



Estación Experimental Tropical Pichilingue

"I Seminario Nacional de Investigación en Agricultura Orgánica"

Pichilingue, 29 y 30 de septiembre del 2003



*Quevedo - Los Ríos - Ecuador
2003*

Compatibilidad del nim *Azadirachta indica* A. Juss en el manejo natural del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton en Manabí, Ecuador.

Ernesto Gonzalo Cañarte Bermúdez¹, Néstor Bautista Martínez², Jorge Vera Graziano², Hugo César Arredondo Bernal³

¹ Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Estación Experimental Portoviejo. Casilla postal 100. Portoviejo-Ecuador.

E-mail: ecanarte2002@yahoo.com

² Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, 56230 Montecillo, Estado de México, México.

³ Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Tecomán, Colima, México.

Resumen

En Manabí, Ecuador durante el periodo septiembre del 2000 a marzo del 2001, se evaluó la eficacia del nim *Azadirachta indica* A. Juss sobre el minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton y el efecto en sus parasitoides. Se realizaron pruebas de campo, jaula entomológica y olfatómetro en invernadero. En las tres pruebas, los tratamientos fueron: extracto acuoso de nim (50 g L⁻¹), aceite formulado de nim (10 ml L⁻¹), y un testigo absoluto. El estudio de campo, se lo realizó en la Hacienda. Teodomira (Sta. Ana) de la EEPortoviejo del INIAP en un huerto de limón "sutil" *Citrus aurantifolia*, cada unidad experimental formada por nueve árboles, considerándose al central como el árbol útil, se realizaron tres aplicaciones de tratamientos, que fueron evaluadas cada 48 horas y hasta los diez días posteriores a la aplicación. Se utilizó un diseño de bloques completo al azar, con cuatro repeticiones. Las pruebas de jaula entomológica y olfatómetro se realizaron en invernadero y se repitieron por dos ocasiones cada una. En la jaula se emplearon 10 plantas de mandarina "cleopatra" (*C. reticulata*) por unidad experimental, mientras que para la prueba de olfatómetro, se utilizaron frascos de plástico transparente, donde cada unidad experimental la constituía un frasco con 20 adultos del minador. En ambas pruebas se utilizó un diseño completo al azar con cinco repeticiones. Las variables evaluadas fueron: Infestación del minador, larvas muertas, vivas, depredadas, pupas, adultos emergidos del minador, camaras pupales parasitadas. Los resultados indican que la mayor mortalidad de la larvas del minador, la causó el extracto acuoso de nim con 77.17 %, mortalidad que inició a las 48 horas posteriores a la aplicación, sugiriendo que éste, actuó como inhibidor de la alimentación. El extracto acuoso de nim presentó en promedio 88.80 % de repelencia de adultos de *P. citrella* y el aceite formulado de nim 85.64 %, la alta mortalidad de larvas de *P. citrella*, causada por los tratamientos de nim, repercutió directamente en el porcentaje de parasitismo de la plaga, restando posibilidades de establecimiento y desarrollo a los parasitoides de este insecto por la supresión del huésped, sumandose a esto, el efecto repelente que esta sustancia ejerce contra adultos parasitoides.

ABSTRACT

In Manabí-Ecuador during the period September of 2000 to March of 2001, it was evaluated the efficiency of the neem *Azadirachta indica* Juss on the Citrus Leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton and the effect in its parasites. It was accomplished field tests as well as cage and olfatometer test in greenhouse. In the three tests, the treatments were: aqueous extract of neem (50 gL⁻¹), formulated oil of neem (10 mL⁻¹), and an absolute witness. The field study, was accomplished in the Hcda. Teodomira of the PORTOVIEJO Experimental Station of INIAP in a Key lime *Citrus aurantifolia* orchard, each experimental unit was formed by nine trees, being considered to the central as the useful tree, were accomplished three applications of treatments, that were evaluated each 48 hours and until the ten subsequent days to the application. It was used a random complete blocks design, with four repetitions. The cage and olfatometer test were accomplished in greenhouse and were repeated by two occasions each one. In the cage were employed 10 tangerine "cleopatra" plants (*C. reticulata*) by experimental unit, while for the olfatometer test, were used flasks of transparent plastic, where each experimental unit was constituting it a flask with 20 adult of the Citrus Leafminer. In both tests was used a random complete design with five repetitions. The evaluated variables were: Infestation of Citrus Leafmines, dead larvae, live larvae, depredated larvae, pupae, adult emerged of CLM, and parasited pupae chambers. The results indicate that the greater mortality of the larvae of the Citrus Leafminer, caused it the aqueous extract of neem with 77.17%, mortality that began to 48 subsequent hours to the application, suggesting that, the extract acted as inhibitor of the nourishment. The aqueous extract of neem presented in average 88.80% of repellency of adults of *P. citrella*, and formulated oil of neem shows 85.64%, the high larva mortality of *P. citrella* was caused by the treatments of neem, impinged directly on the percentage of parasitism of the plague, subtracting possibilities of establishment and development to the parasites of this plague due to the suppression of the host, adding to this, the repellent effect that this substance shows against adult parasites.

