

## Actividad biológica de nim en adultos de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Aleyrodidae) West<sup>\*</sup>

### Nim biological activity on adult whitefly *Trialeurodes* *vaporariorum* (Aleyrodidae) West

Erica Muñiz-Reyes<sup>1</sup>, Carlos Armando Ramos Barreto<sup>2§</sup>, Cesáreo Rodríguez-Hernández<sup>3</sup> y Laura Delia Ortega-Arenas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Valle de México-INIFAP. Carretera los Reyes-Texcoco km 13.5, Coatlinchan, Texcoco, Estado de México, C. P. 56250. Tel: 01 800 088 22 22. <sup>2</sup>ADAMA-México. Av. Insurgentes Sur 800 piso, 19 Col. Del Valle, Benito Juárez. C. P. 03100. Tel: 55 55 24 83 69. <sup>3</sup>Postgrado en Fitosanidad, Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 56230. 595 9520200. <sup>§</sup>Autor para correspondencia. carlos.ramos@adama.com.

## Resumen

Los insecticidas químicos para controlar *Trialeurodes vaporariorum* West. han sido prácticamente la única herramienta utilizada, sin embargo la problemática global de contaminación ambiental y presión selectiva a insecticidas, ha fomentado un cambio en la forma de manejar las plagas más ecológicas y eficaces. El nim o neem *Azadirachta indica* es una opción como insecticidas botánicos, sus metabolitos ya se han comercializado en diferentes formulaciones, sin embargo es necesario evaluar su acción insecticida e insectistática. El objetivo de esta investigación fue comparar el efecto en la mortalidad, repelencia y oviposición de productos formulados de *A. indica*. En este estudio se probaron cuatro formulaciones a base de aceite de nim en adultos de *T. vaporariorum*. Los productos que mostraron la mortalidad más alta fueron Neem Oil Spray y PHC Neeem, a una concentración de 0.6 mg mL<sup>-1</sup>. El mejor efecto repelente fue de Neem Oil Spray (82.6%), PHC Neeem (72.3%), Biosave Neem (70.8%), y Neemix 4.5 (59.9%); los dos primeros muestran mayor persistencia con efecto similar a los 3 días de evaluación. El mejor inhibidor de la oviposición fue Neem Oil Spray (99.6% utilizando 1 mg mL<sup>-1</sup>), Biosave Neem (92.8%), PHC Neeem (82.6%), y Neemix 4.5 (57%). En contraste, Biosave Neem y Neemix 4.5 estimularon la oviposición en concentraciones de 0.01-0.3 mg mL<sup>-1</sup> y PHC Neeem a 0.035 mg mL<sup>-1</sup>. La

## Abstract

Chemical insecticides to control *Trialeurodes vaporariorum* West. have been virtually the only tool used, however the global problem of environmental pollution and insecticides selective pressure, has fostered a change in the way of handling pest to more environmentally friendly and efficient. Nim of Neem *Azadirachta indica* is an option as botanical insecticides, as its metabolites have already been marketed in different formulations; however it is necessary to evaluate its insecticide and insectistatic action. The objective of this research was to compare the effect on mortality, repellency and oviposition of formulated products of *A. indica*. In this study four formulations based on neem oil in adults of *T. vaporariorum* were tested. The products that showed the highest mortality were Neem Oil Spray and PHC Neeem, at a concentration of 0.6 mg mL<sup>-1</sup>. The best repellent effect was Neem Oil Spray (82.6%), PHC Neeem (72.3%), Biosave Neem (70.8%), and Neemix 4.5 (59.9%); the first two show greater persistence with similar effect the 3 days of evaluation. The best inhibitor of oviposition was Neem Oil Spray (99.6% using 1 mg mL<sup>-1</sup>), Biosave Neem (92.8%), PHC Neeem (82.6%), and Neemix 4.5 (57%). In contrast, Biosave Neem and Neemix 4.5 stimulated oviposition at concentrations of 0.01 to 0.3 mg mL<sup>-1</sup> and PHC Neeem 0.035 mg mL<sup>-1</sup>. The oil concentration in the formulation

\* Recibido: junio de 2016  
Aceptado: agosto de 2016

concentración de aceite en la formulación es determinante en el efecto, pues a mayor proporción, la formulación se hace más persistente, lo contrario la hace más polar y aumenta su capacidad sistémica.

**Palabras clave:** *Trialeurodes*, *Azadirachta*, mortalidad, oviposición, repelencia.

## Introducción

Los extractos vegetales se han investigado en todo el mundo debido al gran potencial, tal es el caso del árbol del neem. *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae) posee diversos terpenos y compuestos azufrados que, a diferentes dosis, ocasionan inhibición de crecimiento, alimentación y de reproducción en más de 400 especies de insectos plaga. Se han realizado diversas investigaciones para determinar su residualidad ambiental (Gahucar, 2014), el tipo de formulación (Boursiera *et al.*, 2011) y su compatibilidad con algunos enemigos naturales y microorganismos benéficos (Huang *et al.*, 2004; Mohan *et al.*, 2007; Islam *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012).

Una de las plagas que afecta a un gran número de cultivos agrícolas es la mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera: Aleyrodidae), en ésta se han realizado estudios con diferentes productos a base de nim determinando diferentes efectos; Margosan-O, Nim 80 y Nim Oil, ocasionan mortalidad significativa (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000); mientras que otros como Azatin EC, Neemazal y NeemAzal-T/S son excelentes repelentes (Cubillo *et al.*, 1999; Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003; Kumar y Poehling, 2006). Algunos de estos productos como el Nim 80 son eficientes en los tres aspectos ya señalados, Islam and Omar (2012) y Nzanza *et al.* (2012) reportan estos mismos efectos. Otros como Nim Oil ocasiona mortalidad, repelencia y estimula la oviposición (Gómez *et al.*, 1997; Salas y Mendoza, 2001; Chiasson *et al.*, 2004). Otros productos con base acuosa de semilla 6%, Neem Rose Defense EC, Nim 20 y Sukrina se reportan sin efecto repelente o tóxico. Los efectos de los productos elaborados a base de nim son diversos debido en gran parte a la calidad y proporción de aceite presente en las formulaciones, pues éste contiene azadiractina y por lo menos seis limonoides; la información de los fitoquímicos presentes aún permanece dispersa en las diferentes publicaciones científicas (Odeyemi *et al.*, 2008).

is crucial in effect, as to larger proportion, the formulation becomes more persistent, otherwise makes it more polar and its systemic capacity increases.

**Keywords:** *Trialeurodes*, *Azadirachta*, mortality, oviposition, repellency.

## Introduction

Plant extracts have been investigated throughout the world due to the great potential, as in the case of neem tree. *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae) has several terpenes and sulfur compounds at different doses, cause growth, feeding and breeding inhibition in more than 400 species of pests insect. It has been conducted research to determine its residual effect in the environmental (Gahucar, 2014), type of formulation (Boursiera *et al.*, 2011) and its compatibility with some natural enemies and beneficial microorganisms (Huang *et al.*, 2004; Mohan *et al.*, 2007; Islam *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012).

A pest that affects a large number of agricultural crops is the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* West (Hemiptera: Aleyrodidae), in this have been conducted studies with different products based on neem determining different effects; Margosan-O, Nim 80 and Nim Oil, causing significant mortality (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000); while others like Azatin EC, Neemazal and Neemazal-T/S are excellent repellents (Cubillo *et al.*, 1999; Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2003; Kumar and Poehling, 2006). Some of these products like Nim 80 are efficient in all three aspects already mentioned, Islam and Omar (2012) and Nzanza *et al.*, (2012) report these same effects. Others like Nim Oil cause mortality, repellency and stimulate oviposition (Gomez *et al.*, 1997; Salas and Mendoza, 2001, Chiasson *et al.*, 2004). Other products water-based of seed 6%, Neem Rose Defense EC, Nim 20 and Sukrina are reported without repellent or toxic effect. The effects of products made of nim are diverse largely due to the quality and amount of oil present in the formulations, because it contains azadirachtin and at least six limonoids; the information of the phytochemicals still remains scattered in various scientific publications (Odeyemi *et al.*, 2008).

