996; Leng *et al.*, 2011).

2. ANTECEDENTES.

2.1 Producción en México de *Lycopersicon esculentum* Mill.

Se cultiva en aproximadamente 28 estados, destacando sólo 12 en la producción, del año 2017, la producción total, fue de 3 millones 176 mil toneladas, lo que representa un incremento de 9%, respecto de lo que se cosechó en el año pasado que fue de 2 millones 913 mil toneladas. La producción se concentra en 12 entidades federativas que suman 80.4% del volumen nacional. Sinaloa se mantiene como el principal productor con 23.5% del total, le sigue San Luis Potosí con 10.9%, Michoacán 7.6%, Jalisco 6.3%, Zacatecas 6.1%, Baja California 4.7%, Puebla 4.1%, Sonora 3.7%, Estado de México 3.5%, Morelos 3.4% Querétaro 3.2% y Oaxaca 3.2%. El estado de Morelos, redujo su producción un 4.6% con respecto al año 2016. (SAGARPA, 2017) Figura 1. Un motivo por el cual se ve afectada la producción es la presencia de plagas. Entré la más conocida por su importancia económica se encuentra el gusano del fruto (*Heliothis virescens*), ya que las larvas de esta especie dañan perforando los frutos desde la formación hasta la maduración (Pacheco, 1985).

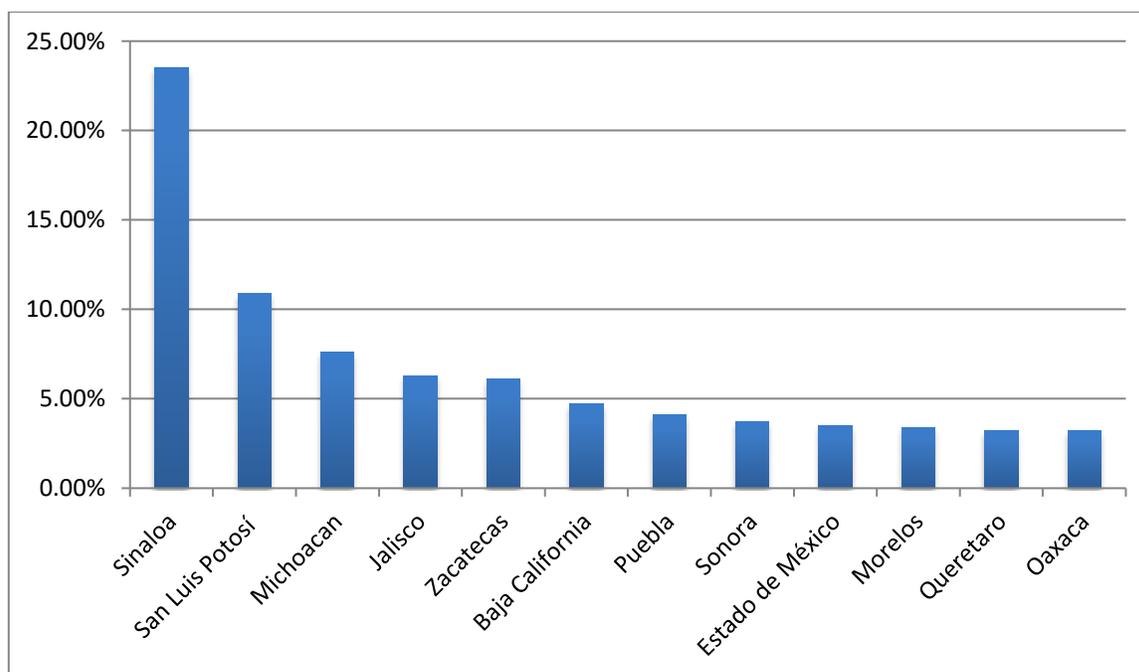


Figura 1.- Producción de *Lycopersicon esculentum* Mill. Ton/ Ha en México de 2016 a 2017

2.2 Generalidades del cultivo de jitomate *Lycopersicon esculentum* Mill.

Es una planta originaria de la planicie costera occidental de América del Sur, aunque se considera a México como su centro de domesticación. Es la hortaliza que ocupa mayor superficie sembrada en todo el mundo, con 3, 593, 490 Ha, con una producción total de 53,857,000 ton, (FAO, 2001). En México se siembran alrededor de 80,000 Ha, con un rendimiento promedio de 28.7 ton/ha., por lo cual, es la segunda hortaliza más importante por la superficie sembrada que ocupa; la más importante por su volumen en el mercado nacional, y la primera por su valor de producción (Nieto y Velasco, 2006). En condiciones de campo abierto, se cultivan alrededor de 70, 000 Ha, siendo los estados de Sinaloa, Morelos, San Luis Potosí, Baja California Norte y Michoacán los principales productores (Espinosa, 2004). Comercialmente en México se producen 45 millones de toneladas de jitomate por año y es un cultivo altamente susceptible al ataque de insectos perjudiciales y enfermedades (Rojop, 2008)

2.3 Clasificación botánica.

Según Hunziker (1979), la clasificación botánica del jitomate es la siguiente:

Reino...Plantae

Phylum...Streptophyta

Clase...Dicotiledónea

Orden...Solanales

Familia...Solanácea

Género... *Lycopersicon*

Especie... *esculentum* Mill.

2.4 Características morfológicas.

La duración aproximada de cada una de las etapas de desarrollo del jitomate es: fase inicial de 1 a 21 días; fase vegetativa de 22 a 80 días, que incluye el desarrollo vegetativo (22 a 49 días) y el desarrollo floral (50 a 80 días); y la fase reproductiva de 81 a 100 días. Los días mencionados hacen referencia a los días después del trasplante. La maduración de tomate también depende del tipo de variedad que se esté cultivando: precoz (65 a 80 días), intermedia (75 a 90 días) y tardía (85 a 100 días) (CENTA, 1996) Figura 2.

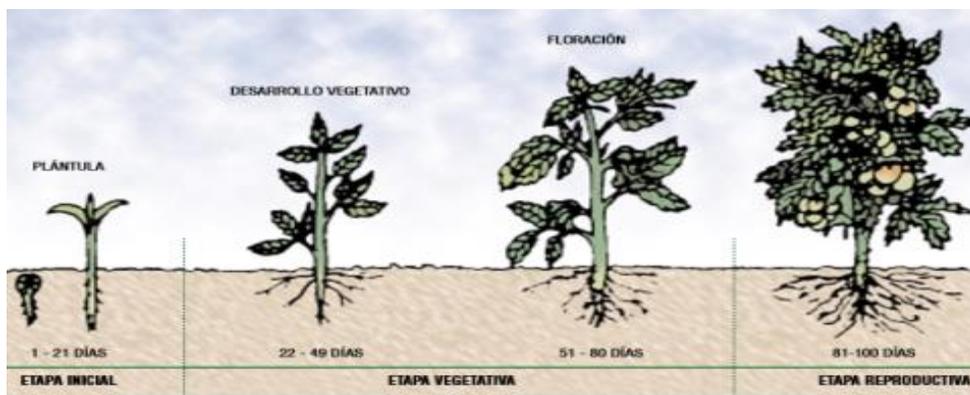


Figura 2. Ciclo fenológico del jitomate. Tomado de CENTA, 1996.

2.4.1 Raíz: presenta un sistema radical compuesto por una raíz principal, de la que se originan raíces laterales y fibrosas pudiendo lograr los 1.5 m de radio. Más del 80% de las raíces se profundizan entre los 20 y 45 cm, aunque en condiciones apropiadas pueden llegar hasta los dos metros. Es muy frecuente la formación de raíces adventicias, especialmente en los nudos inferiores del tallo principal, siempre y cuando esta parte de la planta esté en contacto con suelo húmedo.

2.4.2 Tallo: es típico de las plantas herbáceas, cuya forma es cilíndrica y erecta en sus primeras fases de crecimiento y se vuelve decumbente y angular posteriormente, en su superficie está recubierta por pelos angulares, los cuales segregan una sustancia viscosa de color verde amarillenta. El tamaño varía según las características genéticas de cada variedad, encontrándose tallos de 30 cm y hasta de 3 m de altura.

2.4.3 Hoja: son compuestas, pudiendo medir unos 50 cm de largo y un poco menos de ancho, con un gran foliolo terminal y hasta ocho grandes foliolos laterales. Los foliolos son peciolados y lobulados irregularmente, pilosos y aromáticos.

2.4.4 Flor: son inflorescencias en forma de racimos, con flores pequeñas y de color amarillo. El número de flores por racimos, por lo general puede ser de siete a nueve aunque hay casos que superan las 100, las flores son hermafroditas con 5 o 6 pétalos dispuestos en una corola tubular. Todos los cultivos modernos se auto polinizan, ocurriendo generalmente durante la antesis.

2.4.5 Fruto: El tomate consiste en una valla de formas, dimensiones y número de lóculos variables, según el cultivar. Dependiendo de la forma, los frutos de jitomate pueden ser redondeados, aplanados, ovalados, semi-ovalados, alargados, en forma de uva o pera, etc. La superficie puede ser liza o rugosa, la cantidad de lóculos pueden ser de dos o más, aunque la mayoría de las variedades típicas industriales y las especies silvestres de frutos muy pequeñas son de dos lóculos, mientras que las de consumo fresco (generalmente de fruto grande) poseen varios lóculos, 8 – 10 o más.

2.4.6 Semilla: es pequeña, con dimensiones de 5mm de largo por 4 de ancho y 2mm. Su coloración es amarillenta con matiz grisáceo; su forma puede ser aplanada, alargada, o en forma de riñón, redondeada y pubescente (INTA, 1999).

2.5 Importancia de los bio-insecticidas.

Las plantas y sus derivados han mostrado efectos controladores contra insectos, ácaros, nematodos, bacterias, virus, hongos y roedores (Grainge y Ahmed, 1998). Especies de plantas como ajo (*Allium sativum*), ají (*Capsicum frutescens*), higuera (*Ricinus comunis*), nim (*Azadirachta indica*) y paraíso (*Melia azedarach*) son materia prima de varios insecticidas de origen vegetal (Rodríguez y Nieto, 1997). Los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales, constituyen una interesante alternativa para el control de insectos, además, solo se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta, por lo que, las perspectivas futuras en investigación científica, son aún mayores. A partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plaga; y reemplazar así los pesticidas sintéticos, aparecen los insecticidas de origen botánico que ofrecen seguridad para el ambiente y son una eficiente opción agronómica (Céspedes *et al.*, 2000). Un bioinsecticida, se ha definido como un organismo vivo (hongo, bacteria, virus), capaz de matar a los insectos blanco. También, puede ser aquella sustancia química, que estando presente en una determinada planta, puede repeler o matar a los insectos perjudiciales, el término bioinsecticida, se ha empleado para cualquier compuesto de origen vegetal, animal o mineral, que una vez formulado se aplica eficazmente contra el insectos plaga. Estos bioinsecticidas pueden ser usados como un sinónimo de insecticida biológico, insecticida botánico, insecticida ecológico., pero también, el termino incluye todo formulado que contenga microorganismos (bacterias, virus u hongos) o partes de ellos (Chiapusio *et al.*, 2004). Los bioinsecticidas, pueden ocasionar la muerte o actuar como miméticos de hormonas insectiles, inhibiendo o estimulando diferentes procesos biológicos según el caso (repelencia, acción antialimentaria, esterilidad, etc). En caso de infestaciones fuertes, elevar la dosis a 5 o 6 cm³ por litro de agua. La frecuencia de aplicación es de cada 15 días, durante el tiempo que se tenga la presencia de la plaga (que puede variar desde un mes a tres meses), y dependiendo también del estadio larvario de desarrollo en que se encuentre (Fajardo *et al.*, 2005).