ANTECEDENTES

La citricultura ecuatoriana, con aproximadamente 15,269 hectáreas, ha experimentado en los últimos años el impacto negativo de una diversidad de problemas entomológicos que amenazan su producción. Uno de estos insectos-plaga y el más reciente, es el minador de la hoja de los cítricos (MHC) *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), detectado por primera vez en Manabí, Ecuador en febrero de 1995, cuyo desplazamiento fue tan rápido que en seis meses se lo reportó en casi todo el litoral ecuatoriano (Manabí, Guayas, Los Ríos y Esmeraldas) (Valarezo y Cañarte, 1998), Actualmente se lo encuentra en todas las zonas productoras de cítricos del país.

Esta plaga es de reciente introducción en América y su primer reporte se dio en Florida, EEUU en mayo de 1993 (Maes, 1994), sus larvas minan el haz y envés de las hojas tiernas y en altas infestaciones los tallos y frutos pequeños (Knapp *et al.*, 1995). En Manabí se reportan infestaciones hasta 97.14% y pérdidas del 45% del rendimiento en limón "sutil" (Valarezo y Cañarte, 1998), que han derivado en el uso por parte de los productores de una diversidad de insecticidas de alta residualidad, que contribuyen al desarrollo de resistencia y al desequilibrio biológico por disminución de sus enemigos naturales.

Ante tan grave panorama, debe prestarse especial interés en la acción que ejercen organismos benéficos como los parasitoides, ya que en Ecuador hasta 1998 se reportó, la presencia de once parasitoides nativos del minador de la familia Eulophidae, Elasmidae y Signiphoridae, ejerciendo hasta un 50% de parasitismo (Valarezo y Cañarte, 1998).

Considerando este antecedente, salta a la vista, la búsqueda de alternativas menos impactantes a estos organismos benéficos. Una de estas alternativas, es posiblemente el uso de extractos vegetales con propiedades insecticidas e insectistáticas como el nim *Azadirachta indica* A. Juss, que se reporta, como eficiente controlador de esta plaga, aprovechando su efecto repelente, antialimentario, regulado de crecimiento, o agente de mortalidad de larvas, entre otras modos de acción (Singh y Azam, 1986; Zhang *et al.*, 1994 y Bautista y Bravo, 1997).

Considerando lo mencionado, podemos reconocer que tanto los parasitoides, como la eficacia del nim, han sido probadas individualmente como eficientes reguladores de las poblaciones del minador. Sin embargo, pese a la poca o nula toxicidad que se le atribuye al nim sobre los parasitoides, no se han realizado estudios profundos sobre la compatibilidad de estas dos técnicas de control en el minador de la hoja de los cítricos, resultando prioritario su estudio, mas aún, si consideramos los resultados citados por Joshi *et al.* (1982), Hoelmer *et al.* (1990), Feldhege y Schmutterer (1993), Schmutterer (1997), y Raguraman y Singh (1999), que describen el efecto negativo del nim sobre estados de desarrollo de algunos parasitoides de otras plaga, como *Trichogramma* sp. y *Encarsia* sp.

Con estos antecedentes y tratando de integrar métodos alternativos al uso de químicos, sean éstos, los parasitoides con el empleo de ingredientes activos naturales, se realizó esta investigación cuyo objetivo fundamental fue determinar la eficacia del nim sobre *P. citrella* y el efecto en sus parasitoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en las localidades de Lodana y El Cady en la provincia de Manabí-Ecuador, cuya ubicación geográfica y características climáticas se describen en el cuadro 1. El periodo de estudio abarcó desde septiembre de 2000 a marzo de 2001, realizándose pruebas de campo, jaula entomológica y olfatómetro en invernadero.

Cuadro 1. Ubicación geográfica y características climáticas de las localidades Lodana y El Cady. Manabí, Ecuador.

Características	Localidades 1/	
	Lodana (Santa Ana)	El Cady (Portoviejo)
Ubicación geográfica	01°12" latitud S. y 80°23" longitud O.	01°10" latitud S. y 80°26" longitud O.
Altitud	47 msnm	48 msnm
Precipitación media anual	684.6 mm	468.91 mm
Temperatura media anual	26 °C	25.32 °C
Periodo lluvioso	enero- abril	enero-abril

1/ Boletines anuales del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (INHAMI) del Ecuador. Estación Agrometeorológica Portoviejo (periodo 1988-2001).

Prueba de campo

Se efectuó en un lote de limón "sutil" en "La Teodomira" del INIAP (Lodana); cada unidad experimental constaba de nueve árboles, considerándose al central como el árbol útil. Se efectuaron tres aplicaciones de los tratamientos: extracto acuoso de nim (50 gL⁻¹), aceite formulado de nim (10 mL⁻¹), y un testigo absoluto al cual se aplicó agua. Se utilizó un diseño de bloques completo al azar, con cuatro repeticiones. La aplicación de tratamientos se decidió con base a tres parámetros: a) infestación del MHC alrededor del 30%, b) presencia de larvas del minador entre los instares I y II y c) brotación mayor del 60%. Se evaluó cada 48 horas hasta y hasta 10 días posteriores a la aplicación de tratamientos. Se determinó **efecto repelente del nim sobre adultos de *P. citrella***, con base al porcentaje de infestación del minador en 20 brotes tiernos/parcela útil y aplicando la fórmula citada por González *et al.* (1995):

$$\% \text{ de I} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hojas minadas por brote}}{\text{N}^\circ \text{ total de hojas minadas del brote}} \times 100$$