Although several commercial products of nim are recommended for use in conventional farming, the real potential is not known for the diversity of responses that

Aun cuando varios de los productos comerciales de nim se recomiendan para su aplicación en la agricultura convencional, no se conoce el potencial real por la diversidad de respuestas que ocasiona un mismo producto, por lo que se hace necesaria la evaluación en plagas de importancia económica y generar información que permita comparar su efectividad biológica, insecticida e insectistática, así como soportar su uso en agricultura alternativa u orgánica. El objetivo del presente trabajo fue comparar los efectos de mortalidad, repelencia y oviposición de cuatro productos comerciales de nim, contra adultos de mosca blanca *T. vaporariorum*.

## Materiales y métodos

**Cría de insectos.** La investigación se realizó en el invernadero de Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México, de abril de 2007 a octubre de 2008. Se utilizaron adultos de *T. vaporariorum* provenientes de una cría susceptible a insecticidas organosintéticos. Estos se introdujeron en jaulas entomológicas (60x40x60 cm) cubiertas con tela de organza, que contenían plantas de frijol *Phaseolus vulgaris* var. Bayomex de seis semanas de edad, las plantas se colocaron con una mezcla de vermicomposta y tierra (1:1) como medio de soporte. Los insectos se mantuvieron sobre las plantas durante 7 d para la oviposición y se retiraron con un aspirador. Las plantas infestadas se trasladaron a otra jaula para esperar la emergencia de adultos en invernadero bajo condiciones controladas de  $25 \pm 5$  °C, 12:12 L:O y 80% HR.

**Evaluación de productos.** Se utilizaron cuatro productos comerciales de nim como tratamientos y un mínimo de seis repeticiones. Se contaron 20 adultos de mosca blanca de 3-6 días de edad, con ayuno de 2 horas y proporción sexual 1:1; se incluyó un testigo al que sólo se aplicó agua destilada. Con base en el contenido de azadiractina declarado en la etiqueta de cada producto, se realizó el cálculo para obtener una concentración a  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  de azadiractina, a partir de la cual se realizaron diluciones a partir de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  y así sucesivamente concentraciones de 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 y  $0.00001 \text{ mg mL}^{-1}$  de azadiractina, para determinar la ventana de respuesta biológica. Posteriormente se intercalaron concentraciones entre los límites de respuesta hasta conformar siete concentraciones, a fin de evaluar los porcentajes de mortalidad, repelencia o inhibición de la oviposición. Todas las diluciones se elaboraron con agua destilada y se adicionó Tween 20 al 0.5% como adherente.

causes the same product, so it is necessary the evaluation in pests of economic importance and generate information that allows to compare its biological and insecticide effectiveness, thus support its use in alternative or organic agriculture. The aim of this study was to compare the effects of mortality, repellency and oviposition of four commercial products of nim, against adult whitefly *T. vaporariorum*.

## Materials and methods

**Insect breeding:** the research was conducted in the Entomology and acarology green house from the Postgraduate College, Campus Montecillo, Texcoco, State of Mexico, from April 2007 to October 2008. *T. vaporariorum* adults from a susceptible breeding to organosintetic insecticides were used. These were introduced into entomological cages (60x40x60 cm) covered with organza fabric, containing bean plants *Phaseolus vulgaris* var. Bayomex six weeks old, the plants were placed in a mixture of vermicompost and soil (1:1) as support medium. Insects were maintained on plants for 7 d for oviposition and removed with a vacuum. Infested plants were transferred to another cage to await the emergence of adults in greenhouse under controlled conditions  $25 \pm 5$  °C, 12:12 L:O, 80% RH.

**Product evaluation:** four commercial products of nim were used as treatments and a minimum of six replicates. 20 adult whitefly of 3-6 days age, with fasting 2 hours and sex ratio 1:1 were counted; a control to which was applied only distilled water was included. Based on azadirachtin content declared on the label of each product, calculation was performed to obtain a concentration of  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  of azadirachtin, from which dilutions were made from  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  and so successively azadirachtin concentrations of 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 and  $0.00001 \text{ mg mL}^{-1}$ , to determine the biological timeframe response. Subsequently concentrations were intercalated between the response limits till conformation of seven concentrations, in order to assess the percentages of mortality, repellency or oviposition inhibition. All dilutions were prepared with distilled water and Tween 20 at 0.5% was added as adherent.

**Mortality assessment:** bean plants *P. vulgaris* var. Bayomex of 15-20 d age were used, of these plants, a leaflet was selected and immersed for 5 s in the product with calculated

Evaluación de mortalidad. Se utilizaron plantas de frijol *P. vulgaris* var. Bayomex de 15-20 d de edad, de estas plantas, se seleccionó un foliolo y se sumergió durante 5 s en el producto con las concentraciones determinadas en la ventana biológica. Posterior al secado se sujetó cada hoja tratada a una jaula entomológica de poliuretano de 5 cm de diámetro y por un orificio lateral se introdujeron 20 adultos de mosca blanca. La mortalidad se registró 24 h después de la aplicación y se corrigió con el dato observado en el testigo por medio de la ecuación de Abbott (1925). Las repeticiones se realizaron en días diferentes y de manera consecutiva, evaluando un producto a la vez en una cámara de cría con condiciones de  $28 \pm 5$  °C, 12:12 D:O y  $50 \pm 15\%$  HR. Para el experimento de oviposición, se calculó contando en las hojas tratadas el número de huevos, y se determinó el porcentaje con relación a lo observado en el testigo. En el caso de la evaluación de repelencia, se utilizaron los olfatómetros y la metodología descrita y modificada por Ortega y Schuster (2000). La disposición de los olfatómetros fue completamente al azar, las repeticiones se realizaron en días diferentes y de manera consecutiva, evaluando un producto a la vez. El porcentaje de repelencia se obtuvo restando el número de adultos posados al de adultos introducidos. Se calculó la oviposición mediante el conteo del número de huevos en cada foliolo tratado y se determinó el porcentaje con relación a lo observado en el testigo.

Análisis estadístico. Los datos de mortalidad corregida, porcentaje de repelencia y oviposición fueron transformados a la función  $\sqrt{x}$  para el cálculo de las varianzas, se sometieron a un análisis Probit para obtener la línea de respuesta log dosis-probit y los valores de la concentración necesaria para eliminar al 50% de la población ( $CL_{50s}$ ), concentración que provocó 50% de repelencia ( $CR_{50}$ ), y la concentración necesaria para inhibir en 50% la oviposición ( $CIO_{50}$ ), que se expresaron en  $mg\ mL^{-1}$ , mediante el programa Statistical Analysis System (SAS, 1999).

## Resultados y discusión

### Experimento mortalidad e inhibición de oviposición.

La mortalidad total de adultos se obtuvo con las concentraciones de  $0.6\ mg\ mL^{-1}$  con los productos Neem Oil Spray y PHC Neeem, con Biosave Neem se obtuvo con  $1\ mg\ mL^{-1}$ ; con una concentración de Neemix 4.5 de  $1\ mg\ mL^{-1}$ , la mortalidad fue de 68.5%. Los valores de  $CL_{50}$  denotan

concentraciones en el biológico timeframe. After drying each treated leaflet was hanged inside a polyurethane entomological cage of 5 cm diameter and through a lateral hole 20 adult whitefly were introduced. Mortality was recorded 24 h after application and corrected with data observed in the control by Abbott's (1925) equation. The replications were performed on different consecutive days, evaluating a product at a time in a brood chamber with conditions  $28 \pm 5$  °C, 12:12 D:O and  $50 \pm 15\%$  RH. For oviposition experiment, was calculated counting the number of eggs treated the leaves, and the percentage was determined in relation to that observed in the control. For repellency, the odor meter and the methodology described and modified by Ortega and Schuster (2000) were used. The arrangement of the odor meters was completely random; replications were performed on different consecutive days, evaluating a product at a time. Repellency percentage was obtained by subtracting the number of perch adults to introduced adults. Oviposition was calculated by counting the number of eggs in each leaflet treated and the percentage was determined in relation to that observed in the control.

Statistical analysis: mortality data corrected, repellence percentage and oviposition were transformed to function  $\sqrt{x}$  to calculate variances, subjected to Probit analysis to obtain the response line log dose-probit and concentration values required to eliminate 50% of the population ( $CL_{50s}$ ), concentration causing 50% repellency ( $CR_{50}$ ), and concentration required to inhibit 50% oviposition ( $CIO_{50}$ ) which is expressed in  $mg\ mL^{-1}$ , using the Statistical Analysis program System (SAS, 1999).