2.5.1 Ventajas del uso de los bioinsecticidas.

Los insectos difícilmente pueden desarrollar resistencias, al uso de bioinsecticidas, ya que éstos pueden evolucionar de manera igual a lo que pueden hacerlo los insectos. Algunos bioinsecticidas a base de hongos, virus, bacterias, nematodos son muy específicos, y solo atacan a una sola especie de insecto., y cada vez son más seguros y no afectan animales, plantas e insectos benéficos, pero también, estos son biodegradables por lo cual, no contaminan el medio ambiente, su impacto es muy bajo. Actúan sobre el insecto a muy baja concentración. Se pueden hacer preparados artesanales si se cuenta con la planta que contiene el compuesto llamado ingrediente activo (ia), por lo tanto, son de bajo costo, otra de las ventajas, es que ofrecen la posibilidad de uso de estrategias dentro de los programas de Manejo Integrado y Ecológico de Plagas (MIP) y (MEP) (Chávez y Pérez, 2008); estas estrategias combinan varias medidas de prevención y control de insectos, que incluyen el uso racional de plaguicidas, de baja toxicidad para humanos y no contaminantes. Por otro lado, " la Agricultura Orgánica o Ecológica, está en plena expansión ya que la población está cada día más consiente, acerca de la calidad de los alimentos inocuos, del cuidado de su salud y del medio ambiente". Como se trata de un producto totalmente natural, la toxicidad es nula, estimándose una DL₅₀ oral en ratas superior a 10.290 mg / kg. Por lo tanto, la estabilidad del neem ha sido probada de ser excelente por más de dos años en condiciones normales, debido, a su formulación especial (Robayo y Rodríguez, 2006). Para mantener la vida útil del producto lo más larga posible se recomienda: almacenar el producto en sitios frescos y no expuestos al sol, hacer las diluciones del producto en el preciso momento de su aplicación y no almacenar el resto para otros días. Este es un producto hecho de sustancias naturales de la planta, y por tanto es biodegradable, se puede mezclar con todo tipo de insecticidas, de los cuales potencia su acción y no se necesita utilizar tantos insecticidas, reduce el impacto en el Medio Ambiente su toxicología es nula para humanos y animales y su plazo de seguridad es de cero días (Delgado *et al.*, 2007).

2.5.2 Métodos para preparación de bioinsecticidas botánicos.

Para preparar los bioinsecticidas de origen botánico se pueden emplear las diferentes partes de las plantas como son: hoja, raíz, corteza, semilla, fruto, flor y tallo. También, se emplean la rama, ápice, inflorescencia, resina y la planta completa. Un aspecto de vital importancia al preparar los bioinsecticidas lo constituye la forma de conservar al máximo los principios activos de las plantas; para procurar esto, dichas plantas o sus partes deben secarse en lugares aireados y colocarse en bolsas de tela, papel o cartón para que haya una mejor transpiración y puedan ser procesadas sin perder su calidad.

Entre los métodos para preparar los plaguicidas naturales están los siguientes:

Maceración: Las hierbas frescas o maceración en seco se ponen en agua o en alcohol.

Decocción: Remojar hierbas frescas o secas por 24 horas, cocer durante 20 minutos a fuego lento y dejar enfriar.

Infusión: Las hierbas frescas o secas se remojan en agua muy caliente, luego se las deja por 24 horas.

Purín: Colocar las partes verdes de la planta, en un recipiente lleno de agua. El recipiente se tapa procurando que le entre el aire. El agua se remueve todos los días. Cuando el purín no haga espuma ya se puede utilizar.

Extrusión: Las semillas, frutos, flores, ya sea hierbas frescas o secas se someten a un proceso de molido y prensado para obtener su extracto.

Arrastre de vapor: Las semillas, frutos, flores, hierbas frescas o secas se someten a un proceso de destilación para obtener un extracto concentrado de sus principios activos o de ingrediente activo (ia). (Alonso, 2012).

2.6 Dosis Letal Media (DL₅₀) y Tiempo Letal (TL₅₀).

La Dosis Letal Media (DL₅₀), se define como la estimación estadística de la dosis mínima necesaria para matar el 50 % de una población de organismos en condiciones controladas, y que comprende la determinación de la especie, su sexo y edad; en animales superiores se expresa en miligramos de tóxico por kilogramo de peso (mg / kg), y en insectos se expresan en microgramos (ug) o en miligramos (mg) por gramo (g) de peso (Costa *et al.*, 1974). Mientras que el Tiempo Letal Medio (TL₅₀) es el valor promedio del intervalo de tiempo, calculado estadísticamente, durante el cual se espera que muera el 50% de una población dada, tras la administración aguda de un agente químico o físico, a una determinada concentración y bajo un conjunto de condiciones definidas (Repetto y Sanz, 1995.)

Para la obtención de los valores de DL₅₀, en lepidópteros, el método más usado, es el de la Dosificación en Serie (DS), recomendado por la FAO en 1967, que implica una dosificación exacta del tóxico y nos proporciona una Respuesta Cuantitativa (RC). En 1981, Plapp manifiesta, que los valores observados para la generación F₂, son generalmente más bajos que los de la generación F₁, pero que estos pequeños cambios no son de orden genético, sino que muy seguramente obedecen a las condiciones de Cría Masiva del insecto (CM) experimentadas bajo condiciones de laboratorio.

2.7 Importancia del neem *Azadirachta indica* Juss.

Una de las plantas que ha llamado la atención en estudios en laboratorio e invernadero, es el árbol de neem dado que produce un compuesto insecticida natural y biodegradable llamado azadiractina, el cual se concentra en las semillas de los frutos inmaduros u hojas y puede ser extraído (Hermel *et al.*, 1987; Johnson *et al.*, 1996). El poder insecticida de la azadiractina se ha confirmado en 500 especies de insectos plaga y su baja toxicidad en campo para vertebrados e

insectos benéficos (parasitoides, abejas y depredadores), ha sido muy remarcada (Schmutterer y Singh, 2002; Morgan *et al.*, 2009). Varias plantas que pertenecen a diferentes familias contienen una serie de fitoquímicos tales como, saponinas, taninos, alcaloides, di y triterpenoides, entre otros, los cuales presentan alta actividad insecticida.

Entre sus efectos se destacan la inhibición del apareamiento y comunicación sexual, impedimento de la ovoposición y eclosión de huevos, esterilidad en adultos, bloqueo de los pasos de mudas necesarias para entrar a la siguiente etapa del desarrollo, efecto anti-alimentario y el bloqueo de la síntesis de quitina (Kool M and *et al.*, 1998; Mordue *et al.*, 2005). En estudios de laboratorio y de campo, demostraron que extractos acuosos de semillas de neem (*Azadirachta indica* Juss.), causaron una disminución en la oviposición y en la viabilidad de los huevos de mosca blanca; además se prolongó el período ninfa 1 y hubo repelencia de adultos (Coudriet *et al.*, 1985). En laboratorio e invernadero se evaluó, la oviposición de la mosca blanca en plántulas de frijol usando extractos acuosos y metanólicos de semillas y hojas de neem. Se encontró que los tratamientos de 25 g de semilla de nim/litro de agua redujeron significativamente la oviposición de mosca blanca y algunas larvas de lepidópteros (Zeledón, B 1989). En ensayos de campo, a dosis de 15 y 30 g de semilla de nim/litro de agua redujeron la oviposición e impidieron la colonización de mosca blanca y crisomélidos en el cultivo de frijol (Vega, E.1989).

2.7.1 Clasificación taxonómica.

La clasificación del Nim la describe Baley ,1977 como sigue:

Reino - Vegetal.

Phylum - Embriofitas.

Clase - Dicotiledónea.

Orden - Geraniales.

Familia - Meliaceae.

Género - *Azadirachta*.

Especie - *indica* Juss.

2.7.2 Características morfológicas.

El neem es un árbol de crecimiento rápido robusto, de hoja perenne, siempre verde y frondoso, el tronco del neem crece recto y alcanza un grosor hasta de 2.5 m; la corteza es de color gris rojizo y de un espesor hasta de 2.5 cm; el árbol puede alcanzar una altura de 30 m y un diámetro de copa de 25 m; puede vivir por más de 200 años. (Figura 3).

2.7.2.1 Tallo.

Crece recto y alcanza un grosor hasta de 2.5 m; la corteza es de color gris rojizo y de un espesor de hasta 2.5 cm.

2.7.2.2 Raíz.

Presenta una raíz principal pivotante de rápido crecimiento y desarrollo, clave para resistir la sequía, lo que permite vivir en suelos muy pobre, alcanza hasta el doble de la altura del árbol, con esto permite extraer nutrientes del subsuelo profundo.

2.7.2.3 Hoja.

Es peciolada de forma aserrada y de alrededor de 7 a 10 cm de largo, y ancho de 3 a 4 cm; cuando son jóvenes (retoños) son de color rojo cobrizo, al madurar

cambian a verde oscuro. Las hojas se agrupan en foliolos de 35 cm de largo, con una separación entre hojas de 3 a 4 cm. Cada foliolo presenta 7 pares, las hojas son compuestas imparipinadas más una terminal. La caída de hojas del árbol ocurre solo bajo extrema sequía o después de daño por heladas.

2.7.2.4 Flor.

Es pequeña de 5 mm, blanca, crema o amarillenta, bisexual, actino-mórfica, que crece en racimos de hasta 22 cm de largo de manera axilar; en plena floración su aroma y néctar facilita su polinización. La floración depende de las condiciones edafoclimáticas de cada región y su fecundidad depende de la cantidad de iluminación recibida, así como de la humedad del suelo, las que estimulan e inhiben el árbol floral.

2.7.2.5 Fruto.

Es una drupa elipsoidal, lisa de 1.4 a 2.4 cm de largo, producido en racimos; el color de la cascara al inicio de su formación es verde con endocarpio blanco y duro; al madurar la cascara se torna amarillenta. La pulpa es jugosa y dulce, consumible por humanos, aves y animales; además, encierra a la semilla. El fruto tiene maduración desuniforme, no simultánea (ya que es posible ver en una misma rama flores, frutos inmaduros y frutos maduros), debido al brote secuencial de flores; en México maduran la mayoría de los frutos entre los meses de julio y septiembre.