Para determinar **la mortalidad de larvas de *P. citrella* por efecto del nim**, previo a la aplicación de los tratamientos, se eliminaron en cada brote las hojas sin minas, dejando únicamente aquellas con presencia de larvas vivas del MHC, entre el primer y segundo instar. Posterior a la aplicación de tratamientos, los brotes seleccionados eran protegidos con fundas de organdí, con la finalidad de evitar la depredación de las larvas del minador. La mortalidad de larvas fue determinada en forma visual en el campo, utilizando un optivisor y aplicando la fórmula citada por Tiertó (1994):

$$\% \text{ de M} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de insectos muertos}}{\text{Población total del insecto}} \times 100$$

El Efecto del nim sobre el parasitismo de *P. citrella*, fue determinado con base a las variables: larvas vivas, muertas, adultos emergidos del minador y pupas parasitadas, con las que se obtuvo el porcentaje de parasitismo en cada evaluación, aplicando la fórmula citada por Castaño (1996):

$$\% \text{ de P} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de estados biológicos del parasitoide}}{\text{N}^\circ \text{ total de estados biológicos (parasitoide + plaga)}} \times 100$$

Prueba en jaula entomológica

En una jaula entomológica también se observó el efecto del nim sobre el MHC y sus parasitoides. La investigación se realizó en la EEPortoviejo del INIAP, ubicada en “El Cady”. Esta prueba se repitió en dos fechas (épocas lluviosa y seca). En el interior de la jaula de (2x2x2m) recubierta de tela de organdí, se colocaron 150 plantas de mandarina “cleopatra” (*C. reticulata*), éstas se distribuyeron en tres bloques de 50 plantas, inmediatamente se realizó el despunte a todas ellas a una altura de 50cm con la finalidad de estimular la emisión uniforme de brotes nuevos y sanos, libres del MHC. Sobre ellos se realizó la aplicación de los mismos tres tratamientos e inmediatamente las plantas fueron transportadas a campo abierto, distribuyéndolas en cinco repeticiones con 10 plantas por cada unidad experimental. Aquí permanecieron por espacio de ocho días, para permitir la oviposición y desarrollo hasta el instar I del minador. Concluido este periodo, las plantas fueron trasladadas de regreso a la jaula, para suprimir el riesgo de la depredación de larvas del minador. Se realizaron evaluaciones a los 10, 15 y 20 días de la aplicación de los tratamientos, se utilizó un diseño completo al azar con cinco repeticiones. Se determinó la repelencia del nim sobre adultos del MHC y sobre los parasitoides, así como la mortalidad larvas del MHC por efecto del nim.

Prueba de repelencia con olfatómetro en invernadero

En la EEPortoviejo, se estudió la repelencia del nim sobre adultos del MHC. La prueba se repitió por dos ocasiones. Se aplicó la metodología descrita por Ortega y Schuster (2000) (comunicación personal¹), que considera la utilización de olfatómetros de plástico transparente de un tamaño de 20cm de altura. La prueba iniciaba cada día a las 6:00AM, cortando discos de hojas de 2.5cm, los cuales eran sumergidos en los mismos tratamientos por 10 segundos, posteriormente se les colocó en una malla, por 30 minutos para que se sequen. De ahí eran colocados en la parte superior de cada olfatómetro. Las evaluaciones iniciaban a las 7AM y a partir de esta hora se tomaban datos a la hora 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 24 horas. La única variable registrada fue el número de adultos posados en el disco de hoja, se realizó una repetición por día, con un total de cinco repeticiones en un diseño completo ala azar, la unidad experimental la constituía un frasco con 20 adultos. Se utilizó la fórmula puesta por Gillnwater y McDonald (1975):

$$\% \text{ de R} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de insectos en el centro del disco testigo} - \text{N}^\circ \text{ de insectos en el centro del disco tratado}}{\text{N}^\circ \text{ de insectos en el centro del disco testigo} + \text{N}^\circ \text{ de insectos en el centro del disco tratado}} \times 100$$

Preparación y aplicación de tratamientos

Para el tratamiento con extracto acuoso, se controló el proceso desde la cosecha al beneficio de la semilla de nim. En cada aplicación se molió la cantidad de semilla necesaria, que se reposó con agua por 24 horas previa a la aplicación, se coló por dos ocasiones y se aplicó a la concentración señalada. Para el segundo tratamiento se utilizó el aceite formulado de nim INBIO 75, el cual es fabricado en Manabí, Ecuador por el Centro Manabita de Desarrollo Comunitario (CEMADEC).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa estadístico SAS. Versión 6.12, se aplicó a las variables que mostraron diferencias estadística la prueba de separación de medias Tukey.

1/ Ortega, L. D. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, 56230. Montecillo, Edo. de México, México.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de campo

La repelencia del nim hacia las poblaciones de adultos del MHC se determinó con base en el porcentaje de infestación. El análisis de separación de medias Tukey detectó que los tratamientos extracto acuoso y aceite formulado de nim, difieren estadísticamente del testigo, el cual presenta hasta un 47.49% de infestación. En la prueba 3, se aprecia que estadísticamente el extracto acuoso difiere de los otros dos tratamientos, presentando una menor infestación (11.97%), seguido del aceite formulado con 18.41%. Cabe destacar que ambos promedios están muy por debajo del testigo que alcanzó 44.94%. Queda entonces probado que el nim actúa como repelente de adultos del minador, al mantenerlo alejado de la planta por vía olfatoria o gustativa, interfiriendo en su oviposición (Jotwani y Srivastava, 1981; Schmutterer y Ascher, 1987 y Botanical Agricultural Insecticide, 1996). Esto también concuerda con lo presentado por Zhang *et al.* (1994) en China, donde aplicando semanalmente aceite de nim en concentración de 1.4%, obtuvo infestaciones inferiores al 10%, mientras en el testigo llegó hasta un 97%. En la Figura 1, se presentan los resultados promedios de infestación de las tres aplicaciones de tratamientos, observando al testigo con 43.16%, muy diferenciado del extracto acuoso que alcanzó 10.28% y el aceite de nim 12.12% de infestación.