## Results and discussion

### Mortality assessment and oviposition inhibition

Total mortality of adults was obtained with concentrations  $0.6\ mg\ mL^{-1}$  with Neem Oil Spray and PHC Neeem, with Biosave Neem was obtained with  $1\ mg\ mL^{-1}$ ; with a concentration of Neemix 4.5 of  $1\ mg\ mL^{-1}$ , mortality was 68.5%.  $CL_{50}$  values denote that there is no overlap between fiducial limits, indicating different toxicity categories in the formulations. Other nim products have also shown dissimilar effectiveness as for mortality refers, as Neemazal-T/S and Neem Rose Defense EC at respective concentrations of 0.5 and  $0.7\ mg\ mL^{-1}$  that caused 10 and 48.1% mortality in



que no hay traslape entre límites fiduciales, lo que indica diferentes categorías de toxicidad en las formulaciones. Otros productos de nim también han mostrado efectividad disímil en cuanto a mortalidad se refiere, como NeemAzal-T/S y Neem Rose Defense EC a concentraciones respectivas de 0.5 y 0.7 mg mL<sup>-1</sup> que provocaron 10 y 48.1% de mortalidad en adultos de *T. vaporariorum* (Von Elling *et al.*, 2002; Chiasson *et al.*, 2004), actividad menor a los productos evaluados en la presente investigación.

En contraste, los extractos acuosos elaborados con Nim 25 a 0.06 mg mL<sup>-1</sup> y semilla molida (Nim 20) a 0.07 mg mL<sup>-1</sup>, ocasionaron 14-16.9 y 17-20.9% de mortalidad en adultos de mosca blanca *B. tabaci*, respectivamente (Gómez *et al.*, 1997, Fernández *et al.*, 2013), resultando con efectividad similar a PHC Neem del presente trabajo. Por otro lado, el extracto etanólico de semilla de nim a 0.1 mg mL<sup>-1</sup> causó 49% de mortalidad en adultos de *T. vaporariorum*, el extracto etanólico ha sido reportado como eficiente en otras plagas (Simmonds *et al.*, 2002; Coria *et al.* 2008). La mortalidad obtenida es intermedia entre PHC Neem y Neem Oil spray. Azatin EC a 0.02 y 0.1 mg mL<sup>-1</sup> provocó 37.8 y 65% de mortalidad en adultos de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* respectivamente, (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000; Simmonds *et al.*, 2002), resultando con actividad similar a Neem Oil spray, a diferencia de los formulados Margosan-O, Nim 80 y Nim Oil que fueron más efectivos (Castillo-Sánchez *et al.*, 2010) que los productos evaluados en el presente trabajo; Margosan-O a 0.01 mg mL<sup>-1</sup> ocasionó 15.5% de mortalidad en adultos de *B. tabaci* (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000), y Nim 80 a 0.01 y Nim Oil a 0.03 mg mL<sup>-1</sup> provocaron mortalidades de 62-65 y 33.8-80% en adultos de *B. tabaci*, respectivamente (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999).

Neem Oil Spray inhibió totalmente la oviposición a 1 mg mL<sup>-1</sup>, la cual, junto con la concentración 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, ocasionaron mortalidad total de adultos, sin observarse correlación entre mortalidad y oviposición, pues en la primera concentración las hembras fueron eliminadas antes de ovipositar y en la segunda, al menos una hembra ovipositó antes de morir. Este producto provocó 50% de inhibición de oviposición (CIO<sub>50</sub>) con 0.12 mg mL<sup>-1</sup>. Por otro lado, Biosave Neem y PHC Neem, provocaron mortalidad total de adultos a las concentraciones de 1 y 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, redujeron en 91.0 y 89.8% la oviposición, respectivamente, denotando que ambos productos eliminaron a los adultos después de que algunos ovipositaron. Ambos formulados inhibieron en 50% la oviposición (CIO<sub>50</sub>) con 0.61 y 0.13 mg mL<sup>-1</sup>. Respecto a Neemix 4.5, éste afectó menos la oviposición, con un CIO<sub>50</sub>

adults of *T. vaporariorum* (Von Elling *et al.*, 2002; Chiasson *et al.*, 2004), lower activity to the products evaluated in this research.

In contrast, the aqueous extracts made from Nim 25 at 0.06 mg mL<sup>-1</sup> and ground seed (Nim 20) at 0.07 mg mL<sup>-1</sup>, caused 14-16.9 17-20.9% mortality in adult whitefly *B. tabaci*, respectively (Gomez *et al.*, 1997, Fernandez *et al.*, 2013), resulting with similar effectiveness to PHC Neem from this work. Furthermore, ethanol extract of neem seed at 0.1 mg mL<sup>-1</sup> caused 49% mortality in adults of *T. vaporariorum*, ethanolic extract has been reported as effective in other pests (Simmonds *et al.*, 2002; Coria *et al.*, 2008). The mortality obtained is intermediate between PHC Neem and Neem Oil spray. Azatin EC at 0.02 and 0.1 mg mL<sup>-1</sup> caused 37.8 and 65% mortality in adults of *B. tabaci* and *T. vaporariorum* respectively (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000; Simmonds *et al.*, 2002), resulting with similar activity to Neem Oil spray, unlike Margosan-O, Nim 80 and Nim Oil formulations that were more effective (Castillo-Sanchez *et al.*, 2010) than the products evaluated in this study; Margosan-O at 0.01 mg mL<sup>-1</sup> caused 15.5% mortality in adults of *B. tabaci* (Abou-Fakhr Hammad *et al.*, 2000), and Nim 80 at 0.01 and Nim Oil at 0.03 mg mL<sup>-1</sup> caused mortalities of 62 -65 and 33.8-80% in adults of *B. tabaci*, respectively (Gomez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999).

Neem Oil Spray totally inhibited oviposition at 1 mg mL<sup>-1</sup>, which, along with the concentration 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, produced total mortality of adult, not observing correlation between mortality and oviposition, because in the first concentration females were removed before oviposition and in the second at least one female oviposited before dying. This product caused 50% inhibition of oviposition (CIO<sub>50</sub>) with 0.12 mg mL<sup>-1</sup>. On the other hand, Biosave Neem and PHC Neem, caused total mortality of adults at concentrations of 1 and 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, decreasing by 91.0 and 89.8% oviposition, respectively, denoting that both products eliminated adults after some of them oviposited. Both formulations inhibited by 50% oviposition (CIO<sub>50</sub>) with 0.61 and 0.13 mg mL<sup>-1</sup>; regarding Neemix 4.5, affecting less oviposition, with CIO<sub>50</sub> of 1 mg mL<sup>-1</sup>. In contrast to the results obtained in this work, in other researches Neemazal-T/S at 0.5 mg mL<sup>-1</sup>, reduced by 35% oviposition in adults of *T. vaporariorum* (Von Elling *et al.*, 2002), denoting similar effectiveness to Biosave Neem.

The aqueous extract of neem at 0.2 mg mL<sup>-1</sup> inhibited by 78% oviposition in adults of *B. tabaci* resulting with the same level of toxicity than Neem Oil Spray and PHC Neem;

de 1 mg mL<sup>-1</sup>. En contraste con los resultados obtenidos en este trabajo, en otras investigaciones NeemAzal-T/S a 0.5 mg mL<sup>-1</sup>, redujo en 35% la oviposición en adultos de *T. vaporariorum* (Von Elling *et al.*, 2002), denotando efectividad similar a Biosave Neem.

El extracto acuoso de nim a 0.2 mg mL<sup>-1</sup> inhibió en 78% la oviposición en adultos de *B. tabaci*, resultando con el mismo nivel de toxicidad que Neem Oil Spray y PHC Neeem. Por el contrario el extracto acuoso de la torta (Nim 25) y Nim 80 a las concentraciones respectivas de 0.06 y 0.01 mg mL<sup>-1</sup> inhibieron en 34.6-54 y 31.7-68% la oviposición en adultos de *B. tabaci*, respectivamente (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999), por lo que resultaron mejores que los productos evaluados en la presente investigación.