2.7.2.6 Semilla.

Tiene forma elipsoidal, mide alrededor de 4.1 cm de largo y 6.5 mm de ancho, está envuelta de una cascara color café que contiene una semilla y algunas veces hasta dos. Esta es la parte más importante del árbol porque en ella se almacenan todas sus propiedades. (Cruz y del Ángel, 2004).

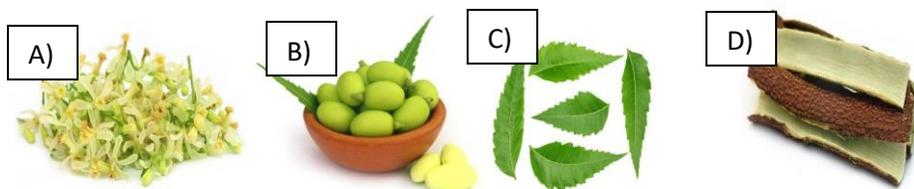


Figura 3. Partes principales del Neem A) flores; B) fruto; C) hojas; D) Corteza.
(Kabir Choudhury, 2005.)

2.7.3 Propiedades del neem *Azadirachta indica* A.Juss.

EL árbol del neem *Azadirachta indica* Juss, contiene diversos componentes con actividad insecticida, de los cuales el más importante es la azadiractina (AZA), un tetranortriterpenoide natural (NIIR Board, 2004). Sin embargo, la concentración de los compuestos bioactivos del neem no es alta en las diferentes partes de la planta. La preparación de bioinsecticidas efectivos a base de neem requiere que el proceso de extracción separe e incremente el contenido de AZA y otros componentes relacionados con la actividad insecticida de los extractos. Para la extracción de AZA se han propuesto varios métodos y destacan aquellos que usan como solvente al etanol (Larson, 1985), hexano, acetona, acetato de etilo y metanol (Koul y Wahab, 2004). También se ha evaluado el uso de isopropanol con evaporación al vacío (Moorthy y Kumar, 2004) o gases licuados (D'Andrea *et al.*, 1994).

Los extractos comerciales de la semilla de *A. indica* se valoran primordialmente por el contenido de AZA en sus formas estructurales (Sharma *et al.*, 2003), pero rara vez por los terpenoides que ejercen efectos aditivos a la acción insecticida (Siddiqui *et al.*, 2002). Adicionalmente, los aceites contenidos en los extractos de neem les confieren propiedades penetrantes y de sinergia con la AZA y otros componentes (Stark y Walter, 1995).

El efecto de la AZA depende de su dosis y de la especie plaga a controlar, ya que puede reducir la alimentación, supervivencia, viabilidad de larvas, progenie, e incluso puede producir toxicidad aguda. Aunque la AZA se ha usado para

controlar áfidos, lepidópteros se requieren concentraciones mayores a 100 ppm para inducir un efecto primario antialimentario (Nisbet *et al.*, 1993), el cual se puede deber a su escasa movilidad en el floema (Schmutterer, 1985). Además de una disminución en la alimentación, los sustratos impregnados con AZA pueden reducir la supervivencia de *Macrosiphum rosae* L. y *Macrosiphoniella sanbornii* Gillette (Koul, 1999).

Según Nisbet *et al.*, (1994), se reduce la cantidad de ninfas viables producidas por adultos ápteros con una dieta con 25 ppm de AZA durante 24 a 52 h. Incluso, Lowery e Isman (1996), indican que las aplicaciones de 1 % de aceite de *A. indica* redujeron la progenie de *Myzus persicae* Sulzer en 82 % y la de *Nasonovia ribisnigri* Mosley en 66 %. El extracto acuoso de semilla de *A. indica* provoca mortalidad de *Aphis nerii* Boyer, aunque no logra prevenir que éste transmita el virus de la mancha anular del papayo (Hernández-Castro *et al.*, 2005).

El pulgón del melón (*Aphis gossypii* Glover) es una plaga que ataca numerosos cultivos, entre ellos plantas ornamentales del género *Ixora* (Rubiaceae) (Imenes *et al.*, 2002), y se presenta comúnmente sobre arbustos de *Ixora coccinea* L. Esta planta es importante para la industria de jardinería y floristería, y representa un recurso para las aves silvestres (Pérez-Rivera, 2000). Aunque *I. coccinea* es un hospedero habitual para *A. gossypii* en la zona Centro de Veracruz, no hay estudios sobre su control en esta planta y el manejo de este áfido en otros cultivos se ha basado en insecticidas químicos convencionales. Para el control de *A. gossypii* se buscan productos menos agresivos al ambiente, incluyendo a la AZA obtenida por diferentes procesos, por lo que se han probado los extractos de neem (Dos Santos *et al.*, 2004).

Khalequzzaman y Nahar (2008), señalan una CL₅₀ de 0.34 mg de AZA para *A. gossypii*, mientras que el (NIIR Board, 2004), presenta una CL₅₀ de 10 ppm de AZA para el extracto etanólico de neem en campo, contra esta especie.

Según, Dos Santos *et al.* (2004), la supervivencia y la fecundidad de ninfas del pulgón del melón se reducen con el extracto acuoso de semillas de neem. Así, la

mortalidad de este áfido puede estar relacionada con la dosis de AZA e incluso con el tipo de extracto de la semilla de neem. Es ya conocido el poder del neem para controlar las plagas. Las propiedades sutiles del neem (la repelencia, la inhibición del apetito, la ovoposición, el crecimiento, la reproducción, la esterilización, etc.) son ahora consideradas mucho más deseables que una muerte fulminante en los programas de control de plagas, debido a la reducción del riesgo que implica para los enemigos naturales de las plagas (comida envenenada o morir de hambre) (Ducrot, 2005).

Las propiedades del ingrediente activo del neem, comúnmente llamada Azadiractina, es el principal agente de la planta que actúa a la hora de combatir los insectos, este ingrediente activo normalmente se encuentra en la semilla en proporciones del 0.1 al 0.9 %. En dosis de 30-60 g/ha de este componente son suficientes para controlar diversos tipos de plagas chupadoras, masticadoras y defoliadoras (Bunch, 1997).

Esta planta crece muy rápido que al tercer año ya se pueden utilizar los primeros frutos para la elaboración artesanal de insecticida. Dentro de las propiedades de tipo:

Anti-alimentación: Fracciones tanto volátiles como no volátiles tienen propiedades no agradables al gusto de los insectos, resultando en una reducción apreciable de la actividad alimentaria de los insectos.

Repelente: (Un mensaje es emitido en la superficie tratada). La superficie tratada repele a los insectos mediante un mensaje olfativo, hacia el huésped siguiente, si es que lo hay. También afecta a la ovoposición.

Regulador del Crecimiento: Reduce la síntesis de las hormonas de crecimiento (ecdisona y juvenil) y la fecundidad, aumenta la proporción de huevecillos estériles, limita el desarrollo de huevecillos, pupa, y tasas de crecimiento, interrumpe la comunicación sexual, inhibe la muda y formación de quitina (NRC, 1992.).

2.8 Generalidades del gusano del fruto *Heliothis virescens*

Se le considera como una plaga clave y es de hábitos polífagos, los adultos son de color amarillo pajizo, con 3 bandas transversales oblicuas en las alas anteriores, las hembras ovipositan en hojas, brotes, botón floral, flor y fruto, son de hábitos nocturnos y las larvas de color verde amarillento a pardo rojizo, gris, pardo o totalmente verdosas. Las larvas neonatas recién emergidas, se alimentan de las hojas tiernas de la planta. (Artigas, 1994.).

2.8.1 Clasificación taxonómica de *Heliothis virescens*.

Según Fabricius, 1777, la clasificación taxonómica de *Heliothis virescens* es la siguiente:

Reino - Animalia

Phyllum - Arthropoda

Clase - Insecta

Orden - Lepidóptera

Familia - Noctuidae

Género - *Heliothis*

Especie - *virescens* Fab.

2.8.2 Características morfológicas.

Los adultos son semejantes en ambos sexos. Poseen aproximadamente 35 mm de espacio alar. El primer par de alas en su cara dorsal es de color verde-oliváceo, presentando bandas oblicuas más oscuras; la cara ventral es clara. El segundo par de alas posee coloración pálida con el margen externo oscuro. La cabeza y el tórax están cubiertos con pilosidad de color semejante al que presentan dorsalmente el primer par de alas. (Aragón, 2004). Las mariposas hembras depositan los huevos en el envés de las hojas de sus plantas huéspedes. La larva, alcanzando su total desarrollo, mide unos 35 mm de longitud; generalmente es verdosa, con varias bandas claras dispuestas longitudinalmente; también hay orugas grisáceas, amarillentas y rojizas. En pupa bajo la tierra, siendo esta su forma de resistencia invernal. (Aragón, 2004). (Figura 4).

2.8.2.1 Huevo.

Los huevecillos son de forma esférica con la base aplanada, presentan de 22 a 24 estrías perpendiculares, muy bien definidas, recién ovipositados son de color blanco cremoso y aproximadamente a las 24 horas se observa una franja de color café oscuro alrededor del huevo (Peterson, 1964).

2.8.2.2 Larva.

Las larvas son de colores muy variados, con bandas longitudinales y usualmente con puntitos negros. Las larvas de *H. virescens* tienen espínulas microscópicas en los pináculos cetígeros I y II en el 1º, 2º y 8º segmentos abdominales y la mandíbula tiene en la parte interna un retináculo de color oscuro en forma de peine. Son las responsables por el daño a las plantas, y pasan por 5 a 6 estadios y alcanzan 4 a 5 cm en su máximo desarrollo. En su mayoría están activos al atardecer y se refugian de la luz del día. (Oliver y Chapin, 1981).

2.8.2.3 Pupa.

La pupa es de color café brillante, mide 16 mm de longitud y se le encuentra en el suelo dentro de una celda a una profundidad de 3 a 8 cm. La etapa pupal puede

caer en diapausa. Esto puede suceder durante un período de calor extremo en verano, pero es más importante para el invierno. (King y Saunders, 1984).