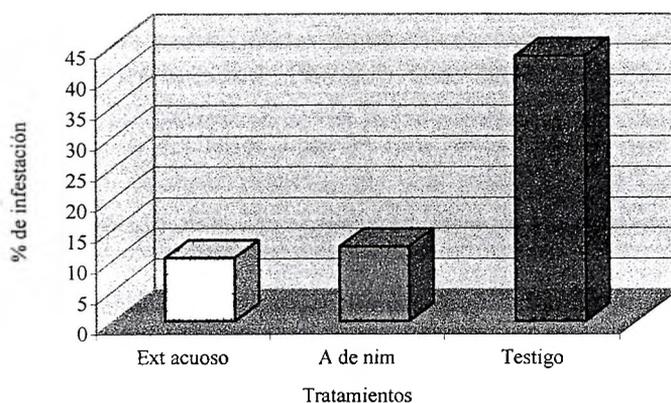


Figura 1. Porcentaje promedio de infestación de *Phyllocnistis citrella* entre tratamientos estudiados para su control, en la prueba de campo. Lodana, Ecuador. 2001.

Al analizar la mortalidad de larvas del MHC, se aprecia que las parcelas tratadas con nim difieren estadísticamente del testigo en las tres pruebas. Presentando de manera continua una alta mortalidad, que llega a 77.17% en el extracto acuoso y 68.96% en el aceite formulado, resultados concordantes con Bautista (1997), quien manifiesta que el extracto acuoso de nim (50 gL^{-1}) causa una mortalidad de larvas de 70.56% entre las 48 y 72 horas posteriores a su aplicación, mientras que Valarezo y Cañarte (1998), reportan una mortalidad del aceite formulado (Inbio 75) superior a 80% hasta los 12 días después de la aplicación. Así mismo, se determinó en este estudio que la mortalidad de larvas empieza a las 48 horas posteriores a la aplicación y llega a su máxima eficacia a los 10 días, lo que es coincidente con CEMADEC (1994). El inicio de la mortalidad del nim a las 48 horas posteriores a la aplicación, suponer que éste, ya sea como extracto o aceite formulado, actúa como antialimentario sobre las larvas de esta plaga. Los limonoides contenidos en el nim, paralizan los músculos de las mandíbulas provocando luego la muerte del insecto (Jotwani y Srivastava, 1981; Schmutterer y Ascher, 1987 y Botanical Agricultural Insecticide, 1996). La acción antialimentaria se manifiesta en el tracto gastro-intestinal del insecto, por lo que la azadiractina ingerida, causa trastornos en el proceso de digestión y asimilación. (Jotwani y

Srivastava, 1981; Schmutterer y Ascher, 1987 y Botanical Agricultural Insecticide, 1996). Otra característica favorable y complementaria del nim, es la acción traslaminar que presenta (Botanical Agricultural Insecticida, 1996). Acción que le permite llegar hasta las paredes del parénquima donde se alimenta la larva, causando trastornos en el proceso de síntesis de la proteína (Sponagel, 1997).

Esta efectividad biológica mostrada por el nim sobre larvas del MHC interfiere significativamente en la población de los parasitoides de este insecto-plaga. Las medias de tratamientos de la última evaluación para la variable parasitismo, demuestran diferencias estadísticas entre el nim y el testigo, el cual presentó porcentajes de parasitismo notablemente superiores (66.04; 62.26 y 53.30%) para las pruebas 3, 2 y 1 respectivamente. Por otro lado, se determinó que siendo los tratamientos con nim diferentes estadísticamente al testigo, también entre ellos hay diferencias estadísticas, presentando el tratamiento con extracto acuoso el menor porcentaje de parasitismo (no mayor a 12.42%) en la prueba 3; mientras que el aceite de nim alcanzó un parasitismo de 23.30% en la prueba 1.

La variación de parasitismo entre los tratamientos de nim, se relaciona con la diferencial mortalidad de larvas que presentan, ya que como se recordará el extracto acuoso presentó mayor mortalidad de larvas, restando posibilidades de establecimiento y desarrollo a los parasitoides de la plaga por la supresión del huésped. Por otro lado hay que considerar que en Lodana, se encontró preferentemente *Ageniaspis citricola* parasitando el 70.21% del minador, endoparásito específico de huevos y larvas del MHC, por lo que en la medida que el nim cause mortalidad (77.17%) sobre las larvas de este insecto, en esa medida interfiere con el parasitoide, al eliminarlo durante su proceso de desarrollo sobre la larva de *P. citrella*, situación que hace difícil la compatibilidad de estas dos técnicas de control.