Biosave Neem y Neemix 4.5 a concentraciones de 0.1-0.2 y de 0.1-0.15 y 0.3-0.4 mg mL<sup>-1</sup> estimularon la oviposición en 12.8-35.9 y en 41.7-52.8% y 2.8-22.2%, respectivamente, probablemente en respuesta al estrés ocasionado en la hembra por concentraciones subletales, esto puede resultar en el incremento de la supervivencia a través de una mayor tasa de oviposición, dando lugar al fenómeno de hormoligosis (Luckey, 1968), en Nim Oil a 0.03 mg mL<sup>-1</sup>, ha provocado incremento de oviposición de *B. tabaci* en un 13% (Gómez *et al.*, 1997).

Repelencia e inhibición de la oviposición. La repelencia se manifestó en tres rangos logarítmicos, desde 0.01 a 1.5 mg mL<sup>-1</sup>, con valores de 0.8 a 90% de las 24 a las 72 h posteriores a la aplicación (Cuadro 1). Los valores de CR<sub>50</sub> fueron de 0.17 a 0.85 mg mL<sup>-1</sup>, expresándose la mayor efectividad en general a las 48 h, pero sin diferir en toxicidad respecto a las 24 h en Biosave Neem, Neem Oil Spray y PHC Neeem. En contraste, Neemix 4.5 tuvo diferentes categorías de toxicidad, siendo el menos eficiente a las 24 h, moderadamente efectivo a las 48 h y muy biodegradable a las 72 h, Biosave Neem fue mejor a las 24 y 48 h, con fuerte biodegradación a las 72 h; en ambos productos, al 3er día de evaluación la CL<sub>50</sub> fue ≥ 1.0 mg mL<sup>-1</sup>, mientras que Neem Oil Spray y PHC Neeem mostraron traslape en sus respectivos límites fiduciales de las CL<sub>50</sub> en los tres tiempos de observación, indicando efectividad similar y fuerte persistencia.

Existen formulaciones de nim que en experimentos similares mostraron repelencia intermedia entre Biosave Neem y Neem Oil Spray, como Nim 20 y Nim 25 que preparados respectivamente a 0.07 y 0.06 mg mL<sup>-1</sup> provocaron 17-18 y 9-13.5% de repelencia en adultos de *B. tabaci* a las 48 h,

conversely the aqueous extract of cake (Nim 25) and Nim 80 at respective concentrations of 0.06 and 0.01 mg mL<sup>-1</sup> inhibited in 34.6-54 and 31.7-68 % oviposition in adults of *B. tabaci*, respectively (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999), which resulted better than the products evaluated in this investigation.

Neem Biosave and Neemix 4.5 at concentrations of 0.1-0.2 and 0.1-0.15 and 0.3-0.4 mg mL<sup>-1</sup> stimulated oviposition 12.8-35.9 and 41.7-52.8% and 2.8-22.2% respectively, probably in response to stress causing in female to sublethal concentrations, this can result in increased survival through enhanced oviposition rate, leading to the phenomenon of hormoligosis (Luckey, 1968), in Nim Oil 0.03 mg mL<sup>-1</sup>, caused increased oviposition of *B. tabaci* by 13% (Gomez *et al.*, 1997).

Repellency and inhibition of oviposition: repellency manifested itself in three logarithmic ranges from 0.01 to 1.5 mg mL<sup>-1</sup>, with values of 0.8 to 90% from 24 to 72 h after application (Table 1). CR<sub>50</sub> values were from 0.17 to 0.85 mg mL<sup>-1</sup>, expressing the highest effectiveness at 48 h, but does not differ in toxicity compared to 24 h in Biosave Neem, Neem Oil Spray and PHC Neeem. In contrast, Neemix 4.5 had different categories of toxicity, being less efficient at 24 h, moderately effective at 48 h and very biodegradable at 72 h, Biosave Neem was better at 24 and 48 h, with high biodegradation at 72 h; in both products, the 3rd day of evaluation CL<sub>50</sub> was ≥ 1.0 mg mL<sup>-1</sup>, while Neem Oil Spray and PHCs Neeem showed overlap in their respective fiducial limits of CL<sub>50</sub> in the three observation times, indicating similar effectiveness and strong persistence.

There are neem formulations than in similar experiments showed intermediate repellency between Biosave Neem and Neem Oil Spray, as Nim 20 and Nim 25 which prepared respectively at 0.07 and 0.06 mg mL<sup>-1</sup> caused 17-18 and 9-13.5% repellency in adults of *B. tabaci* at 48 h, respectively (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999). While Margosan-O at 0.01 mg mL<sup>-1</sup> was similar to Biosave Neem because it caused 18.4% repellency in adults of *B. tabaci* at 24 h (Abou-Fakhr *et al.*, 2000).

In contrast, other products are better than those evaluated here; Neemazal-T/S at 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 and 0.1 mg mL<sup>-1</sup> caused 31.7, 52.4, 69.8, 80.3 and 86.7% repellency in adults of *B. tabaci* at 24 h, respectively (Kumar and Poehling, 2006); while Azatin EC at 0.02 mg mL<sup>-1</sup> caused 40%

respectivamente (Gómez *et al.* 1997; Cubillo *et al.*, 1999). En tanto que Margosan-O a 0.01 mg mL<sup>-1</sup> fue similar a Biosave Neem porque ocasionó 18.4% de repelencia en adultos de *B. tabaci* a las 24 h (Abou-Fakhr *et al.*, 2000).

repellency of *B. tabaci* at 24 h (Abou-Fakhr *et al.*, 2000), as Nim 80 and Oil Nim that at concentrations of 0.01 and 0.03 mg mL<sup>-1</sup> resulted in 30.6-61 and 16.9-76% repellency in adults of *B. tabaci* at 48 h, respectively (Gomez *et al.*, 1997;

**Cuadro 1. Porcentaje de repelencia en adultos de mosca blanca *T. vaporariorum* a 24, 48 y 72 h con cuatro productos de nim.**  
**Table 1. Repellence percentage of whitefly adults *T. vaporariorum* at 24, 48 and 72 h with four nim products.**

Producto	HPA			Producto	HPA		
Biosave Neem	24 <sup>2</sup>	48	72	Neem Oil Spray	24	48	72
1 <sup>1</sup>	74.1	87.5	50.8	1.0	70	90	88
0.5	49.1	67.5	21.6	0.6	47.5	16.5	40.8
0.2	38.3 <sup>3</sup>	36.6 <sup>3</sup>	15.8	0.3	26.6	8.3	15.8
0.1	41.6	45	17.5	0.15	11.6	23.3 <sup>3</sup>	10
0.05	34	22.5	8.3	0.1	13.3 <sup>3</sup>	14.1 <sup>3</sup>	15 <sup>3</sup>
0.02	25.8	20	5	0.035	14.1 <sup>3</sup>	18.3 <sup>3</sup>	7.5 <sup>3</sup>
0.01	22.5	16.5	8.3	0.01	7.5 <sup>2</sup>	7.5 <sup>3</sup>	4.1 <sup>3</sup>
CR <sub>50</sub>	0.21	0.17	--- <sup>6</sup>	CR <sub>50</sub>	0.59	0.52	0.55
	(0.15-0.34) <sup>4</sup>	(0.13-0.21)			(0.51-0.70)	(0.48-0.56)	(0.50-0.62)
X <sup>2</sup>	<0.0001 <sup>5</sup>	<0.0001	<0.0001	X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Neemix 4.5	24	48	72	PHC Neeem	24	48	72
1	56.5	75.8	47.5	1.5	64.1	85	67.8
0.4	28.3	51.6	36.6	1.0	61.6	62.5	51.6
0.2	10	8.3	8.3	0.6	41.5	41.5	35
0.1	1.6 <sup>3</sup>	3.3	4.1	0.4	35	23.3	11.6
0.06	4.1	3.3 <sup>3</sup>	0.8	0.2	30	11.6	6.6
0.03	3.3 <sup>3</sup>	0.8 <sup>3</sup>	3.3	0.1	14.1	7.5	1.6 <sup>3</sup>
0.01	3.3	0.8 <sup>3</sup>	0	0.035	7.5	7.5 <sup>3</sup>	1.6 <sup>3</sup>
CR <sub>50</sub>	0.85	0.48	--- <sup>6</sup>	CR <sub>50</sub>	0.7	0.67	0.85
	(0.69-1.14)	(0.43-0.55)			(0.58-0.88)	(0.60-0.76)	(0.78-0.95)
X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001

<sup>1</sup>concentraciones de los productos expresadas en mg mL<sup>-1</sup> de azadiractina; <sup>2</sup>n= 120 adultos/concentración/producto/día de evaluación; <sup>3</sup>datos no considerados en el análisis Probit; <sup>4</sup>límites fiduciales; <sup>5</sup>valor de X<sup>2</sup>; <sup>6</sup>valor ≥ 1.0 mg mL<sup>-1</sup> (no se efectuó análisis Probit).

