

Actividad biológica de la azadiractina sobre *Nezara viridula* (L.)

M. RIBA y J. MARTÍ

Se ha estudiado la acción reguladora del desarrollo de diferentes dosis de azadiractina, aplicadas tópicamente sobre ninfas *Nezara viridula* (L.) de 5º estadio. Igualmente se ha evaluado la fecundidad y la fertilidad de adultos, machos y hembras, procedentes de ninfas tratada con dicho compuesto a varias dosis subletales.

Con dosis iguales o superiores a 200 ng/insecto se alcanzaron porcentajes de mortalidad en la muda superiores al 85 %, estos adultos poseían además un elevado número de características ninfales y resultaron inviables. A dosis inferiores, desde 50 a 2 ng/insecto, se obtuvo un porcentaje de adultos aparentemente normales superior al 50%.

El efecto esterilizante-reductor de fecundidad de la azadiractina se observó tratando hembras y machos con dosis de 5 ng/insecto. El número de huevos/insecto tratado fue significativamente inferior al testigo control.

Finalmente azadiractina a dosis de 1 µg/cm² dispuesta sobre el área de puesta, mostró un claro efecto disuasor de la oviposición sobre hembras fecundadas de la especie.

M. RIBA y J. MARTÍ. Unidad de Protección de Cultivos. Centro R+D (UdL-IRTA). Av. Rovira Roure, 177. 25006-Lleida.

Palabras clave: Azadiractina, actividad reguladora del desarrollo, actividad reductora de la fecundidad, actividad disuasoria de la oviposición, *Nezara viridula*.

INTRODUCCIÓN

Los extractos de diferentes partes de la planta de especies como *Azadirachta indica* (A. JUSS) y *Melia azedarach* presentan una elevada bioactividad frente a numerosas especies de insectos y ácaros (SCHMUTTERER and ASCHER, 1981, 1984, y 1987). Esta bioactividad se puede basar, tanto en la influencia sobre aspectos del comportamiento del insecto: Actividad inhibitoria de alimentación de larvas o actividad inhibitoria de la oviposición en hembras fecundadas; como sobre aspectos de la fisiología del insecto: Actividad reguladora del desarrollo, actividad reguladora de la fecundidad o fertilidad (JACOBSON, M., 1988).

La relativa inocuidad de estos extractos para mamíferos, incluido el hombre

(RADWANSKI AND WICKENS, 1981), unida a su poca persistencia en el entorno, y a su moderado impacto ecológico (SCHMUTTERER, 1990); han favorecido que en los últimos años se hayan evaluado diversas formulaciones de extractos de estas plantas con miras a su uso como productos fitosanitarios comerciales. Así margosan-O o azatin son algunos de los productos pioneros en este campo, que vienen utilizándose con éxito relativo en protección de cultivos (LARSON, 1987). Hay que decir, sin embargo, que en algunas legislaciones más estrictas, como por ejemplo en EE.UU.; la EPA (Environmental Protection Agency) aprobó en 1988 la restricción del uso de estos extractos, limitándolos a cultivos no alimentarios.

Entre todos los principios activos aislados en estas especies, la azadiractina es