En la Figura 2, se hace una comparación de los resultados promedios de las tres aplicaciones de tratamientos, de las variables, mortalidad de larvas del MHC, parasitismo y pupas del minador, pudiéndose resaltar lo ya mencionado sobre la eficacia del nim tanto en extracto acuoso, como en aceite formulado sobre larvas de *P. citrella* con promedios de 75.92% y 65.90% de mortalidad, respectivamente. Sin embargo, esta alta mortalidad repercute en los parasitoides, ya que como se observa en la figura antes mencionada, en los tratamientos de nim el parasitismo es sustancialmente inferior para el extracto acuoso (9.45%) y 20.16% en el aceite de nim, a diferencia del testigo sin interferencia que presentó 60.53% de parasitismo. Esto es comprobable al observar que el testigo en las tres pruebas siempre presenta un mayor porcentaje promedio de pupas del MHC (38.11, 31.95 y 25.11%, respectivamente), y que corresponden aquellas larvas que escapan a la acción de los parasitoides, lo cual no ocurre entre los tratamientos de nim, que presentan diferencias estadísticas; sin embargo el extracto acuoso presentó el menor valor (11.00% de pupas) que se relaciona directamente con la alta tasa de mortalidad que presenta este tratamiento.

Investigadores como Joshi *et al.* (1982), Schmutterer (1997) y Raguraman y Singh (1999) sostienen que el nim inhibe la oviposición de los parasitoides, su alimentación y ocasiona mortalidad de estos organismos, reduciendo las posibilidades de supervivencia, efecto que pudieran haber pasado sobre los parasitoides del minador en la presente investigación. Feldhege y Schmutterer (1993) y Hoelmer *et al.* (1990) manifiestan que el nim en cambio interfiere con la longevidad, reduciendo así su capacidad parasítica y la emergencia de estos organismos.

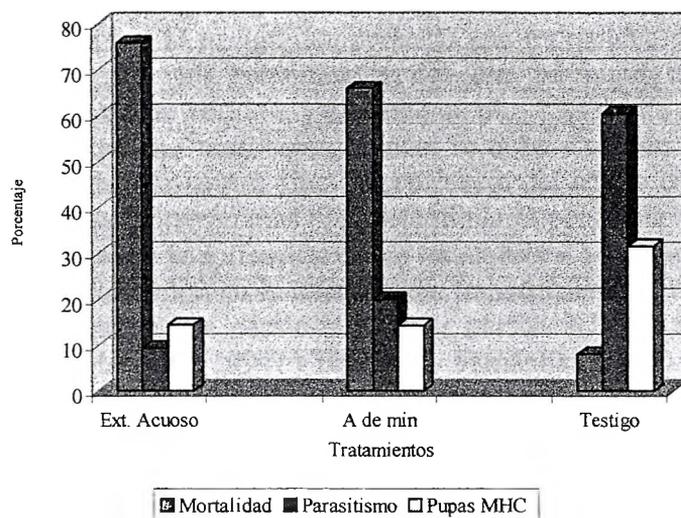


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas, parasitismo y pupas de *Phyllocnistis citrella*, entre los tratamientos para su control en la prueba de campo. Lodana, Ecuador. 2001.

Prueba en jaula entomológica

La prueba de separación de medias Tukey, detectó diferencias entre los tratamientos de nim versus el testigo, que en ambas pruebas presentó el mayor promedio de infestación (42.58 y 37.01%) para la prueba 1 y 2. Los tratamientos de nim fueron similares estadísticamente, presentando la menor infestación el extracto acuoso (13.87%) en la prueba 1, y el aceite formulado 17.79% en la prueba 2 (Figura 3). Esta diferencia de infestación se refleja en el número de minas/brote, determinándose diferencias estadísticas entre los tratamientos de nim y el testigo, éste último con promedio de 4.36 minas/brote. Mientras que entre los tratamientos de nim no existió diferencia, manteniendo ambos, promedios bajos (1.36 minas en el extracto acuoso). Este menor número de minas por brote puede deberse al efecto repelente del nim, que disminuye la oviposición del minador en la hoja tratada o a la inhibición de la oviposición. Sin descartar su interferencia en la eclosión de los huevecillos de *P. citrella*.

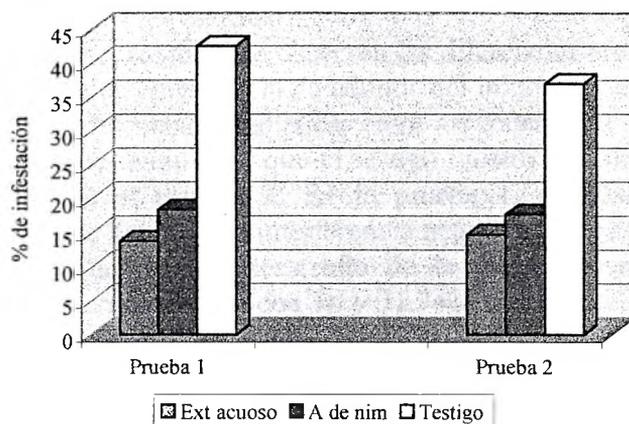


Figura 3. Porcentaje de infestación de *Phyllocnistis citrella* entre tratamientos para su control en las dos pruebas de jaula entomológica. EEPortoviejo del INIAP. El Cady, Ecuador. 2001.