En contraste, otros productos son mejores que los aquí evaluados; NeemAzal-T/S a 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 y 0.1 mg mL<sup>-1</sup> ocasionó 31.7, 52.4, 69.8, 80.3 y 86.7% de repelencia en adultos de *B. tabaci* a las 24 h, respectivamente (Kumar y Poehling, 2006); mientras que Azatin EC a 0.02 mg mL<sup>-1</sup> provocó 40% de repelencia en *B. tabaci* a las 24 h (Abou-Fakhr *et al.*, 2000), al igual que Nim 80 y Nim Oil que a concentraciones de 0.01 y 0.03 mg mL<sup>-1</sup> ocasionaron 30.6-61 y 16.9-76% de repelencia en adultos de *B. tabaci* a las 48 h, respectivamente (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999), mientras que Neemazal a concentraciones de 0.4 y 0.8 mg mL<sup>-1</sup> ocasionó 67.83 y 70.13% de repelencia, respectivamente (Silva *et al.*, 2003).

Cubillo *et al.*, 1999), while Neemazal at concentrations of 0.4 and 0.8 mg mL<sup>-1</sup> caused 67.83 and 70.13% repellency respectively (Silva *et al.*, 2003).

Neem Biosave and Neem Oil Spray products at concentration of 1 mg mL<sup>-1</sup>, totally inhibited oviposition at 48 h and 48-72 h, but it did not show full repellency. Neemix 4.5 and Neem Oil Spray formulations with 1 mg mL<sup>-1</sup> inhibited from 98.0 to 98.5% oviposition at 24 and 48 h, respectively. PHC Neeem at 1.5 mg mL<sup>-1</sup> also inhibited 98% at 48 h (Table 2). In comparison the fiducial limits of CIO<sub>50</sub> at the three oviposition times, three levels of toxicity were determined, highlighting by its efficiency Biosave Neem and Neem Oil Spray, that at

Los productos Biosave Neem y Neem Oil Spray a concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup>, inhibieron totalmente la oviposición a las 48 h y 48-72 h, aunque no se evidenció repelencia total. Los formulados Neemix 4.5 y Neem Oil Spray con 1 mg mL<sup>-1</sup> inhibieron en 98.0 a 98.5% la oviposición a las 48 y 24 h, respectivamente. PHC Neem a 1.5 mg mL<sup>-1</sup> también inhibió 98% a las 48 h (Cuadro 2). En la comparación de los límites fiduciales de las CIO<sub>50</sub> a los tres tiempos de oviposición se determinaron tres niveles de toxicidad, destacando por su eficiencia Biosave Neem y Neem Oil Spray, que a concentraciones respectivas de 0.09-0.27 y 0.02-0.21 mg mL<sup>-1</sup> inhibieron en 50% la oviposición desde las 24 a las 72 h, mientras que con menor actividad resultaron Neemix 4.5 y PHC Neem, los cuales requirieron de 0.21->1 y 0.04-0.73 mg mL<sup>-1</sup> para ocasionar la misma inhibición.

respective concentrations of 0.09-0.27 and 0.02-0.21 mg mL<sup>-1</sup> inhibited oviposition by 50% from 24 to 72 h, while Neemix 4.5 and PHC Neem showed less activity, which required of 0.21->1 and from 0.04 - 0.73 mg mL<sup>-1</sup> to cause the same inhibition.

Females treated with Biosave Neem at 0.01 (24 and 48 h) and 0.02 mg mL<sup>-1</sup> (from 24 to 72 h), Neemix 4.5 at concentrations of 0.03-0.1, 0.01-0.2 and 0.03-0.2 mg mL<sup>-1</sup> at 24, 48 and 72 h, respectively and PHC Neem at 0.035 mg mL<sup>-1</sup> at 72 h, stimulate oviposition in a similar way to that observed with Nim 80 at 0.5 mg mL<sup>-1</sup> in adults of *B. tabaci* (Cubillo *et al.*, 1999).

The results of this research showed similarities with other studies; NeemAzal-T/S applied at 0.5 mg mL<sup>-1</sup> inhibited in 29.4% oviposition in adults of *T. vaporariorum* at

**Cuadro 2. Inhibición (%) de la oviposición de mosca blanca *T. vaporariorum* a 24, 48 y 72 h con cuatro productos de nim.**  
**Table 2. Inhibition (%) of oviposition of whitefly *T. vaporariorum* at 24, 48 and 72 h with four nim products.**

Producto	HPA			Producto	HPA		
Biosave Neem	24 <sup>2</sup>	48	72	Neem Oil Spray	24	48	72
1 <sup>1</sup>	92.4	100	91.9	1	98.1	100	100
0.5	83.3	92.7	44.1	0.6	80.8	93.5	69.3
0.2	64.3	36.5	6.8	0.3	59.4	40.3 <sup>3</sup>	52.9
0.1	35.2	26.4	32.9	0.15	46	57.7	31.7 <sup>3</sup>
0.05	36.7	3.9	41	0.1	38.7	51.2	33.4
0.02	55.7 <sup>3</sup>	-14 <sup>3</sup>	-5.6 <sup>3</sup>	0.035	34.5	48.8	41.6 <sup>3</sup>
0.01	54.3 <sup>3</sup>	32 <sup>3</sup>	22.4	0.01	46	27.9	9.2
0	0	0	0	0	0	0	0
CIO <sub>50</sub>	0.11	0.19	0.18	CIO <sub>50</sub>	0.12	0.03	0.17
	(0.09-0.14) <sup>4</sup>	(0.17-0.21)	(0.12-0.27)		(0.10-0.15)	(0.02-0.04)	(0.13-0.21)
X <sup>2</sup>	<0.0001 <sup>5</sup>	<0.0001	<0.0001	X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Neemix 4.5	24	48	72	PHC Neem	24	48	72
1	88	98.5	8.8	1.5	67.1	98	82.7
0.4	31	71.4	28.4	1	74	92.7	96.7
0.2	7	-8.4 <sup>3</sup>	-29.1 <sup>3</sup>	0.6	38.4	93.9	88
0.1	1.2 <sup>3</sup>	-18.7 <sup>3</sup>	-28.4 <sup>3</sup>	0.4	52.1	92.7	79.3
0.06	29.8 <sup>3</sup>	-24.6 <sup>3</sup>	-42.6 <sup>3</sup>	0.2	22.6	79.7	70
0.03	25.2 <sup>3</sup>	-5.9 <sup>3</sup>	-10.1 <sup>3</sup>	0.1	47.9	79.7	49.3
0.01	3.9	-52.7 <sup>3</sup>	4.7	0.035	31.5	27.6	-12 <sup>3</sup>
0	0	0	0	0	0	0	0
CIO <sub>50</sub>	0.52	0.3	---	CIO <sub>50</sub>	0.59	0.05	0.1
	(0.43-0.65)	(0.21-0.35)			(0.49-0.73)	(0.04-0.06)	(0.07-0.13)
X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	X <sup>2</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001

<sup>1</sup>concentraciones de los productos expresadas en mg mL<sup>-1</sup> de azadiractina; <sup>2</sup>n= 120 adultos/concentración/producto/día de evaluación; <sup>3</sup>datos no considerados en el análisis Probit; <sup>4</sup>límites fiduciales; <sup>5</sup>valor de X<sup>2</sup>; <sup>6</sup>valor ≥ 1.0 mg mL<sup>-1</sup> (no se efectuó análisis Probit).



Las hembras tratadas con Biosave Neem a 0.01 (24 y 48 h) y 0.02 mg mL<sup>-1</sup> (de 24 a 72 h), Neemix 4.5 a concentraciones de 0.03-0.1, 0.01-0.2 y 0.03-0.2 mg mL<sup>-1</sup> a 24, 48 y 72 h, respectivamente y PHC Neem a 0.035 mg mL<sup>-1</sup> a las 72 h, estimulan la oviposición de manera similar a lo observado con Nim 80 a 0.5 mg mL<sup>-1</sup> en adultos de *B. tabaci* (Cubillo *et al.*, 1999).