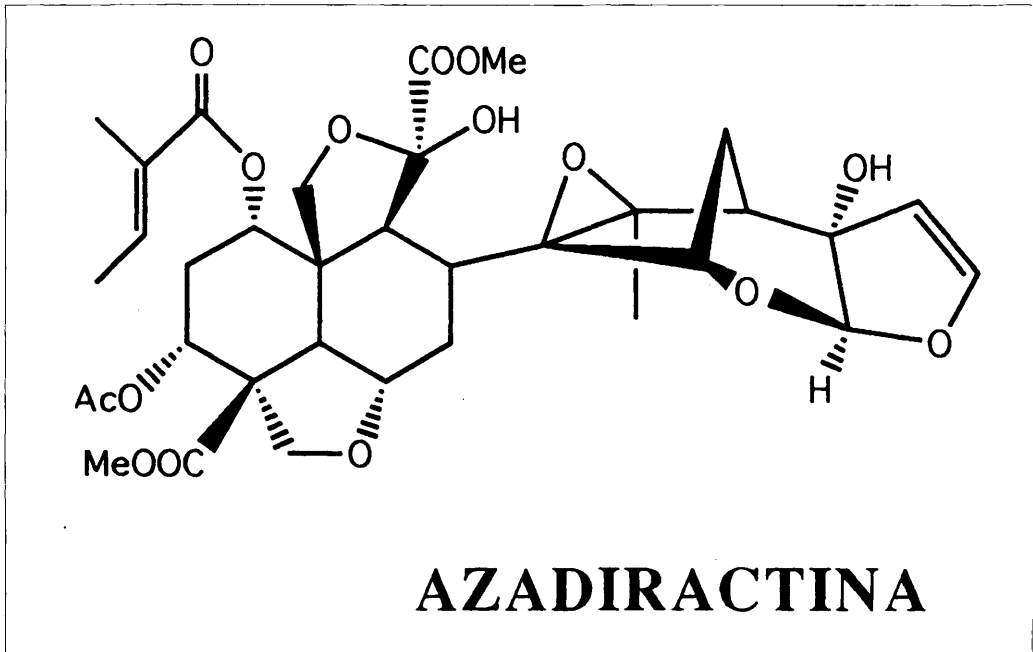


Fig. 1.—Estructura propuesta para la azadiractina, metabolito secundario encontrado en extractos de *A. indica*, con una elevada bioactividad sobre insectos.

sin duda el compuesto que presenta una mayor bioactividad, y a la vez un campo de acción más amplio. Su estructura sumamente compleja ha sido conocida tras más de diez años de investigación por distintos especialistas del campo de la Química de Productos Naturales (BUTTERWORTH et al. 1972), y se corresponde con un tetranortriterpenoide de estructura tipo limonoide.

Esta estructura presenta además varios centros quirales, por lo que puede presentar diversos diastereoisómeros, se han encontrado en la naturaleza hasta siete, de los cuales el isómero dibujado en la Figura 1 (azadiractina A), es el que se encuentra en mayor proporción y el que se muestra más activo (REMBOLD et al. 1984).

Su acción como antagonista de la hormona de muda, y por tanto su capacidad de provocar alteraciones importantes en el desarrollo de insectos plaga, así como en su capacidad reproductora, ha sido ampliamente documentada en la literatura, sobre

todo en lepidópteros (REMBOLD, H., 1989). Además, suele también producir en la mayoría de los casos, una disrupción en sus hábitos alimentarios (HASSANALI AND BENTLEY, 1987).

En este trabajo nuestro objetivo ha sido determinar la actividad de la azadiractina frente a *Nezara viridula* (L.), insecto de desarrollo heterometábolo, que constituye una de las plagas más polífagas de todo el mundo, pudiendo afectar sobre todo a cultivos de soja, hortícolas en general, y también a determinados frutales. A pesar de la abundante bibliografía disponible, son relativamente poco frecuentes los estudios de bioactividad del tóxico en el orden de los heterópteros, que constituyen, por otra parte, uno de los tipos de desarrollo típico de insectos plaga.

Se han ensayado esencialmente tres tipos de pruebas de bioactividad, que fueron: Pruebas de actividad reguladora del desarrollo de las ninfas, pruebas de actividad reductora de fertilidad y efecto esterilizante en

adultos, y pruebas de actividad disuasoria de la oviposición de hembras fecundadas. Las pruebas sobre actividad antialimentaria dieron muy poco resultado en este caso, probablemente debido a la introducción del tóxico en un substrato alimentario inadecuado para este insecto chupador.

MATERIAL Y MÉTODOS

Condiciones experimentales de cría de *N. viridula*

Para la cría del insecto seguimos el procedimiento descrito en los trabajos de Harris y Todd (1981), según el cual el insecto se mantiene a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y fotoperiodo de 16:8 (L/O). Los adultos y las ninfas fueron alimentados con una dieta que se reponía semanalmente, y consistente en judías verdes tiernas, lavadas cuidadosamente con agua y posteriormente secadas antes de su uso, y en cacahuetes crudos y pelados.

Adultos procedentes de distintas localidades de nuestro entorno se colocaron en potes de cría (potes de plástico, cilíndricos y transparentes de 17 x 10 cm), con el fondo recubierto de papel de filtro, que cambiábamos periódicamente y con la parte superior agujereada y recubierta por tela mosquitera. En el interior de los potes se colgaba diagonalmente una tira de papel de satinado de unos 3 cm de ancho, que servía para que las hembras depositaran sus puestas en la cara interior.