Respecto a la mortalidad de larvas, se observa que según la prueba de Tukey, existen diferencias entre los tratamientos de nim y el testigo que presentó una mortalidad natural del 4.21% en la prueba 1; mientras que entre los tratamientos de nim no hubo diferencias estadísticas, presentando el extracto acuoso un 16.91%, y el aceite de nim 13.43% de mortalidad (Figuras 4 y 5). Valores que sin embargo son muy bajos, lo cual se debe a que en esta prueba el objetivo principal no era la mortalidad de larvas, sino, la repelencia del adulto del minador. Estos bajos porcentajes de mortalidad, permitieron mas bien determinar la persistencia del nim en campo, ya que se debe considerar que entre la aplicación de los tratamientos y la emergencia de las primeras larvas que iniciaban su alimentación en la hoja tratada, transcurrieron entre 2 y 10 días (Castaño, 1996), por lo que es de suponer que para esta fecha la persistencia del nim ha desaparecido, lo cual es respaldado por CEMADEC (1994) y Brechelt y Fernández (1995).

De igual manera, si bien es cierto no se dieron altos porcentajes de mortalidad, sí se probó el efecto repelente de estas sustancias sobre la población adulta del minador, repelencia que posiblemente se haya extendido a sus parasitoides, ya que al observar las medias de parasitismo de las dos pruebas, se aprecia que en la prueba 1 los tres tratamientos son diferentes entre sí; presentando el testigo el mayor porcentaje de parasitismo (75.50%), que es muy diferenciado al aceite de nim (18.48%) y al extracto acuoso con 8.23% (Figura 4). En la prueba 2, se ratifica el testigo con un elevado parasitismo (73.61%), mientras que los tratamientos de nim no difieren estadísticamente, presentando ambos bajos porcentaje (Figura 5).

Esta comparación de medias permite sostener que muy posiblemente los compuestos secundarios emitidos por el nim actúan también como repelentes de los parasitoides, reduciéndose considerablemente la población de estos organismos benéficos. Aseveración que es respaldada por numerosos estudios realizados acerca de los mecanismos de acción del nim en los insectos, que sostienen, que al ser asperjada una planta con productos a base de nim, de la superficie tratada, se emitan mensajes olfatorios que impiden que los insectos la colonicen, por lo tanto, la tasa de oviposición se reduce, ya sea por la disminución de la población de hembras ovipositando, o por el efecto de antioviposición del nim en las hembras que colonizan y se alimentan de una planta tratada. Lo anterior concuerda con los trabajos realizados por (Jotwani y Srivastava (1981), Schmutterer y Ascher (1987), Schmutterer (1988), Kossou (1989), Makanjuola (1989), National Academy Press (1992) y Botanical Agricultural Insecticide (1996).

En las mismas Figuras 4 y 5, también se observan las diferencias presentes entre los tratamientos para la variable porcentaje de emergencia de adultos del minador. Según la prueba de separación de medias Tukey, hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos de nim versus el testigo en ambas pruebas, pudiéndose manifestar que el testigo mostró una menor emergencia de adultos del minador (23.18%) en la prueba 2. En la prueba 1, se observan diferencias entre los tratamientos de nim, donde debido a la interferencia negativa que estos tratamientos ejercen en el parasitismo, se produce un normal desarrollo de la plaga, presentándose hasta 74.85% de emergencia con el extracto acuoso (prueba 1), y 71.74% con el aceite de nim (Prueba 2). Desde luego que esta mayor emergencia es también favorecida por la baja mortalidad que presentó el nim en estas condiciones sobre las larvas del minador, debido a las razones antes mencionadas.

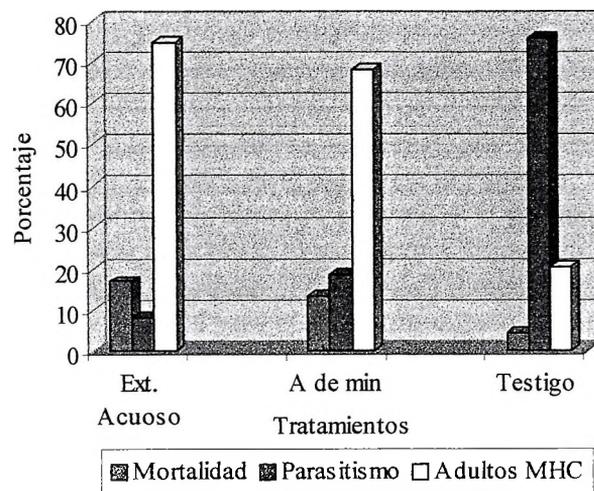


Figura 4. Mortalidad de larvas, parasitismo y emergencia de adultos de *Phyllocnistis citrella* entre tratamientos en la prueba 1. Jaula entomológica. EEPortoviejo, INIAP. El Cady, Ecuador. 2001.

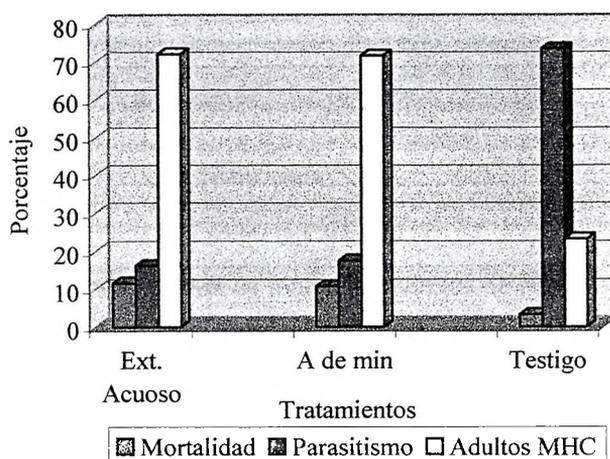


Figura 5. Mortalidad de larvas, parasitismo y emergencia de adultos de *Phyllocnistis citrella* entre tratamientos en la prueba 2. Jaula entomológica. EEPortoviejo, INIAP. El Cady, Ecuador. 2001.