Los resultados de esta investigación, mostraron similitudes con otros estudios; NeemAzal-T/S aplicado a 0.5 mg mL<sup>-1</sup> inhibió en 29.4% la oviposición en adultos de *T. vaporariorum* a las 72 h (Von Elling *et al.*, 2002), y Margosan-O, que a las 48 h después de la aplicación de 0.5 mg mL<sup>-1</sup> inhibió en 83.59% la oviposición, muestran resultados equiparables a los obtenidos con Neemix 4.5.

La actividad conjunta de los productos mostraron que, PHC Neem, causó mortalidad total a 0.6 mg mL<sup>-1</sup> y aún cuando tuvo un desempeño regular en repelencia, demostró tener persistencia con poder tóxico de las 24 a las 72 h, además de inhibir la oviposición en forma eficiente con valores cercanos al 100%; de esta manera la concentración comercial recomendada en campo (100 mL L<sup>-1</sup>), provocaría de 90 a 95% de mortalidad, 50% de repelencia y 80% de inhibición de oviposición a las 24, 48 y 48 h, respectivamente, por lo que se sugiere que aunque causa hormoligosis a la concentración de 0.035 mg mL<sup>-1</sup>, no presentó fitotoxicidad. Neem Oil Spray causó la mayor mortalidad, repelencia, inhibición de oviposición y mayor persistencia, además de no provocar hormoligosis; sin embargo, fue más fitotóxico a concentraciones de 0.6 a 1 mg mL<sup>-1</sup>.

Esto puede ser en parte debido al daño ocasionado en la hoja, específicamente al nivel disuasivo en la selección del sitio de oviposición (Rodríguez, 2000); mientras que la dosis comercial (1.25 mL<sup>-1</sup>), causaría entre 75 y 80% de mortalidad, 92% de repelencia a las 48 h y de 75 a 80% de inhibición de oviposición. Biosave Neem, una mezcla de extractos de dos plantas, fue el tercer producto en eficiencia; sin embargo, provocó fitotoxicidad. La mortalidad total ocurrió a 1 mg mL<sup>-1</sup>, la cual decreció considerablemente a partir de 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, fue el mejor de los cuatro productos en repelencia a las 24 h, el segundo mejor a las 48 h, y presentó una fuerte biodegradación a las 72 h, y no obstante que inhibió fuertemente la oviposición con 1-0.6 mg mL<sup>-1</sup>, la estimuló a concentraciones de 0.2-0.01 mg mL<sup>-1</sup>, lo cual es importante en una mezcla con alta degradación como ésta, pues en campo las concentraciones elevadas pueden ser subletales a los 3 d.

72h (Von Elling *et al.*, 2002), and Margosan-O, that at 48 h after application of 0.5 mg mL<sup>-1</sup> inhibited oviposition in 83.59%, showing similar results to those obtained with Neemix 4.5.

The combined activity of the products showed that PHC Neem caused total mortality at 0.6 mg mL<sup>-1</sup> and even when it had a regular performance in repellency, it demonstrated persistence with toxic power from 24 to 72 h, in addition to inhibiting oviposition efficiently with values close to 100%; thus the commercial concentration in field (100 mL L<sup>-1</sup>), would cause from 90 to 95% mortality, 50% repellency and 80% inhibition of oviposition at 24, 48 and 48 h, respectively, so it is suggested that although causes hormoligosis at concentration of 0.035 mg mL<sup>-1</sup>, did not show phytotoxicity. Neem Oil Spray caused the highest mortality, repellency, oviposition inhibition and higher persistent, besides not causing hormoligosis; however, it was more phytotoxic at concentrations from 0.6 to 1 mg mL<sup>-1</sup>.

This may be partly due to the damage caused on the leaf, specifically at deterrent level in the selection of oviposition site (Rodríguez, 2000); while commercial dose (1.25 mL<sup>-1</sup>), would cause between 75 and 80% mortality, 92% repellency at 48 h and from 75 to 80% inhibition of oviposition. Biosave Neem, a mixture of extracts from two plants, was the third product in efficiency; however, it caused phytotoxicity. Full mortality occurred at 1 mg mL<sup>-1</sup>, which decreased significantly from 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, was the best of the four products in repellency at 24 h, the second best at 48 h, and showed strong biodegradation at 72 h, and nevertheless strongly inhibited oviposition with 1 - 0.6 mg mL<sup>-1</sup>, stimulating it at concentrations of 0.2 - 0.01 mg mL<sup>-1</sup>, which is important in a mixture with high degradation like this, because in field high concentrations can be sublethal at 3 d.

As for the recommended commercial concentration (1.25 mg mL<sup>-1</sup>), this would cause 94-95% mortality, 80% repellency and 100% inhibition of oviposition at 24, 48 and 48 h. In contrast, the less efficient product was Neemix 4.5 which at 1 mg mL<sup>-1</sup> caused moderate mortality, repellency and inhibition of oviposition at 24, 48 and 48 h respectively; however, stimulated oviposition at concentrations of 0.4 to 0.01 mg mL<sup>-1</sup>, and even when the recommended commercial concentration could cause 95% of mortality, 90% repellency and 95% inhibition of oviposition at 24, 48 and 48 h, this product proved to be phytotoxic at such concentrations.

En cuanto a la concentración comercial recomendada (1.25 mg mL<sup>-1</sup>), ésta provocaría 94-95% de mortalidad, 80% de repelencia y 100% de inhibición de oviposición a las 24, 48 y 48 h. En contraste, el producto menos eficiente fue Neemix 4.5, el cual a 1 mg mL<sup>-1</sup> causó mortalidad, repelencia e inhibición de oviposición moderadas a 24, 48 y 48 h respectivamente; sin embargo, estimuló la oviposición a las concentraciones de 0.4 a 0.01 mg mL<sup>-1</sup>, y aún cuando la concentración comercial recomendada podría ocasionar 95% de mortalidad, 90% de repelencia y 95% de inhibición de oviposición a las 24, 48 y 48 h, este producto demostró ser fitotóxico a dichas concentraciones.

En general se observan dos categorías toxicológicas dentro de las concentraciones evaluadas en todos los productos, la primera se ubica entre 0.4 y 1.5 mg mL<sup>-1</sup>, rango en el que se provoca más del 50% de efectividad en mortalidad, repelencia e inhibición de la oviposición, y la segunda de 0.01 a 0.3 mg mL<sup>-1</sup> que presenta entre 0.8 a 40% de efecto en mortalidad, repelencia e inhibición de oviposición, y es en esta segunda categoría en la que Biosave Neem y Neemix 4.5 presentan hormoligosis.

El efecto persistente de las formulaciones con aceite puede ser considerado una ventaja debido a que se requieren concentraciones menores para conseguir el mismo efecto que las no persistentes; pero esto mismo implica mayor permanencia del producto en el ambiente y se acelera la presión de selección, se desarrolla la resistencia y se acorta la vida útil del producto, además de ser más fitotóxico. Autores señalan que los productos enriquecidos con aceite son más eficientes, por la presencia de compuestos insecticidas y por la persistencia de éstos en la planta, además del efecto físico en el insecto (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999). Stark y Walter (1995), mencionan que hay 62% más de eficiencia en cuatro productos con 5% de aceite de nim, comparados con tres productos no oleosos, identificando en los primeros seis limonoides además de azadiractina.

Tomando en cuenta lo anterior, las formulaciones oleosas en forma de emulsiones (comunes en los productos comerciales), deben ser consideradas las más adecuadas para incluirse en esquemas de manejo integrado de plagas. El aceite de nim es un componente esencial en un producto formulado comercial, pues la adición de aceite modifica la polaridad de la misma, y en este contexto las formulaciones con menor proporción de aceite y más emulsionables pueden ser absorbidas con mayor facilidad y presentar efectos sistémicos hasta por 14 d, demostrando además que la mayor

In general, two toxicological categories within concentrations evaluated in all products were observed, the first is between 0.4 and 1.5 mg mL<sup>-1</sup>, range in which causes more than 50% effectiveness in mortality, repellency and inhibition of oviposition, and the second from 0.01 to 0.3 mg mL<sup>-1</sup> showing from 0.8 to 40% effect on mortality, repellency and inhibition of oviposition, and it is in this second category in which Biosave Neem and Neemix 4.5 show hormoligosis.