Acabada la puesta, se recortaba el trozo de papel correspondiente, y se colocaba en cápsulas de Petri de plástico de 9 x 1,5 cm, con el fondo también recubierto de papel de filtro. Cuando los huevos eclosionaban, dicho papel de filtro se humedecía diariamente. Trozos de judías tiernas introducidas en el interior de las placas, servían también para mantener en las cápsulas una humedad relativa alta y evitar la deshidratación de las ninfas.

Cuando las ninfas mudaban al 2º estadio eran transvasadas a los potes de cría, consis-

tentes en cajas de plástico cilíndricas de 7 x 4 cm con la cara superior agujereada y recubierta con tela mosquitera. Dichas ninfas se mantuvieron en el recinto de cría hasta que mudaban al estado adulto.

Pruebas de actividad reguladora del desarrollo

Se llevaron a cabo utilizando ninfas de 5º estadio de menos de 24 horas. Se realizaron tres réplicas por cada fracción, utilizando 10 insectos por repetición.

Los productos probados iban disueltos en solución acetónica, aplicándose 1 μl de la misma tópicamente en la parte ventral del abdomen, con el uso de una jeringa de precisión de punta biselada.

Las ninfas tratadas eran individualizadas en recintos, y se llevaba a cabo un control diario de la evolución de su desarrollo hasta 10 días después de su llegada a adulto.

Los parámetros estudiados fueron:

- Duración del 5º estadio ninfal,
- Anormalidades en el proceso de muda, y
- Grado de Juvenilización.

El grado de Juvenilización es un parámetro utilizado en nuestro laboratorio para cuantificar el efecto de diversos análogos de hormonas de regulación de desarrollo. Se definía en base a una escala numérica que nos permitió cuantificar las alteraciones morfológicas (características ninfales), existentes en adultos emergidos, tras observaciones de: genitalia externa, artejos de las antenas y los tarsos, hemiélitros, coloraciones del abdomen (en márgenes y parte ventral), presencia o ausencia de ocelos, presencia o ausencia de glándulas odoríferas, tejido necrosado y desprendimiento del exubio.

Se evaluó la actividad de azadiractina comercial de 95% (Sigma- A 7430), empleada a dosis de 0.002, 0.005, 0.02, 0.05, 0.2 y 0.5 $\mu\text{g}/\text{insecto}$. Dicha actividad se evaluó comparativamente con la de dos controles:

Blanco, donde se recogía la evolución de insectos no tratados y Testigo, donde se recogía la evolución de insectos tratados con el disolvente utilizado para aplicar el producto (acetona).

Las pruebas de la actividad reductora de fertilidad y efecto esterilizante

Se realizaron usando machos o hembras adultos, que previamente habían sido tratados en el 5º estadio ninfal según se ha descrito anteriormente, con dosis lo suficientemente bajas de azadiractina para que no se produjera alteración en su desarrollo habitual y dieran lugar a adultos aparentemente normales. Las dosis de azadiractina utilizadas fueron en este caso de 2, 5 y 20 ng/insecto.

Se realizaron dos repeticiones por tratamiento, y cada repetición constaba de dos unidades muestrales, consistentes en tres adultos machos o hembras que habían sido tratados y seis adultos de sexo contrario sin tratar. El ensayo se daba por acabado a los 55 días de observación diaria.

Los parámetros estudiados para evaluar la fertilidad y fecundidad de los individuos tratados fueron:

- Nº de huevos por puesta, contabilizado en todas las puestas obtenidas en los distintos potes de un mismo tratamiento
- Nº de puestas por insecto tratado, estimado como valor medio de cada unidad muestral.
- Nº de huevos por insecto tratado, resultado de combinación de los dos índices anteriores y estimado como índice de fecundidad.
- La viabilidad, como indicador de fertilidad de los huevos. Se evaluaba tras la eclosión el % de huevos viables por puesta.
- Nº de acoplamientos por insecto tratado, evaluado como media por cada unidad muestral.- Duración de la cópula.

Pruebas de actividad disuasoria de la oviposición

Para este tipo de ensayo utilizamos adultos de edad superior a 25 días, que ya hubieran mostrado su madurez sexual con anterioridad. Se realizaron tres repeticiones por fracción, cada repetición constaba de 4 unidades muestrales. A la vez en cada unidad muestral teníamos dos recintos de puesta con 5 hembras y 10 machos. Si durante la experiencia se producía la muerte de algún ejemplar, éste era sustituido por otro de características idénticas.