Prueba de repelencia con olfatómetro en invernadero

Al analizar y aplicar la prueba de separación de medias Tukey a la variable número promedio de adultos del minador, posados en disco de hoja tratado, se observó, que los tratamientos de nim sobresalen estadísticamente sobre el testigo en todas las evaluaciones y en las dos pruebas. Los tratamientos de nim, no difieren estadísticamente entre ellos, presentando en la prueba 1, el extracto acuoso un promedio máximo de adultos posados de 1.60 a las 12 horas, seguido del aceite de nim que a las 8 horas presentó hasta 2 adultos posados en el disco de hoja tratado, mientras que en el testigo se presentaron a las 12 y 24 horas un promedio de 15.60 adultos posados. En la prueba 2 se confirman estos resultados, donde el testigo alcanzó hasta 14.20 adultos posados a las 12 y 24 horas, situación muy contrastante nuevamente con los tratamientos de nim, donde el máximo número de adultos posados fue de 1.80 en el aceite de nim a las 24 horas y de 1.40 adultos a las 8 horas el extracto acuoso.

Estos resultados terminan por comprobar los ya encontrados anteriormente en esta investigación, tanto en campo como jaula entomológica y que hablan de la acción repelente que ejerce el nim sobre las poblaciones adultas del MHC, ya sea en extracto acuoso o aceite formulado.

Una vez comprobado estadísticamente este efecto repelente, los valores se transformaron a porcentaje en las dos pruebas, cuyos resultados se aprecian en la Figura 6. Se determinó que tanto el extracto acuoso como el aceite formulado de nim, presentan en promedio de repelencia muy similar, siendo éste de 85.68 y 85.64% para el extracto y aceite formulado, respectivamente en la prueba 1, situación que se confirma en la prueba 2, donde en promedio se obtuvo una repelencia para el extracto acuoso de 88.80% y 83.46% para el aceite formulado de nim.

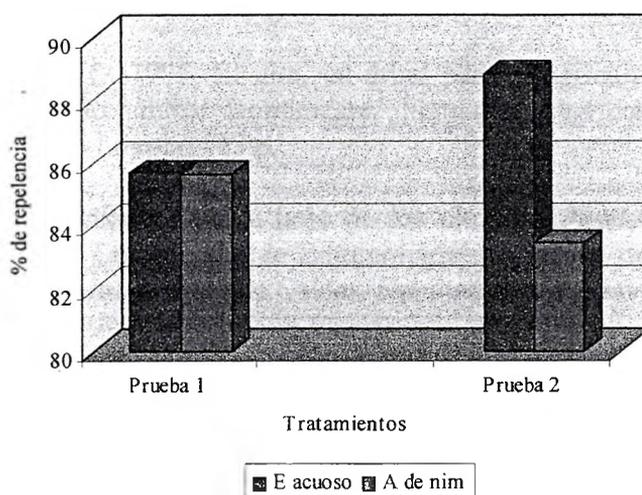


Figura 6. Repelencia del extracto acuoso y aceite de nim sobre adultos de *Phyllocnistis citrella* en las dos pruebas con olfatómetro en invernadero. EEPortoviejo, INIAP. El Cady, Ecuador. 2001.

CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso de nim *Azadirachta indica* presentó la mayor mortalidad de larvas de *P. citrella* (77.17%) a los diez días posteriores a la aplicación.
2. La mortalidad causada por el nim iniciada a las 48 horas posterior a su aplicación, comprueba que éste actúa como inhibidor de la alimentación.
3. El extracto acuoso de nim presentó en promedio 88.80% de repelencia de adultos de *P. citrella*, seguido del aceite formulado (Inbio 75) con 85.64%.
4. La alta mortalidad de larvas de *P. citrella*, causada por los tratamientos de nim (77.17%), repercuten directamente en el porcentaje de parasitismo, restando posibilidades de establecimiento y desarrollo de los parasitoides por la supresión del huésped.
5. Al ser *Ageniaspis citricola* (reportado en Ecuador por primera vez en este trabajo), un parasitoide específico de *P. citrella* resulta grandemente interferido por la acción del nim.
6. La azadiractina y otros limonoides presentes en la semilla de nim, actúan también como repelentes de los parasitoides, reduciendo significativamente la acción reguladora de estos organismos benéficos.
7. Bajo ciertas circunstancias el nim puede presentar incompatibilidad con el manejo natural de *P. citrella* en limón sutil.