The persistent effect of formulations with oil can be considered an advantage due to lower concentrations are required to achieve the same effect than non-persistent; but the same implies greater permanence of the product in the environment and accelerates selection pressure, develops resistance and shortens product life, besides being phytotoxic. Authors note that products enriched with oil are more efficient, by the presence of insecticidal compounds and the persistence of these in the plant and the physical effect on the insect (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999). Stark and Walter (1995), mentioned that there is 62% more efficiency in four products with 5% neem oil, compared to three non-oily products, identified in the first six limonoids in addition to azadirachtin.

Taking into account the above, oily formulations in the form of emulsions (common in commercial products) should be considered the most appropriate schemes for inclusion in integrated pest management. Neem oil is an essential component in a commercial formulated product, since the addition of oil changes the polarity of the same, and in this context the formulations with lower proportion of oil and more emulsifiable can be absorbed more easily and have systemic effects up to 14 d, further demonstrating that the highest effectiveness of the products, after the first hours of application, is due to this effect (Silva *et al.*, 2003), so it could behave as non-phytotoxic insecticides, with regular persistence. This is because azadirachtin and other limonoids decompose rapidly under the effect of light, UV rays, temperature, rain, HR, pH and microbial activity, within approximately 4 d (Mulla and Su, 1999). While applying crude extracts of oil turns efficient for at least 5 d, being able to increase up to 10 d, gradually decreasing, this depending on the solvent used in extraction (Abdel-Salam *et al.*, 2005). This is because neem oil increases the toxicity of the formulations, either because it promotes penetration into insect cuticle or contains other limonoids that increase their insecticidal activity, in addition that just oil confers greater persistence to the mixture (Stark and Walter, 1995).

efectividad de los productos, después de las primeras horas de aplicación, se debe a este efecto (Silva *et al.*, 2003), por lo que pudieran comportarse como insectistáticos no fitotóxicos, con regular persistencia. Lo anterior se debe a que la azadiractina y otros limonoides se descomponen rápidamente por efecto de luz, rayos UV, temperatura, lluvia, HR, pH y actividad microbial, en un lapso aproximado de 4 d (Mulla y Su, 1999). Mientras que la aplicación de extractos crudos de aceite resulta eficiente por lo menos 5 d, pudiendo incrementarse hasta 10 d, decreciendo paulatinamente, esto en dependencia del disolvente utilizado en la extracción (Andel-Salam *et al.*, 2005). Lo anterior se debe a que el aceite de nim incrementa la toxicidad de los formulados, ya sea porque favorece la penetración en la cutícula del insecto, o bien por contener otros limonoides que aumentan su actividad insecticida, además de que por sí solo el aceite le confiere mayor persistencia a la mezcla (Stark y Walter, 1995).

Una razón más del comportamiento diferencial de las formulaciones, en especial de aquellas como Biosave Neem, que son mezclas de extractos de dos plantas, es que la concentración de azadiractina pudiera causar la pérdida del efecto sinérgico con los otros compuestos, además de que a bajas concentraciones es posible observar repelencia e inhibición de la alimentación, pero estos efectos no serán apreciables a concentraciones elevadas (Kumar *et al.*, 2003).

En cuanto al comportamiento de estimulación de la oviposición de algunos productos de nim, otra probable explicación (además de que pudiera presentarse hormoligosis), es que estos tengan un efecto similar al Fenvalerato, el cual también indujo hormoligosis en *B. tabaci* en plantas de algodón a concentraciones de 25, 38 y 52 g ia ha<sup>-1</sup>. En la evaluación de diversos insecticidas, se encontró que este producto no provoca reducción de azúcares totales en las hojas tras su aplicación, por lo que el insecto no considera al hospedero como inadecuado para el desarrollo de su progenie (Abdullah *et al.*, 2006).

Sin embargo, son necesarios estudios en los que se determine el efecto en la fertilidad y subsecuentemente en el ciclo del insecto. Considerando otras investigaciones, de manera general, Neem Oil Spray y PHC Neem son más eficientes que NeemAzal-T/S y Neem Rose Defense EC (Von Elling *et al.*, 2002; Chiasson *et al.*, 2004); mientras que Azatin EC y Margosan-O, presentan actividad similar con los primeros. Por otro lado, se sugiere que Nim 80 y Nim Oil (Gómez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999), requieren concentraciones menores a las evaluadas en esta investigación para producir efectos similares.

One more reason for the differential behavior of formulations, especially those like Biosave Neem, which are extract mixtures of two plants, is that azadirachtin concentration could cause loss of synergistic effect with other compounds, in addition that at low concentrations is possible to observe repellency and feeding inhibition, but these effects won't be appreciated at high concentrations (Kumar *et al.*, 2003).

Regarding stimulation behavior of oviposition of some nim products, another likely explanation (besides that it could show hormoligosis), is that these have a similar effect to Fenvalerate, which also induced hormoligosis in *B. tabaci* in cotton plants at concentrations of 25, 38 and 52 g ai ha<sup>-1</sup>. In the evaluation of various insecticides, it was found that this product does not cause reduction of total sugars in leaves after application, so that the insect does not consider the host as unsuitable for the development of their offspring (Abdullah *et al.*, 2006).

However, studies in which the effect on fertility are determined and subsequent monitoring in the cycle of the insect are required. Considering other researches, in general, Neem Oil Spray and PHCs Neem are more efficient than Neemazal-T/S and Neem Rose Defense EC (Von Elling *et al.*, 2002; Chiasson *et al.*, 2004); while Azatin EC and Margosan-O, exhibit similar activity to the first. On the other hand, it is suggested that Nim 80 and Nim Oil (Gomez *et al.*, 1997; Cubillo *et al.*, 1999), require lower concentrations than those evaluated in this research to produce similar effects.

Even though these products alone are not able to abate these populations, having a synergistic effect with some products of microbial origin such as entomopathogenic fungi, which can be used together, although its use should be subject to compatibility tests with natural enemies such as parasitoids, predators and pollinators (Morgan *et al.*, 2009; Luna *et al.*, 2011; Scudeler Santos, 2013).

## Conclusions

The most efficient products to cause total mortality were Neem Oil Spray and PHCs Neem; the best repellent was Neem Oil Spray (82.6%), PHC Neem (72.3%), Biosave Neem (70.8%), and Neemix 4.5 (59.9%); the first two show greater persistence with similar effect at 3 days of evaluation,


Aun cuando estos productos por sí solos no consigan abatir dichas poblaciones, presentan efecto sinérgico con algunos productos de origen microbiano como hongos entomopatógenos, por lo que pueden utilizarse en conjunto, aunque su uso deberá estar condicionado a pruebas de compatibilidad con enemigos naturales como parasitoides, depredadores y polinizadores (Morgan *et al.*, 2009; Luna *et al.*, 2011; Scudeler y Santos, 2013).

## Conclusiones

Los productos más eficiente al provocar mortalidad total fueron Neem Oil Spray y PHC Neem; el mejor repelente fue Neem Oil Spray (82.6%), PHC Neem (72.3%), Biosave Neem (70.8%), y Neemix 4.5 (59.9%); los dos primeros muestran la mayor persistencia con efecto similar a los 3 días de evaluación, mientras que los dos restantes se degradan fuertemente a las 72 h. El mejor inhibidor de la oviposición fue Neem Oil Spray (99.6%), Biosave Neem (92.8%), PHC Neem (82.6%), y Neemix 4.5 (57%). En contraste, Biosave Neem y Neemix 4.5 estimularon la oviposición en concentraciones de 0.01 a 0.3 mg mL<sup>-1</sup> y PHC Neem a 0.035 mg mL<sup>-1</sup>.

En orden de eficacia Neem Oil Spray fue el mejor pero más residual y fitotóxico; mientras que PHC Neem, siguió en eficacia y fue menos persistente y fitotóxico; Biosave Neem y Neemix 4.5, tuvieron valores moderados de mortalidad, repelencia e inhibición de la oviposición, pero a concentraciones subletales estimularon la oviposición. Los resultados sugieren que Neem Oil Spray y PHC Neem mostraron mejor efecto insecticida mientras que Biosave Neem y Neemix 4.5 pueden funcionar mejor como insectistáticos.