2.8.2.4 Adulto.

Los adultos de esta especie miden 2 cm, de color amarillo verdoso, con tres bandas oblicuas en las alas anteriores, Las hembras pueden llegar a colocar hasta 400 huevecillos durante las noches. Normalmente los colocan individualmente sobre las hojas o estructuras terminales de la rama (Pacheco, 1985)

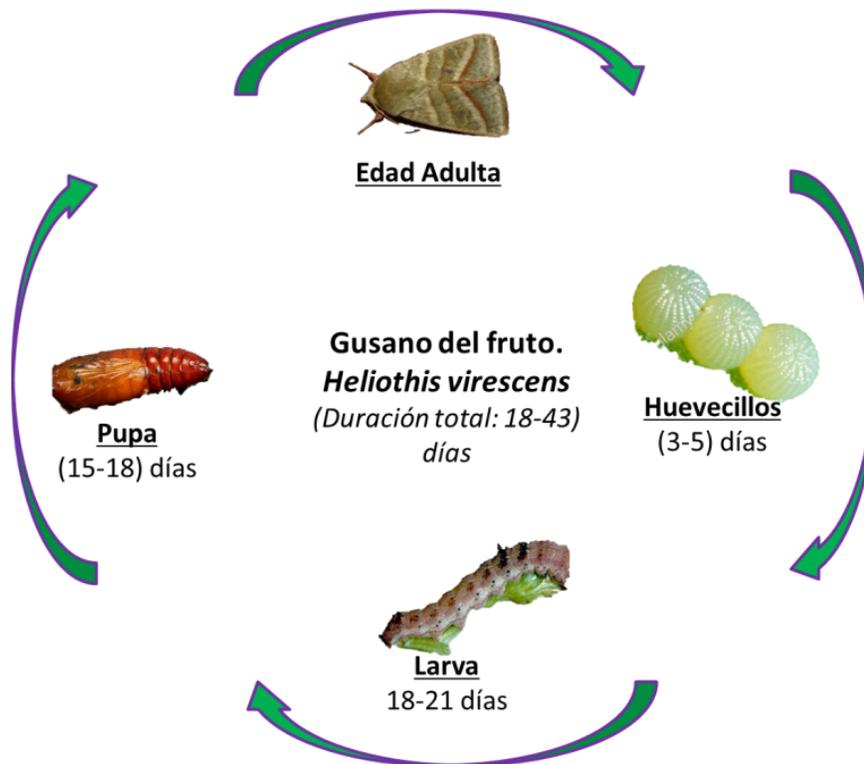


Figura 4. Ciclo Biológico de *H. virescens*. Tomado de (Saunders, Joseph L., 1998).

2.8.3 Daños

Las larvas son de hábitos fitófagos (Figura 5), dañan muy fuerte al cultivo en altas poblaciones, les atrae las flores y frutos para perforarla, en frutos causa pudrición y afecta la calidad del mismo (Artigas, 1994). Las larvas prefieren los frutos, disminuyendo considerablemente la producción. (FAO, 2013), se alimentan en sus primeros estadíos de follaje tierno del cultivo y conforme se van desarrollando llegan a dañar los frutos en formación, los dos primeros instares, se alimentan de follaje posteriormente la larva se traslada al fruto. Tardan de 14 a 25 días. Los huevecillos son ovipositados individualmente en las hojas de la planta y tardan de 2 a 4 días en eclosionar (CESAVEG). (Figura 5).



Figura 5. a) Daños en fruto; b) Larva de *H. virescens* alimentándose del fruto; c) Adulto *H. virescens*; d) Huevo y larvas de *H. virescens*

3. JUSTIFICACION.

La presente investigación trata de integrar una alternativa viable para la disminución de los plaguicidas tradicionales, dado que se ha comprobado que estos afectan gravemente la salud humana, el medio ambiente y organismos vivos, así como, también la calidad de los productos del campo, esto dado a la gran toxicidad de los plaguicidas. Los insecticidas de origen botánico a partir de infusiones vegetales, constituyen una alternativa viable dentro del control de insectos plaga de importancia agrícola, solo se han evaluado muy pocas plantas con propiedades insecticidas en relación a la fuente natural que presentan, por lo que las perspectivas en la investigación científica son aún mayores. A partir de la necesidad de implementarse en programas de manejo integrado de plagas como estrategias, como es el caso de la planta del nim (*Azadirachta indica* Juss) utilizando la hoja, corteza, fruto y semillas. Reemplazando así, el uso de pesticidas sintéticos que han generado serios problemas de tipo ambiental ocasionando resistencia de las plagas, problemas en la salud humana y altos costos de producción.

4. HIPOTESIS.

Existe diferencia de la actividad toxica, de los extractos evaluados de hoja, flor, semilla y corteza de neem (*Azadirachta indica* Juss), la que presente mayor actividad biológica.

5. OBJETIVO GENERAL

- Evaluación de hoja, flor, corteza y fruto de *Azadirachta indica* Juss., para el control de gusano del fruto *Heliothis virescens* Fab.

5.1 OBJETIVO PARTICULAR

- Determinar DL₅₀ (Dosis Letal Media).
- Determinar TL₅₀ (Tiempo Letal Medio).

6. MATERIALES Y METODOS.

6.1 Localización del área de Estudio.

La presente investigación se llevó acabo en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) .

6.2 Fase de campo

6.2.1 Colecta del material

El material fue traído directamente del invernadero de jitomate del Dr. Víctor Sotelo, que se encuentra en el Campo Experimental, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos ubicado en el municipio de Cuernavaca, col. Chamilpa, el cual fue donado Fig.6. Se utilizaron las hojas como alimento para el insecto, se depositaron en bolsas de plástico con su respectiva etiqueta de colecta, posteriormente, se trasladaron al



Fig.6 Invernadero de donde se obtuvo el jitomate.

laboratorio para ser procesadas, se utilizaron solamente las hojas sanas y se pasaron por un proceso de desinfección utilizando hipoclorito de sodio al 3 % y se realizó un enjuague con agua estéril, se pasó directamente al proceso de sacado en intemperie, solamente como una medida de protección de sanidad.

Para la colecta del material de las plantas de neem *A. indica*, se obtuvo directamente del árbol, ubicado en el municipio de Xochitepec, como son: hoja, flor, corteza, y fruto (Figura 7), también, se colocaron en bolsas de plástico con sus respectivos datos de colecta. Se utilizó como componente orgánico las hojas, corteza, semilla y



Fig. 7 Árbol *A. indica*.

flor. Posteriormente, se pasó por un proceso de lavado utilizando hipoclorito de sodio al 3 % y se realizó un enjuague con agua estéril, se pasó posteriormente directamente al proceso de sacado en intemperie solamente como una medida de protección del sustrato.

6.3 Fase de laboratorio.

6.3.1 Separación de muestras.

Con las partes de las plantas ya colectadas, se empezó a separar las partes de la como (hojas, flor, corteza y fruto), se tomó una rama de la cual se fue separando hoja por hoja, posteriormente, fueron colocando en hojas de papel con fondo blanco para la toma de muestras en fotografía (Figura 8), Se colocaron las muestras de flor, cortezas, fruto y hoja en una coladera plástica para el proceso de lavado con agua destilada y desinfectado con hipoclorito de sodio al 3 % y se dejó secar a la intemperie por 5 horas.



Fig. 8 Partes separadas de la rama colectada del árbol de Neem. A) Flor, B) Corteza, C) Hoja y D) Fruto.

6.3.2 Preparación de la infusión.

Para la obtención de la infusión, se siguió el siguiente procedimiento: El material vegetal fresco ya separados se procedió a pesar 50 g para utilizar en el bioensayo, posteriormente, en una olla de presión de marca OSTER con capacidad de 5 litros. Se utilizó una jarra graduada para medir la cantidad de agua a hervir que fueron 2 litros, la cual, se colocó a fuego lento por un tiempo de 35 minutos, ya en su punto de ebullición, se apagó el fuego y se midió 500 ml de agua por extracto (hojas, flor, corteza y fruto), se dejaron reposar por 48 horas; posteriormente se filtró con una malla de 100 puntos para la extracción de la infusión acuosa a utilizar. Los tratamientos de hoja, tallo, fruto y flor, se colocaron en una botella de ámbar de 250mls las cuales se les colocó una etiqueta para identificar y 250 ml quedaron disponibles como solución stock (Figura 8).



Fig. 9 Proceso de obtención de la infusión,

6.4 Establecimiento del bioensayo

Para establecer el bioensayo de pruebas, se realizaron cuatro tratamientos y el testigo con cinco repeticiones, se utilizaron 250 larvas de segundo instar de *H. virescens* repartidas en 50 larvas por dosis aplicada. Se utilizaron cajas plásticas de 250 ml y se colocó una servilleta de fondo húmeda, en el cual se le colocaron dos hojas de jitomate impregnadas de solución de dosis respectiva de 0.05 ml, 0.10 ml y 0.15 ml en cada repetición del bioensayo con la ayuda de un atomizador de 250 ml (Figura 10) y fueron depositadas en cada caja plástica colocando 2 larvas de 2 instar de la filiar 1, con un total de 50 larvas por tratamiento de *H. virescens*, la cual, las hojas fueron tratadas con su respectiva dosis en experimentación. Este bioensayo se estableció a las 12:00pm a una temperatura de 24°C con una humedad relativa del 60 % a 12 horas luz, 12 horas oscuridad y la revisión se realizó a las 48 horas de exposición al efecto del extracto vegetal.



Fig. 10 Materiales utilizados para el establecimiento del bioensayo.

6.5 Diseño experimental.

Se estableció un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cinco tratamientos (t) y cinco repeticiones (r).

6.5.1 Los tratamientos a evaluar serán:

Tratamiento <i>Azadirachta indica</i>	Extracción por infusión	Dosis ia/ml	Porcentaje de concentración
Hoja	Acuoso 50 g. de hoja /L. de Agua.	0.05/100 ml 0.10/100 ml 0.15/100 ml	10 %
Flor	Acuoso 50 g. de Corteza/L. de agua.	0.05/100 ml 0.10/100 ml 0.15/100 ml	10 %
Semilla	Acuoso 50 g. de frutos /L. de agua.	0.05/100 ml 0.10/100 ml 0.15/100 ml	10 %
Corteza	Acuoso 50 gr. Flor /L. de agua.	0.05/100 ml 0.10/100 ml 0.15/100 ml	10 %
Testigo.	-----	100 ml agua	-----

6.5.2 Distribución de tratamientos en bioensayo.

Las aplicaciones de la distribución de los tratamientos (Figura 11), se contó el número de larvas vivas y larvas muertas de *H. virescens* a las 48 h después de su aplicación, para corroborar la efectividad de las infusiones en experimento, estas aplicaciones se realizaron con la ayuda de una pizeta graduada para la mezcla de soluciones con sus diferentes dosis.

Tratamientos Estrac.Veg	DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS		
	Repeticiones.		
Hoja	 0.05ml	 0.10ml	 0.15ml
Flor	 0.05ml	 0.10ml	 0.15ml
Fruto	 0.05ml	 0.10ml	 0.15ml
Corteza	 0.05ml	 0.10ml	 0.15ml
Testigo			

Figura 11. Distribución de los tratamientos en el bioensayo.