BIBLIOGRAFÍA

- Bautista M, N. 1997. Bioecología de *Phyllocnistis citrella* Stainton. Minador de la hoja de los cítricos (Lepidoptera: Gracillariidae). Tesis Doctor en Ciencias. Especialidad de Entomología y Acarología. Inst. Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, México. 80 p.
- Bautista M, N. y Bravo M, H 1997. El minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton. Folleto técnico para productores. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, km. 35.5 carretera México-Texcoco. CP. 56230 12 p.
- Botanical Agricultural Insecticide. 1996. Neem-X. A New Insect Control Weapon. Whidden Industrial Park, Florida, USA. 34 p.
- Brechelt, A. y Fernández, C. 1995. El nim, un árbol para la agricultura y el medio ambiente, Experiencia en la República Dominicana. Fundación Agricultura y Medio Ambiente. Instituto Politécnico Loyola. 123 p.
- Castaño, O. P. 1996. El minador de la hoja de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) In: XXII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. Cartagena de Indias. Julio 17 a 19 de 1996. (Memorias). Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p 9-23.
- CEMADEC. 1994. Manual Técnico Nim. Proyecto Nim CEMADEC- GTZ, Ecuador. 22 p.
- Feldhege, M. And Schmutterer, H. 1993. Investigations on side-effects of Margosan-O on *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoid of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Appl. Ent. 115 (1993), 37-42.
- Gillnwater y McDonald. 1975. In: Evaluación en laboratorio de extractos de plantas como repelentes al escarabajo *Tribolium castaneum*. International Pest Control, 1999. p 18-20.
- González, C.; Borges, M.; Castellaños, A.; González, N.; Vázquez, L. y García, M. 1995. *Phyllocnistis citrella*. Minador de la Hoja de los Cítricos In: II taller nac. sobre el minador de la hoja de los cítricos. Inst. Invest. de Cítricos, La Habana, Cuba. 1995. 35 p.
- Hoelmer, K. A.; Osborne, L.S.; Yokomi, R. K. 1990. Effects of neem extracts on beneficial insects in greenhouse culture. Proc. USDA. Neem Workshop, Beltsville MD. p 100-105.
- Joshi, B.; Ramaprasad, G. and Sitaramaiah, S. 1982. Effect of neem seed kernel suspension on *Telenomus remus*. An egg parasite of *Spodoptera litura*. Phytoparasitica. 10: 61-63.
- Jotwani, M. G. and Srivastava, K. P. 1981. Neem pesticide of the future. Protection against field pests. Pesticides. 15(II): 40-47.
- Knapp, J. L.; Albrigo, L. G.; Browning, H. W.; Bullock, R. C.; Heppner, J. B.; Hall, D. G.; Hoy, M. A.; Nguyen, R.; Peña, J. E. and Stansly, P. A. 1995. Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. A new pest of Florida citrus. In: Citrus leafminer workshop. Florida Cooperative Extension Service. University of Florida Gainesville. 26 p.

- Kossou, D. K. 1989. Evaluation of different products Neem *Azadirachta indica* A. Juss, for the control of *Sitophilus zeamais* Motsh on stored maize. Insect. Sci. Appl. 10(3) 365-372.
- Maes, J. M. 1994. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera:Gracillariidae) plaga nueva de los cítricos en Centro América. CATIE (Costa Rica). Manejo Integrado de Plagas. Boletín informativo.. N° 33 p 3.
- Makanjuola, W. A. 1989. Evaluation of extracts of Neem *Azadirachta indica* A. juss for the control of some stored products pest. J. Stored Prod. Res. 25(4): 231-237.
- National Academy Press. 1992. Neem: A tree for solving global problems. Report of an Ad Hoc. Panel of the board on science and technology for international development. National Research Council. Washington. D.C. 107 p.
- Núñez, E. y Canales, A. 1999. *Ageniaspis citricola*. Controlador del minador de la hoja de los cítricos. Experiencia Peruana. SENASA. Perú. 87 p.
- Raguraman, S. and Singh, R. 1999. Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed oil on an egg parasitoid *Trichogramma chilonis*. Journal Econ. Entomol. 92 (6): 1274-1280.
- Schmutterer, H. and Ascher, K. 1987. Natural pesticides from the Neem tree a other tropical plants. GTZ. Eschborn Germany. p 539.
- Schmutterer, H. 1988. Potencial of azadirachtin containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries Journal insect Physiol. 34(7): 713-719.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insects phatogens and natural ememies of spider mites and insects. Journal Appl. Entomol. 121: 121-128.
- Singh, T. V. and Azam, M. 1986. Seasonal *Phyllocnistis citrella* Stainton occurence. Population dynamics and chemical control of citrus leafminer. In Andhra Pradesh. Indian Journal. Entomol: 48(1):38-42.
- Sponagel, K. 1997. Propuesta de desarrollo para actividades agroecológicas de CEMADEC con énfasis en el uso del árbol nim. Corporación PROEXANT. Quito, Ecuador. 34 p.
- Tierto, N. B. 1994. The ability of powders and slurries from ten plant-species to protect. Stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) y *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Journal. Stored Prod. Res. Vol 30, N° 4 p 297 – 301.
- Valarezo, A.; Bravo, B.; Arroyave, J.; Zambrano, O.; Mendoza, A.; Valarezo, O. y Cañarte, E. 1999. Manual de cítricos para el litoral ecuatoriano. INIAP, EEPortoviejo. Ecuador. 51 p.
- Valarezo C, O y Cañarte B, E. 1998. El minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* en el litoral ecuatoriano. INIAP-COSUDE. Ecuador. 68 p.
- Zhang, A.; Leary, C. and Quarles, W. 1994. Chinese for citrus leafminer IPM. Practioner. 16(8): 10-13.