## Literatura citada

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:265-267.
- Abdullah, N. M. M.; Singh, J. and Sohal, B. S. 2006. Behavioral hormoligosis in oviposition preference of *Bemisia tabaci* on cotton. *Pest. Biochem. Phys.* 84:10-16.
- Abou-Fakhr, H. E. M.; Nemer, N. M.; Hawi, Z. K. and Hanna, T. 2000. Responses of the sweet whitefly, *Bemisia tabaci*, to the chinaberry tree (*Melia azedarach* L.) and its extracts. *Ann. appl. Biol.* 137(8):79-88.
- Ahmed, N.; Ansari, M. S. and Hasan, F. 2012. Effects of neem based insecticides on *Plutella xylostella* (Linn.). *Crop Prot.* 34:18-24.
- while the two remaining strongly degrade at 72 hours. The best inhibitor of oviposition was Neem Oil Spray (99.6%), Biosave Neem (92.8%), PHC Neem (82.6%), and Neemix 4.5 (57%). In contrast, Biosave Neem and Neemix 4.5 stimulated the ovoposition in concentrations of 0.01 to 0.3 mg mL<sup>-1</sup> and PHC Neem 0.035 mg mL<sup>-1</sup>.
- In order of effectiveness Neem Oil Spray was the best but more residual and phytotoxic; while PHC Neem, followed in efficacy and was less persistent and phytotoxic; Biosave Neem and Neemix 4.5, had moderate values of mortality, repellency and inhibition of oviposition, but at sublethal concentrations stimulated oviposition. The results suggest that Neem Oil Spray and PHCs Neem showed better insecticidal effect while Biosave Neem and Neemix 4.5 may work best as insectistatics.
- End of the English version*
- 
- 
- Andel-Salam, S. E.; Canyon, D.; Faried-Younes, M. W.; Abdel-Wahab, H. and Mansour, A. H. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Envir. Inter.* 31(8):1149-1166.
- Boursiera, C. M.; Bosco, D.; Coulibaly, A. and Negre, M. 2011. Are traditional neem extract preparations as efficient as a commercial formulation of azadirachtin A? *Crop Protec.* 30(3):318-322.
- Castillo-Sánchez, L. E.; Jiménez-Osornio, J. J. and Delgado-Herrera, M. A. 2010. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 12(3):445-462.
- Chiasson, H.; Vincent, C. and Bostanian, N. J. 2004. Insecticidal properties of a *Chenopodium* - Based Botanical. *J. Econ. Entomol.* 97(4):1378-1383.
- Coria, C.; Almiron, W.; Valladares, G.; Carpinella, C.; Ludueña, F.; Defago, M. and Palacios, S. 2008. Larvicidae and oviposition deterrent effects of fruit and leaf ext from *Melia azedarach* (L.) on *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) *Bioresour. Technol.* 99:3066-3070.
- Cubillo D.; Sanabria, G. y Hilje, L. 1999. Evaluación de la repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. *Man. Inte. Plagas.* 53:65-71.
- Fernández, J. A.; Ghiggia, L. I.; Macián, A. J.; Arce, O.; Jaime A. P. y Paz, M. R. 2013. Dos sistemas de manejo de un cultivo comercial de pimiento (*Capsicum annum* L.) bajo carpa plástica para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Lules, Tucumán. *Paz Rev. Agron. N. O. Argent.* 33(1):21-24.
- Gahucar, R. T. 2014. Factors affecting content and bioefficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control. *Crop Prot.* 62:93-99.
- Gómez, P.; Cubillo, D.; Mora, G. A. y Hilje, L. 1997. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci*: I. Productos comerciales. *Man. Inte. Plagas.* 46:9-16.
- Huang, Z.; Shi, P.; Dai, J. and Du, J. 2004. Protein metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is influenced by the botanical insecticide azadirachtin. *Pest. Biochem. Physiol.* 80:85-93.



- Islam, M. T.; Castle, S. J. and Ren, S. X. 2010. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. *Entomol. Exp. Appl.* 134:28-34.
- Islam, M. T. and Omar, D. B. 2012. Combined effect of *Beauveria bassiana* with neem on virulence of insect in case of two application approaches. *J. An. Plant Sci.* 22(1):77-82.
- Kumar, A. R. V.; Jayadevi, H. C.; Ashoka, H. J. and Chandrashekara, K. 2003. Azadirachtin use efficiency in commercial neem formulations. *Curr. Sci.* 84(11):1459-1464.
- Kumar, P. and Poehling, H. M. 2006. Persistence of soil and foliar azadirachtin treatments to control whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) on tomatoes under controlled (laboratory) and field (netted greenhouse) conditions in the humid tropics. *J. Pest Sci.* 79(4):189-199.
- Luckey, T. D. 1968. Insecticide hormoligosis. *J. Econ. Entomol.* 61(1):7-12.
- Luna-Cruz, A.; Lomelí-Flores, J. R.; Rodríguez-Leyva, E.; Ortega-Arenas, L. D. y Huerta-de La Peña, A. 2011. Toxicidad de cuatro insecticidas sobre *Tamarixia triozae* (Burks.) (Hymenoptera: Eulophidae) y su hospedero *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 27(3):509-526.
- Mohan, M. C.; Narasimha, P.; Reddy, N. P.; Devi, U. K.; Kongara, R. and Sharma, H. C. 2007. Growth and insect assays of *Beauveria bassiana* with neem to test their compatibility and synergism. *Biocontr. Sci. Tech.*, 17: 1059-1069.
- Mordue, A. J.; Morgan, E. D. and Nisbet, A. J. 2005. Azadirachtin, a natural product in insect control. *In: Mordue, A. J.; Morgan, E. D. and Nisbet, A. J. Comprehensive Molecular Insect Science-Control.* Elsevier, Oxford, United Kingdom. 2875 p.
- Morgan, E. D. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic Medicinal Chem.* 17:4096-4105.
- Mulla, M. S. and Su, T. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* 15(2):133-152.
- Nzanza, B. P. and Mashela, W. 2012. Control of whiteflies and aphids in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by fermented plant extracts of Neem leaf and wild garlic. *Afr. J. Biotechnol.* 11(94):16077-16082.
- Odeyemi, O. O.; Masika, P. and Afolayan, A. J. 2008. A review of the use of phytochemicals for insect pest control. *Afr. Plant Prot.* 14:1-7.
- Ortega, A. L. D. and Schuster, D. J. 2000. Repellency to silverleaf withefly adults. Gulf coast research and education center. University of Florida. Bradenton, FL., USA. 2 p.
- Rodríguez, H. C. 2000. Inhibición de la alimentación en insectos plaga. *In: métodos de investigación en las ciencias ambientales.* López, O. J. F.; Aragón, G. A. y Valera, M. A. P. (Eds). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Puebla, México. Publicación Especial. 75-97 pp.
- Salas, J. y Mendoza, O. 2001. Evaluación de un extracto de nim en el control de *Bemisia tabaci* y *Liriomyza sativae* en tomate. *Agron. Trop.* 51(2):221-234.
- SAS. 1999. Procedures Guide. Release 8. Cary, North Carolina, USA. 1643 p.
- Scudeler, E. L. and Carvalho dos Santos, D. 2013. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micron.* 44:125-132.
- Silva, L. D.; Bleicher, E. e Araújo, A. C. 2003. Eficiência de Azadiractina no controle de mosca-blanca em meloeiro sob condições de casa de vegetação e de campo. *Hort. Brasil.* 21(2):198-201.
- Simmonds, M. S. J.; Manlove, J. D.; Blaney, W. M. and Khambay, B. P. S. 2002. Effects of selected botanical insecticides on the behavior and mortality of the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and the parasitoid *Encarsia formosa*. *Ent. Exp. Appl.* 102(1):39-47.
- Stark, D. J. and Walter, J. F. 1995. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. *J. Agric. Food Chem.* 43(2):507-512.
- Von Elling, K.; Borgemeister, C.; Sétamou, M. and Poehling, H. M. 2002. The effect of NeemAzal-T/S®, a commercial neem product, on different developmental stages of the common greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hom. Aleyrodidae). *J. Appl. Ent.* 126(1):40-45.