6.5.3 Evaluación de la DL₅₀ y El TL₅₀.

El presente estudio se diseñó, utilizando como parámetro, el trabajo realizado por Negrete (2003) en donde se evaluaron extractos etanólico de semilla de neem, sobre *S. frugiperda* en su estado L2 y se encontraron dosis de mortalidad desde las 2.000 ppm. A partir de ésta referencia se aumentó la dosis a 0.05, 0.10 y 0.15 ml/L, para comprobar la letalidad de las suspensiones por infusión de neem. Las lecturas del bioensayo se realizaron a las 48 horas después de su aplicación, registrando el porcentaje de mortalidad (qx) y determinando el tiempo al cual murió el 50% de la población (TL₅₀) para cada infusión evaluada. Las larvas muertas fueron retiradas de su respectiva caja plástica. En el análisis estadístico, se utilizó un modelo de probabilidad lineal con especificación de los modelos de elección discreta (Análisis Probit) y un modelo estadístico completamente al azar (DCA),

analizado por el método de medidas repetidas en el tiempo, con un $\alpha = 0,05$. Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones y cada repetición con cinco unidades experimentales (125 unidades experimentales). Cada unidad experimental comprendió de una caja plástica de 8,5 cm de diámetro, la cual, contenía dos hojas tiernas de jitomate de 3.25 cm, las hojas fueron sumergidas con diferentes concentraciones del extracto hoja, flor, fruto corteza, así como, el testigo absoluto por espacio de 5 minutos antes de introducirlos a la caja plásticas con capacidad de 250 ml y con su respectivas larva de segundo instar (L2). Las larvas utilizadas fueron sometidas a un período de ayuno por 3 h antes de montar el bioensayo, para garantizar el consumo del extracto vegetal. La mortalidad de las larvas se determinó por medio de su observación continua (Borrero y Zenner de Polonía, 1996), y con la ayuda de una aguja debidamente esterilizada, y aceptando lo afirmado por Machado (1991), quien asegura que la inspección ocular no garantiza con certeza el estado de muerte larval de ningún insecto, se realizaron punciones suaves con aguja sobre el cuerpo de la larva. Además, la sintomatología presentada por las larvas afectadas, la apariencia inicial de color café claro y acortamiento del cuerpo, hasta aparentar una sequedad intensa, también fueron los signos indicadores del efecto del tratamiento sobre el descarte de las larvas. La efectividad del tratamiento se calculó con la fórmula de Abbott (1925).

$$E = \frac{(\% IT - \% ITr) \times 100}{\% IT}$$

Dónde:

E: Efectividad

IT: infestación en el testigo

ITr: Infestación en el tratamiento.

6.5.4 Análisis estadístico.

Con los datos obtenidos de larvas vivas y larvas muertas, se estimara el índice de mortalidad de la población en estudio de *H. virescens*, utilizando la fórmula para estimar tasa de mortalidad (qx).

$$qx = dt / Nto$$

Dónde:

qx: Tasa de mortalidad.

dt: Número de individuos muertos por unidad de tiempo.

Nto: Número de individuos al inicio del periodo de tiempo estudiado.

La efectividad biológica de cada tratamiento se calculó con los datos obtenidos del número de larvas vivas y número de larvas muertas, de acuerdo a la fórmula de ABBOT.

$$EB = (IT - it / IT) 100 \%$$

Dónde:

EB= Efectividad biológica.

IT = Severidad del testigo sin tratar

It = Severidad del tratamiento.

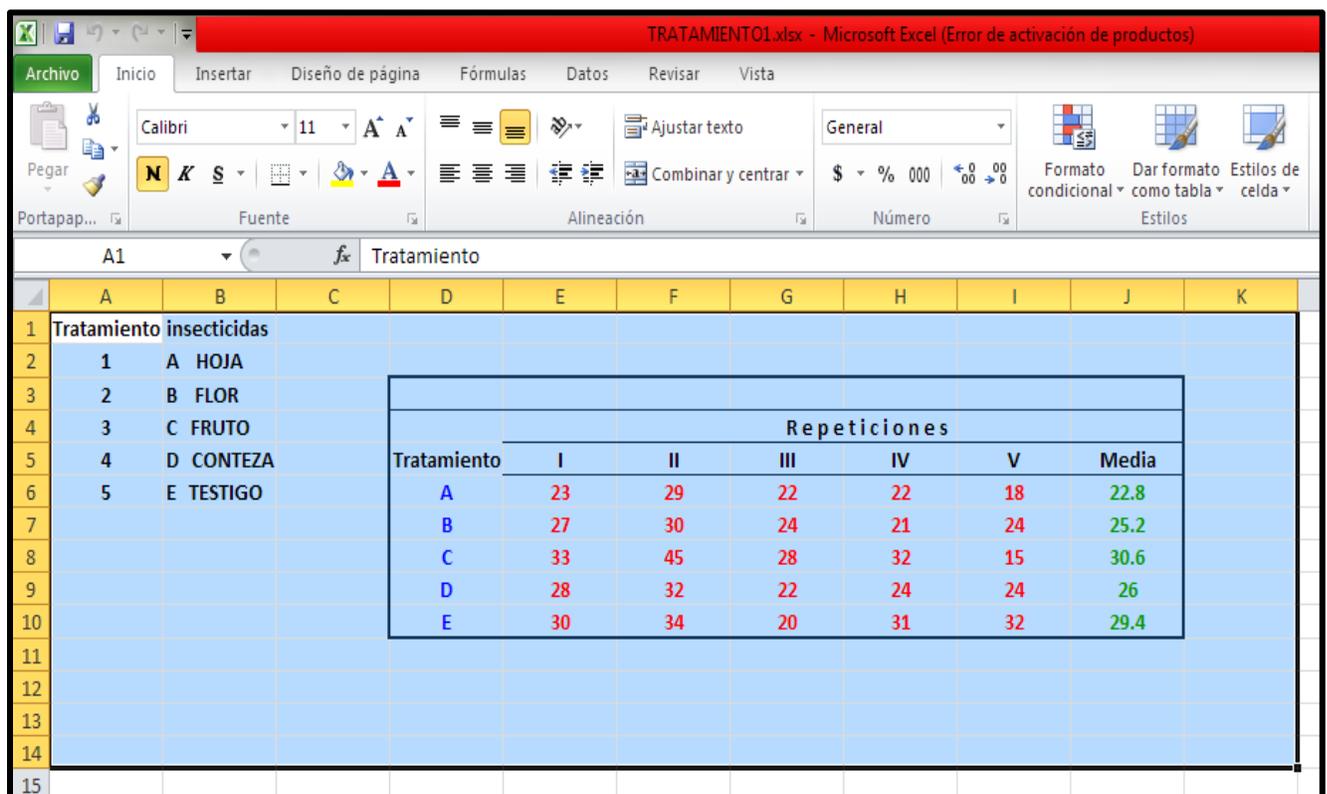
Los datos obtenidos de la evaluaciones se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), utilizando e Statistic Software Minitab 15, con separación de medias (DMS), mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), para determinar la diferencia significativas entre los tratamientos en estudio.

7. Resultados y Discusión.

7.1 Efecto de la infusión de neem el larvas de *H. virescens*.

Con los datos obtenidos de las pruebas de efectividad de las infusiones de neem *Azadirachta indica* Juss, hoja, flor, fruto corteza e incluyendo el testigo absoluto, fueron sometidos para su análisis en un programa estadístico MINITAB 15. Version 3. Los resultados fueron los siguientes:

La distribución de los tratamientos, fueron 4 tratamientos más el testigo con cinco repeticiones, se realizó el conteo de larvas vivas y larvas muertas expuestas a las dosis establecidas en este bioensayo Cuadro 1.

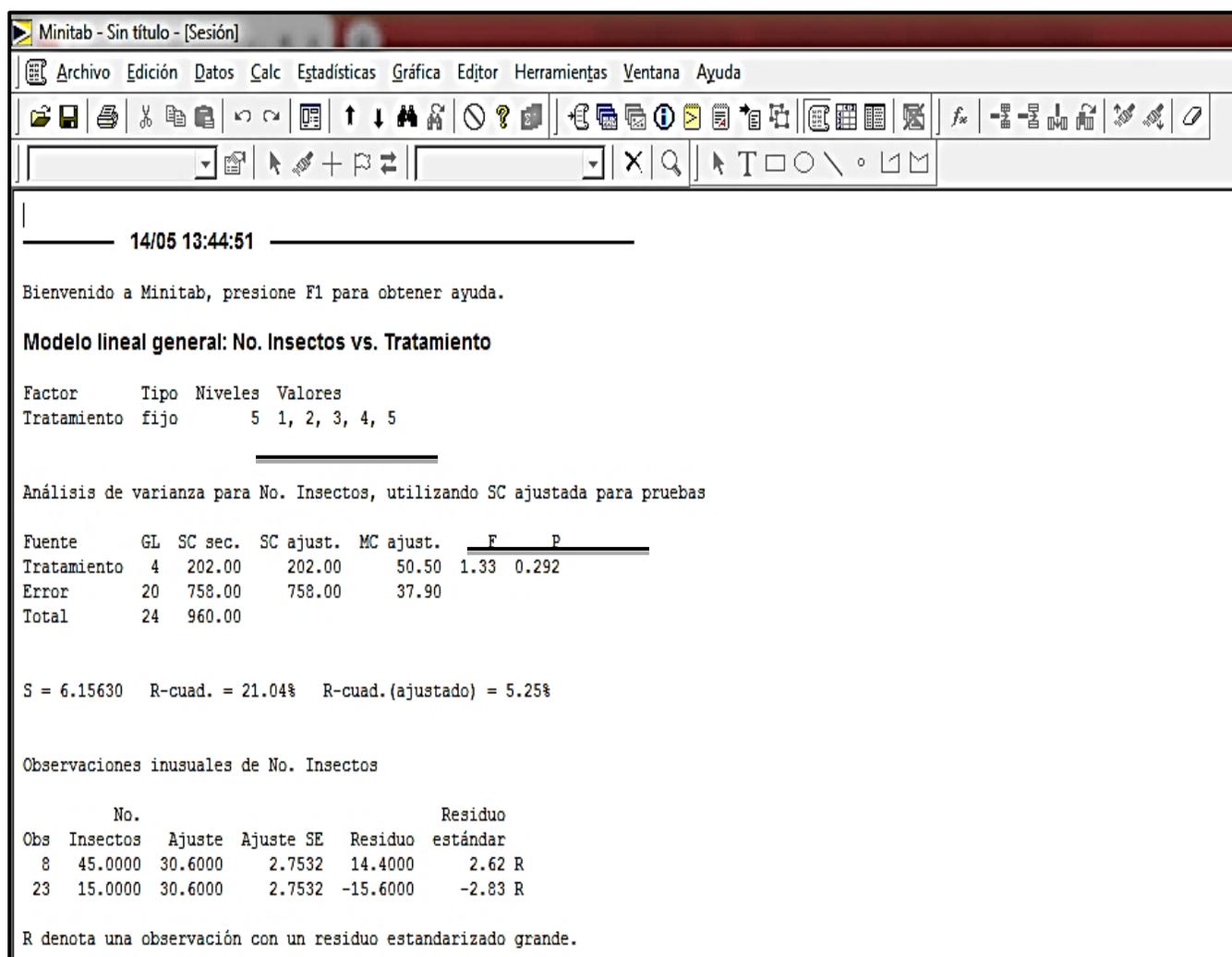


Tratamiento		Repeticiones					Media
Tratamiento		I	II	III	IV	V	
A	23	29	22	22	18	22.8	
B	27	30	24	21	24	25.2	
C	33	45	28	32	15	30.6	
D	28	32	22	24	24	26	
E	30	34	20	31	32	29.4	

Cuadro 1.- Distribución de tratamientos/insecticidas en estudio.

Al ser sometidos al análisis de varianza mediante a un modelo lineal con un factor de cinco tratamientos y un factor de valores de 5 repeticiones con 50 larvas por dosis, siendo un total de 250 larvas en cinco repeticiones expuestas de *Heliothis virescens* de segundo instar de la filial 1, con un ajuste de pruebas con un factor calculado que fue de F_{cal} de 1.33 con una probabilidad de 0.29 al 0.05 %.

Cuadro 2.



14/05 13:44:51

Bienvenido a Minitab, presione F1 para obtener ayuda.

Modelo lineal general: No. Insectos vs. Tratamiento

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamiento	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5

Análisis de varianza para No. Insectos, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
Tratamiento	4	202.00	202.00	50.50	1.33	0.292
Error	20	758.00	758.00	37.90		
Total	24	960.00				

S = 6.15630 R-cuad. = 21.04% R-cuad. (ajustado) = 5.25%

Observaciones inusuales de No. Insectos

Obs	No. Insectos	Ajuste	Ajuste SE	Residuo	Residuo estándar
8	45.0000	30.6000	2.7532	14.4000	2.62 R
23	15.0000	30.6000	2.7532	-15.6000	-2.83 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Cuadro 2. Modelo lineal número de larvas expuestas a infusiones de nim en el Tratamiento.

7.2 Prueba de efectividad en *Heliothis virescens*.

Al evaluar el efecto de las infusiones vegetales utilizados hoja, flor, fruto, corteza de la exposición tóxica en 48 horas, existen diferencias estadísticas en el tiempo de exposición a los tratamientos evaluados, en la mortalidad larval ($P_v = 0,0004$). A 0.05 mg /100 ml a las 48 h se tuvo el 80 % de la mortalidad larvaria, a 0.10 mg/100 ml alcanzó el 96 %, y a 0.15 mg/ 100 ml, se registró el 76 % (Figura 12).

A mayor dosis, el tiempo de exposición de las larvas al efecto de la infusión vegetal para provocar su muerte fue menor. Esta respuesta, según Ramos, (1999) se debió al efecto residual de los productos del neem, aproximadamente de 72 a 96 horas. Algunos investigadores afirman que esto parece ser suficiente para obtener un buen control de esta plaga. Bajo condiciones estrictamente de laboratorio y con de agua permanente, pierden las fuerzas las larvas, compensándolo con repetidas e intensivas ingesta de alimentos de su hospedero. En tales casos el efecto antialimentario es vencido a las pocas horas, (Ramos, 1999).

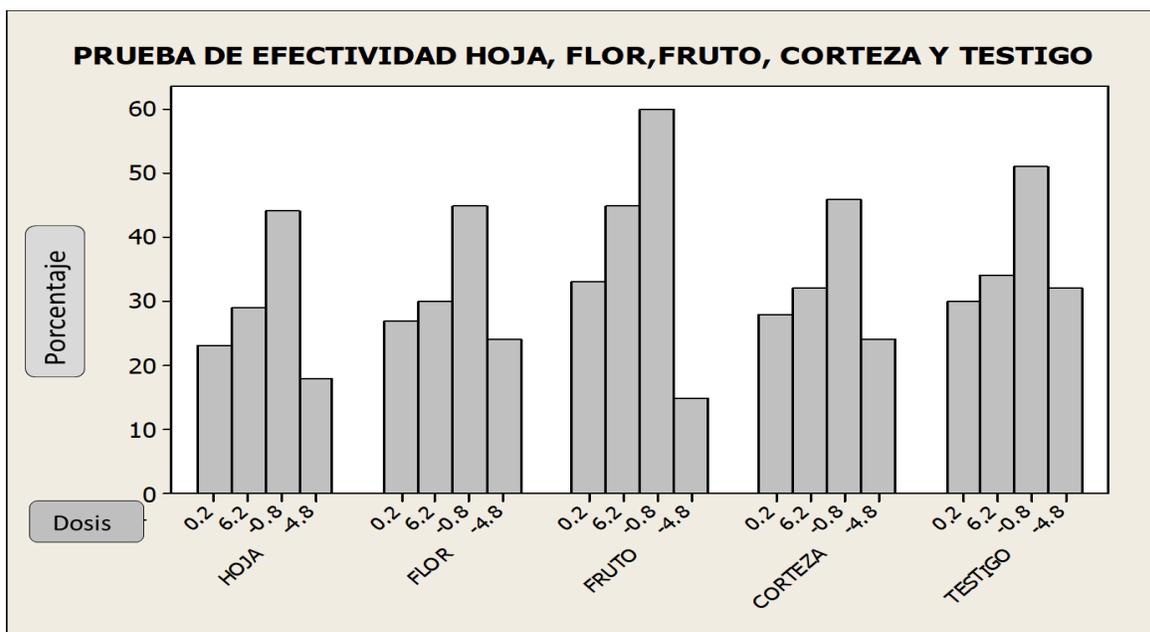


FIGURA 12. Prueba de efectividad de infusión vegetal de neem.

El valor Probit identificado como el TL50 fue de 11.1 h. A sí mismo se determinó el TL₅₀₋₄₈ de 19.9 h, con una $P_v = 0.0004$, y con un coeficiente de determinación (R^2 de 99.53 %) (Figura 13). Los resultados de TL₅₀₋₄₈ coinciden con los encontrados por Colonia y Gómez (1995) donde reportaron efectos letales sobre las larvas después de las 12 h de comenzado el bioensayo. Según Shultz *et al.* (1992) la respuesta de mortalidad de las larvas, se debe sólo al tiempo de acción que duro la exposición de las infusiones vegetales del neem. Desde las 25 horas de establecido el bioensayo las larvas aun vivas comenzaron el proceso de cambio de ínstar larval, por lo que el efecto de mortalidad de larvas en los tratamientos después de estas horas podría estar muy influenciado por la azadirachtina y sus derivados causando inhibición del crecimiento de la cutícula (integumento) (Schmutterer, 1990), porque de acuerdo con Redfern *et al.* (1981) citados por Gutiérrez *et al.* (1999). Correa y Ruge, (2004), mencionan que *S. frugiperda* reduce el desarrollo de sus ^{estadios} en un 95% y mueren por estrangulamiento dentro de sus exoesqueletos con apenas 1 ppm de azadiractina pura. A todo esto, Hellpap (1983) concluyó que el TL₅₀, varía de acuerdo con la edad de las larvas, de igual manera encontró una correlación entre el Determinación de la DL₅₀ y TL₅₀. Tiempo de acción y la concentración de azadirachtina purificada de semillas. A su vez él determinó que larvas jóvenes sometidas a concentraciones de 5 ppm de azadirachtina sobrevivían por encima de 33 días, con 10 ppm, 26 días y con 100 ppm hubo una mortalidad total después del día noveno. Correa y Ruge (2004). Hellpap (1983) halló mortalidades del 100% con 50 ppm azadirachtina pura de extractos de semilla y TL₁₀₀ de un día de emergidas con extractos etanólico, lo cual corrobora la efectividad en poco tiempo de los extractos de neem y la correlación inversa encontrada entre la edad de las larvas y el efecto letal de los extractos, pues a menor edad larval mayor acción letal. Según Ramos (1999), se ha comprobado la efectividad contra más de 175 especies evaluadas, a dosis de tan sólo 40 ppm de azadirachtina. El análisis estadístico Probit determinó una DL₅₀ y DL₉₀ a las 12 h de 2.256 ppm y 3.130 ppm con un $R^2 = 88.54\%$. A las 18 h una DL₅₀ = 3.928 ppm y DL₉₀ = 29.199 con un $R^2 = 90.30\%$. A las 25 h una DL

50 = 2.818 ppm y DL90 = 15.192 ppm con un R2 = 90,30% y a las 40 h una DL 50 = 1.064 ppm y DL90 = 4.354 ppm con R2 =90,30%,. Los estudios realizados por Negrete (2003), identificaron que 2.000 ppm de extractos de semilla de neem fueron insuficientes para causar el 50 % de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda*, conclusiones que orientaron el presente trabajo para plantear la propuesta de utilizar las concentraciones anotadas.

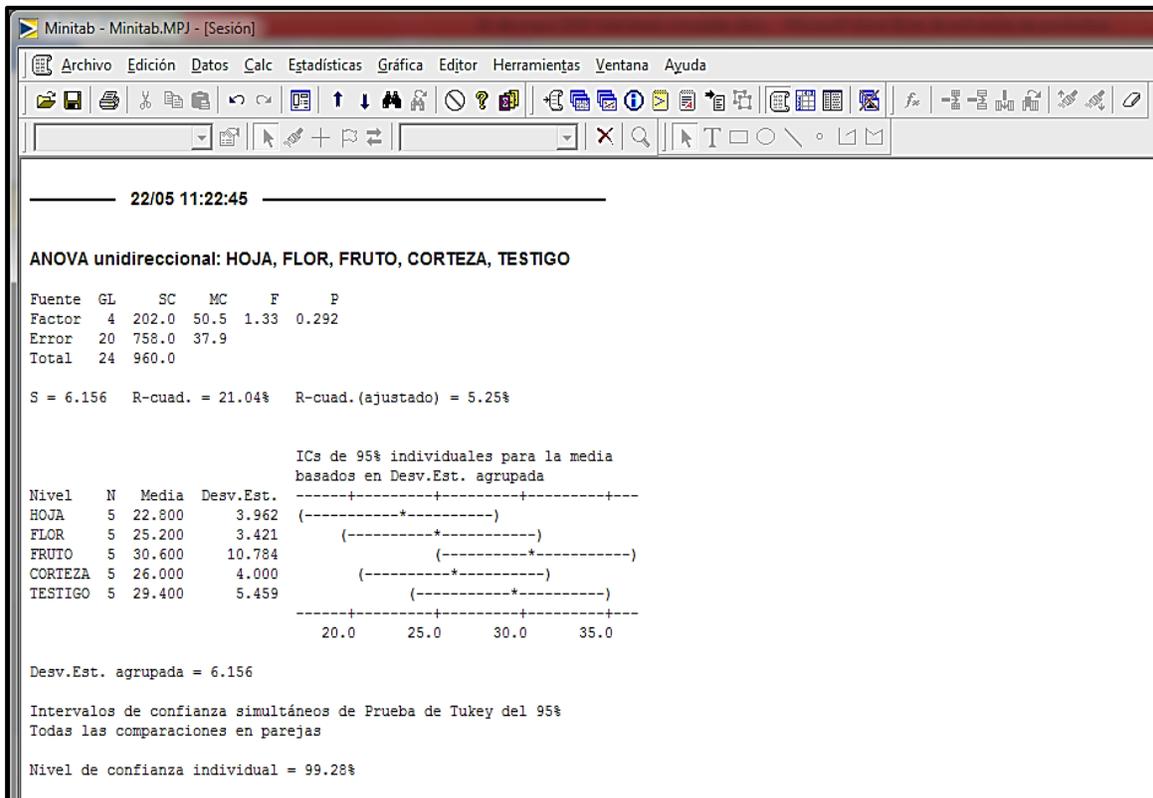


Figura 13.-prueba de Tukey, con intervalo de confianza al (95 %)

8.- CONCLUSIONES

- El tratamiento de infusión de hoja a dosis de 0.10 mg/100 ml presentó mayor efectividad de 96 % sobre el control de larvas de segundo instar de gusano del fruto *Heliothis virescens* Fab., 1777).
- De los cuatro tratamientos más el testigo evaluados, el tratamiento en la dosis de 0.15 mg/ 100 ml fue el que demostró un menor porcentaje de 76% de control, siendo el extracto de corteza.
- Los análisis de varianza y pruebas de comparación de medias, muestran que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que se concluye que, la razón por la cual no reportó resultados negativos en las diferentes variables de respuesta evaluadas se debe a las concentraciones 0.05 mg /100 ml, 0.10mg/100ml y 0.15 mg /100 ml utilizadas de cada infusión.
- La Dosis Letal Media (**DL₅₀**). Se manifiesta, que en las evaluaciones sobre las larvas de segundo instar del gusano del fruto (*Heliothis virescens*, Fab; 1777), con las concentraciones de 0.05 mg/100 ml, 0.10mg/100ml y 0.15 mg/100 ml estas presentaron diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de mortalidad, mostrando eficiencias de control de 96% respectivamente.
- El Tiempo Total Letal (**TL₅₀**), de exposición fue de 48 horas con un porcentaje de 99.53 %, al someterlos al análisis Probit.

9.- PERSPECTIVAS.

Es necesaria la búsqueda de nuevas herramientas o alternativas de manejo de las plagas agrícolas para su control, alternativamente, se ha incursionado hoy en día con derivados de plantas, que actúan como biosidas. En la búsqueda de tales alternativas promisorias para el control de esta plaga, se destaca el uso de infusiones de hoja, flor, semilla y corteza del árbol de neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Este árbol ha sido utilizado a lo largo de los años en el mundo con facultades bioinsecticidas como una alternativa viable para su empleo dentro de los programas estratégicos del manejo integrado de plagas (MIP). Y a partir de este, aprovechar los recursos naturales. Además, ante las restricciones sanitarias impuestas por muchos países a los residuos de plaguicidas en productos animales y vegetales se ha hecho imprescindible en la búsqueda de otras sustancias, alternativas y métodos para controlar a los insectos plaga.

10.- Bibliografía.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economy Entomology*,18: 265–267pp.

Alonso, O. 2012 Los insecticidas botánicos: una opción ecológica para el control de plagas. *Pastos y Forrajes*, [S.I.], v. 22, n. 1, feb. 2012. ISSN 2078-8452 pp.

Aragón, J. 2004. Control integrado de plagas y otros organismos dañinos. En *El Cultivo del Girasol en Siembra Directa*, ASAGIR, 9: 208 pp.

Aragón, J. 2004. Guía de reconocimiento y manejo de plagas tempranas relacionadas a la siembra directa. INTA Marcos Juárez. Centro Regional Córdoba. Agro ediciones INTA. 64 p.

Artigas, J. 1994. Entomología económica insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario. vol.\. n. ediciones universidad de concepción. Concepción, chile. 943 p.

Baley, L. H. 1977. Manual of cultivated plants. Mc. *Millan publishing, Co., Inc. New York*. 612-613 pp.

Bolaños, H.A. 1998. Introducción a la Olericultura. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. 380 p.

Borrero, F.F. y I. Zenner de Polonia. 1996. Metodología de bioensayo para evaluar la Determinación de la DL50 y TL50. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*. 61(2): 4564-4575. 2008. 4573susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda*

Bunch, R. 1997. Principios de la Agricultura Orgánica. Hoja a Hoja (Costa Rica) Carrero R. y K. Lizarazo. 2006. 20: 2-6 pp.

CATIE. 1990. (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de tomate. Turrialba. Costa Rica. 9p

CENTA. 1996. (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal). Guía Técnica Programa de Hortalizas y Frutales, Cultivo de Tomate, San Andrés, La Libertad El Salvador, C.A.

CESAVEG. (Comité Estatal de Sanidad Vegetal Guanajuato). Campaña Manejo Fitosanitario del Jitomate. Recuperado de http://www.cesaveg.org.mx/html/folletos/folletos_11/folleto_jitomate_11.pdf

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

Chávez, D.C. y Y.J. Pérez. 2008. Efectos alelopáticos de extractos de piperáceas sobre germinación y emergencia de arvenses y plantas cultivadas bajo condiciones controladas. 56-58 pp

Chiapusio, G., F. Pellissier y C. Gallet. 2004. Uptake and translocation of phytochemical 2-benzoxazolinone (BOA) in radish seeds and seedlings. *J. Exp. Bot.* 55(402), 1587-1592 pp.

COSTA, J. J., A. E. MARGHARETIS y O. J. MARISCO. 1974. Introducción a la Terapéutica vegetal. *A. I. D.* Buenos Aires 532 p.

Coudriet, D. L., N. Prabhaker and D. E. Meyerdrik. 1985. Sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae): Effects of neem - seed extract on oviposition and immature stages. *Environmental Entomology* 14:77-779 pp.

Cruz, F. M y R. del Angel S. 2004. El árbol de Nim, Establecimiento y Aprovechamiento en la Huasteca Potosina, INIFAP-CIRNE, Campo Experimental Huichihuayán y Campo Experimental Ébano. Folleto Técnico Núm.3. San Luis Potosí, México 23 p.

D'Andrea, A., D. Ferri, O. Maccioni, S. A. Van der Esch, and F. Vitali. 1994. Applications of SFE technology to the extraction of active substances from *Azadirachta indica* A. Juss. seeds. In: Kleeburg, H. (ed). Practice Oriented Results on the Use and Production of Neem-Ingredients and Pheromones. *Druck und Graphic*, Giessen, Germany. 115-123 pp.

Delgado, W., M.E. Pachón, A. Celis, C. Mendoza, J.O. 2007. Informe técnico de avance proyecto "Bioprospección participativa de comunidades vegetales en la región Sumapaz medio bajo occidental. Colciencias-Universidad Nacional de Colombia-Universidad de Cundinamarca. 55 p.

Dos Santos, T. M., N. P. Costa, A. L. Torres, and A. L. B. Junior. 2004. Effect of neem extract on the cotton aphid. *Pesquisa Agropecuaria Bras.* 39(11):1071-1076 pp.

Ducrot, P.H. 2005. Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticida activity of natural products from higher plants. 47–58 pp.

EPA. 2010. Biopesticide demonstration grant program. (En línea). Disponible en: Washington, DC U.S. *Environmental Protection Agency*. Office of Pesticide Programs (7511P) EPA 731-F-10-004. US Environmental Protection Agency.

Espinosa Z.C. 2004. Producción de Tomate en Invernadero. Multiservicios Agropecuarios y Forestales. Zapata y Asociados. México. 44p.

Fabricius, J.C. (1777) *Genera insectorum eorumque characteres naturales secundum numerum, figuram, situm et proportionem*. Chilonii, M.F. Bartschii.

Fajardo, C.E., M. Puentes, S. Torres, A. Fierro y R. Espinosa. 2005. Efecto alelopático de extracto acuoso en la germinación y desarrollo de malezas en diferentes épocas del año. 610-616pp.

FAO, 2001 Figueroa F., Paltrinieri G., Rojas L. Procesamiento de Frutas y Hortalizas Mediante Métodos Artesanales y de Pequeña Escala. 1ra edición. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, 1993pp.

FAO, 2013. EL CULTIVO DE TOMATE CON BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN LA AGRICULTURA URBANA Y PERIURBANA.

Grainge, M. y S. Ahmed. 1998. Handbook of plant with pest-control properties. John Wiley and sons, Nueva York. 470 p.

Hermel, K., E. Pahlich & H. Schumetter, 1987. *Azadirachtin* content of Neem kernels from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity and light. *Journal of Agricultural Sciences*, 27: 171-184pp.

Hernández-Castro, E., V. Utrera L., J. A. Villanueva-Jiménez, D. A. Rodríguez-Lagunes, y M. M. Ojeda-Ramírez. 2005. Extractos de neem en el comportamiento de *Aphis nerii* Boyer y la transmisión del virus de la mancha anular del papayo. *J. Agr. U. Puerto Rico* 89(1-2). 75-84pp.

HUNZIKER, A. T. 1979. South American Solanaceae: a Synoptic Survey. En: "Hawkes, J. G., Lester, R. N.; Skelding, A. D. (Eds). *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. Academic Press, New York & London": 49-85pp.

Imenes, S. D. L., E. C. Bergmann, A. L. B. G. Peronti, S. Ide, and J. E. R. Martins. 2002. *Aphids (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoids (Hymenoptera) on Ixora spp. (Rubiaceae) in the States of Bahia and São Paulo, Brazil - formal records of interactions*. Arq. Instituto Biol. de São Paulo 69(4): 55-64pp.

INTA, 1999 (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). Cultivo de tomate. Guía tecnológica del tomate. ed. Henner Obregón N° 22 Managua, Nicaragua. 55pp.

Johnson, S., E.D. Morgan & C.E. Peiris, 1996. Development of the major triterpenoides and oil in the fruits and seeds of Neem (*Azadirachta indica*). *Annals of Botany*, 78: 383-388pp.

Khalequzzaman, M., and J. Nahar. 2008. *Relative toxicity of some insecticides and azadirachtin against four crop infesting aphid species*. U. J. Zool. Rajshahi U. 27: 31-34pp.

King, A. B. y J.L. Saunders. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en America Central. Overseas Development Administration. Turrialba, Costa Rica. 96-97pp.

Koolman, J., H.J. Bidmon, M. Lehmann & G. Kauser, 1998. One the mode of action of azadirachtin in blowfly larvae and pupae. *Endocrinological Frontiers in Physiological Insect Ecology*, 1: 55-67pp.

Koul, O., 1999. *Neem of Tree: Today and in the New Millennium*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands. 170 p.

Koul, O., and S. Wahab. 2004. *Neem: Today and in the New Millennium*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 276 pp.

Larson, R. O. 1985. Stable anti-pest neem seed extract. US Patent. 4: 556-562pp.

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

M. REPETTO, P. SANZ, 1995. GLOSARIO DE TERMINOS USADOS EN TOXICOLOGIA. *AET*. 66p.

Machado, D.N. 1991. Biología, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populaces de *Spodoptera grugiperda* (*J.E. Smith, 1797*) (*Lepidóptera: Noctuidae*) em duas dietas artificillas. Tese de Doctor em Ciências, Área de concentração: Entomología. Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 28-53 p.

Mohammed Anwarul Kabir Choudhury. 2005.

Moorthy, S. R., and A. D. Kumar. 2004. Natural azadirachtin composition. US Patent. 6: 733-802 pp.

Mordue, A.J., E.D. Morgan & A.J. Nisbet, 2005. Azadirachtin, a Natural Product in Insect Control, 117-135 p. In: Mordue, A. J., E. D. Morgan & A.J. Nisbet. *Comprehensive Molecular Insect Science - Control*. Elsevier, Oxford, United Kingdom. 28-75pp.

Morgan, E.D., 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17: 4096–4105pp.

National Research Council (NRC). 1992, Neem. A tree for solving global problems. Reporto fan Ad Hoc panel of the board on Sci. And Technol, for international development. National Academy press. Washington, D.C.107p.

Negrete, F.B. 2003. *Uso de insecticidas no convencionales para el manejo integrado de plagas en yuca, maíz y tabaco con productores de economía campesina e indígena en la región del caribe*. Programa Regional de Investigación Agrícola. C.I. Turipaná, Cereté.28p.

Nieto A. R. y Velasco H. E., 2006. Cultivo de Jitomate en Hidroponía e Invernadero. 2da edición. Departamento de Fitotecnia Universidad Autónoma de Chapingo. México. 45-47pp.

NIIR Board. 2004. Handbook on Neem and Allied Products. *National Institute of Industrial Research*. New Delhi, India. 478 p.

Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford, and R. H. C. Strang. 1994. The effects of azadirachtin-treated diets on the feeding behaviour and fecundity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* Sulzer. *Entomol. Exp. Appl.* 71(1): 65-72pp.

Nisbet, A. J., J. A. T. Woodford, R. H. C. Strang, and J. D. Connolly. 1993. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on the peach-potato aphid *Myzus persicae* Sulzer. *Entomol. Exp. Appl.* 68(1): 87-98pp.

Oliver, A.D. and J. B. Chapin.1981.Biology and illustratedkey for the identification of twenty species of economically important noctuid pest. Bull.No. 733. Lousiana State University and Agricultura and Mechanical College, 26P.

Pacheco M., F. 1985. Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. INIFAP, Campo Agrícola Experimental Valle del Yaqui. Cd. Obregón, Sonora, México. Libro técnico No. 1-414 p.

Pacheco, M.F.1985. Plagas de los Cultivos Agrícolas en Sonora y Baja California.1° Ed. Edit. CIANO.SARH.INIA.Campo Agrícola Experimental Valle de Yaqui.Cd. Obregon, Sonora, MExico. 222-223pp.

Panorama Agroalimentario, 2017. Tomate rojo. Recuperado de <file:///C:/Users/Rokiitaku/Desktop/tesis/PDFs/jitomate/Panorama%20Agroalimentario%20Tomate%20Rojo%202017.pdf>, 34p.

Pérez-Rivera, R. A. 2000. La cruz de malta (*Ixora coccinea* L.): planta importante para las aves urbanas de Puerto Rico. *El Pitirre* 13(1): 23-24pp.

Peterson,A. 1964. Egg types among months of the noctuidae (lepidoptera). *Florida Entomol.* 47(2): 71-91.

PLAPP, F.W. JR. 1981. Toxicity of synthetic pyrethroids to laboratory and field populations of the tobacco budworm in Central Texas. *Jour. Econ. Ent.* 74 (2) 207-209 p.

Robayo, D. y Y. Rodríguez. 2006. Determinación de la actividad alelopática de extractos sobre germinación de semillas de arvenses. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 84 p.

Rodríguez, H.C. y D. Nieto. 1997. Propiedades insecticidas. pp. 229-239. En: Rebouças São Jose, A., I. Vilas Boas, O. Magalhães y R. Hojo (eds). Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia). Bahía, Brasil.

Rojop Bravo A. 2008. Control in Vitro con extractos vegetales de patógenos que afectan al cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis de Especialidad en Ingeniería de Invernaderos, UAQ-Amazcala. México, 32p.

SAGARPA; Boletín de la producción Tomate rojo (Jitomate). Producción de tomate rojo, años agrícolas 2016-2017 Avance a enero 2018. 28-34 pp

Schmutterer, H & R.P. Singh, 2002. In The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. and Other Meliaceae Plants. 2nd ed. Neem Foundation: Mumbai, 411–456p.

Schmutterer, H. 1985. Which insect pests can be controlled by application of neem seed kernel extracts under field conditions. *Z. Angew. Entomol.* 100: 468-475 pp.

Sharma, V., S. Walia, J. Kumar, M. G. Nair, and B. S. Parmar. 2003. An efficient method for the purification and characterization of nematocidal azadirachtins A, B, and H, using MPLC and ESIMS. *J. Agric. Food Chem.* 51(14): 3966- 3972pp.

Siddiqui, B. S., F. Afshan, S. Faizi, S. N. H. Naqvi, and R. M. Tariq. 2002. *Two new triterpenoids from Azadirachta indica A. Juss. and their insecticidal activity.* *J. Nat. Prod.* 65(8): 1216-1218pp.

Singh, A., Singh, D.K., Mishra, T.N., Agarwal, R.A. 1996. Molluscicides of plant origin. *Biol. Agri. Horti.* 13: 205–252pp.

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

Vega, E. 1989. Efecto de diferentes concentraciones de extractos acuosos de semillas de niin contra las plagas del cultivo de frijol. Informe de ensayo de campo del Proyecto Insecticida Botánico Nim. Centro Nacional de Protección Vegetal. Managua, Nicaragua. 63-67 pp.

Zeledon, B. 1989. Uso de extractoc del árbol de Nim (*Azadirachta indica A. Juss.*) en Bemisin tabaci (*Genn.*). Tesis de Ingeniero Agrónomo, ISCA, Managua, Nicaragua. 12p.

Cuernavaca, Morelos a 17 de febrero de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Valeria Martínez Estrada**, con el título del trabajo: **PRUEBAS DE EFECTIVIDAD DE NEEM (*Azadirachta indica* JUSS) CONTRA EL GUSANO DEL FRUTO (*Heliothis virescens* FAB; 1777), (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) EN JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill.).**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación de **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DR. ROGELIO OLIVER GUADARRAMA

SECRETARIO: BIÓL. ANDREA ELIZABETH GRANJENO COLÍN

VOCAL: DRA. MARÍA INÉS AYALA ENRÍQUEZ

SUPLENTE: BIÓL. GRACIELA BUSTOS ZAGAL

SUPLENTE: DR. GUADALUPE PEÑA CHORA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ROGELIO OLIVER GUADARRAMA | Fecha:2021-02-17 23:51:50 | Firmante

UYDey1QUcMhxQrgNblL1StLaYbQyFMRploypwjS6yYZpqNYE1Z5kpu8ecdwO2Zy/bXlj6yKx/7tPc2f5LwqTPTMtAdTHSzxS4H9m4lXoJ/FdXBuLA1Jt+m5xpcdBNj2xazjjsrUmYpq/8zH6ZqZLUjyj1Y5Hf0NhVyp+/QLsAlslfOkHYAKOXL6oAFny6GKyfYSRjkg6qSztEHHYSqtXEx8g+iS6NalQIYaGAmDCcBgs+zhR0hpwRjynbxfWlQIG2sf5hO1J8zPUZQ655e0ebl/yu/D79JfECGtfBEgUakZKkG/D0u1XhWAMCcFgdDgRuvk9ZF8fXcnT35RAGQ2UFKA==

ANDREA ELIZABETH GRANJENO COLIN | Fecha:2021-02-18 11:17:35 | Firmante

azh5ruvEGK2Hbr/lydcACbglpccmXy1HBnOJ6blgak+BzUEzUOilc8cnXp88WxlgbdjM4pgoSl+s1Jaeieq7Ncu3SMXcVMNEPNpVSMBJZ7BDHXhWz5FmW2ChmOAFqg/QdpUKO UwZM81dpojaTelh2/vq7aDFxUHj5bbp0cDz7qL9uoSrpPrhtwKu3CnWCBN8bx58Fum5kNizw95s2Znxy1MniAfONirBgini+oforfoqHnlT5U2GDRc/tZTe8m8yalSysZBCgyfeNXN VkvuHHjK2S+L2H61JRaSH+Krof8E9dmKBmupcYUkMv7wLCEy9chTqLWOPLe9el77JfzUg==

MARIA INES AYALA ENRIQUEZ | Fecha:2021-02-18 13:12:09 | Firmante

G4+BFpSUKmoxqkSpb3G6PR5x7LjXTqTdWNSNVG5tFSWbPEVx7O2iS/cZd4mNiQZ8rtzRai9OqqLGowYCMmP5cZ0+JqEPXeMxh5ADfnCpv89DsoAKGTQmYb4OqKtbV8bOZ gksX5r3m2lrRTJuQc3inceiJlHONRh7hgBawkedMijzZYBy4PoFLWI2KXT01fpMOdzUjhzWmFdR2aGzVanj2BFsbNXa0xu760YzWsnfmXoOkLeO/nlp0K4N+Mwl4+xi4W5A3mLM 529Sx9PMc+9kAl3m3lrmGve6gQ9lvt8MKr0/rKfwYM5wTQWAltvX0Cj17ghyAJcXM0SCZcxnXU/qA==

GUADALUPE PEÑA CHORA | Fecha:2021-02-19 18:33:08 | Firmante

ZbzarXpOBbGOU5a0/YcHp3zRbBHfFnf2NjzUOfLGz2N17pMqpxzZdsZTFTWRXMIQIQ0SzcIOltGgFkxZeZGjGctoDATeA/ajCBdb6B5u2Ad98a+uc+G0BISlIdbyXQWJbvFsseD EL+ke7TgXdGyW67oXWYkDlMoG2B406EduVNiYmaChX2Aw8BsfUuAyVITzCZarHTk1WGdOMB4Fj/iMIEKGihVBOEYGT3AHDrcbLFJk5j/pzbCnhOQ/D0FY7HG50jtHxjoEPey vZdXukY2sfIbHBT3aPGcJc6JqQ+bkBAT3Vl/zKCCQ4Ui3LaRDXV1q9swW3LrldU6SBGiMjQ==

GRACIELA BUSTOS ZAGAL | Fecha:2021-02-23 18:10:01 | Firmante

gtldfyuul1iVuuJqZwucBdo70J6L4CqUCSLatgjiW+rBwpqQYK/Wwc75dH2igz8/pMRuvxH1MY0Peg4Dirqs3KB9JMx2irEanF1uMU4rheNxR0vhuWn0azF8alDImz+m7ioJWm/JIE/K qk5L0rn8C8u+9mDIWbSEzLX/MoK4gB7YeqvLjppa0uNchuk375Y4ZPexA1INLv8uijUwvcHmBlqSPkPJBZ1Aojt3piLhbipecEmib3T110QamWOOG4jtXGtr7oPyiaZmntqoYiXK0H+ M2edWklshSC+L5d5SqzR+PcgfCqJU6QeqQZpZ4X9798cO7JqNACsg6CZtlMg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



Wnb8X4

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/7Bjmiem0r8QTYHZShnRWgG37ZczpA8e>