La prueba consistía en el tratamiento con distinta dosis de producto de la superficie de puesta (cara inferior de un papel de 50 cm², colocada transversalmente en las cajas o recintos de cría). En cada espacio de cría dispusimos de dos papeles de cría, uno tratado con el producto y otro tratado con acetona, que servía de control. Se aplica dos dosis de azadiractina: 0.1 µg/cm² y 1 µg/cm².

La experiencia se daba por acabada a las dos semanas de la aplicación y durante este periodo se hizo un seguimiento de nº de puestas a los 4, 7, 11 y 14 días.

Los parámetros estudiados fueron:

- Evaluación del nº de puestas acumuladas en los papeles de puesta.
- Evaluación del nº de puestas periódicas realizadas en base al índice:

$$IDO = \frac{N_c}{N_c + N_{AP}}$$

(Índice de disuasión de la oviposición)

donde:

- N_c es el nº de puestas realizadas en el papel de puesta tratado solo con acetona por unidad muestral y periodo considerado.
- N_{AP} es el nº de puestas realizadas en el papel de puesta tratado con producto por unidad muestral y periodo considerado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de actividad inhibitoria del desarrollo

Los resultados obtenidos en este primer bloque de experiencias se presentan en el Cuadro 1. La duración del 5° estadio ninfal no parece venir afectada por ningún tratamiento. Como se ve no hay diferencias significativas, ni entre los controles ni en función de la dosis, salvo quizá para la dosis más alta de azadiractina. Con todo las diferencias observadas de sólo medio día, aunque difieran estadísticamente, son poco concluyentes. Hay que reseñar también que los datos correspondientes a las dosis más altas (0.2 y 0.5 µg/insecto) de azadiractina, son poco representativos desde el punto de vista estadístico, toda vez que constituyen medias de muy pocos insectos, dada la gran mortalidad acaecida en tratamientos.

El estudio del tipo de muda se hizo en base a tres criterios: El % de individuos muertos durante la muda, el % de mudas anormales, y el % de mudas normales.

Las dosis más altas de azadiractina (0.2 y 0.5 mg/insecto) dan altos porcentajes de mortalidad, siendo del 100 % para 0.2

mg/insecto y del 85 % para 0.5 mg/insecto, en este último caso aparecen mudas con alto grado de anormalidad y desde luego inviables. Estos porcentajes de mortalidad resultan ser considerablemente más bajos para los restantes tratamientos y nulos en los controles. Para las dosis subletales el porcentaje de anormalidad crece con la proporción de azadiractina.

En cuando a mudas normales, decrecen al aumentar la dosis. De hecho a las dosis mayores ensayadas (0.2 y 0.5 mg de azadiractina/insecto), ninguno consiguió mudar normalmente, e incluso a las dosis bajas ensayadas (0.002 mg/insecto), solo lo hacen en un porcentaje significativamente inferior a los controles.

Si consideramos el grado de juvenalización medio (GJM), se observa un crecimiento del índice en función de la dosis de azadiractina aplicada, desde un valor de 0.032 para la dosis baja de azadiractina, que corresponde a un adulto casi perfecto, hasta un valor de 0.860, que corresponde a un adultoide inviable con muchas características ninfales.

Por todo ello parece bastante claro la interferencia de la azadiractina en el proceso de muda de *N. viridula*, al menos a las dosis más altas aplicadas, tal como ha sido descrito en otras especies de heterópteros, como

Cuadro 1.—Duración del desarrollo del quinto estadio ninfal, tipos de muda y grado de juvenalización medio en ninfas de *N. viridula* tratadas a diferentes dosis de azadiractina. Los valores de las medias seguidos de la misma letra no se diferencian significativamente según la prueba del intervalo múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

Tratamiento	Dosis (µg/ins.)	Duración 5.º estadio ninfal (días)	Tipos de muda			Graduado de juvenalización medio
			Muertos muda (%)	Mudas normales (%)	Mudas anormales (%)	
Blanco	0	10,30 b	0,00	86,70	13,30	0,019
Testigo	0	9,76 b	0,00	82,70	17,30	0,024
azadiractina	0,002	10,33 b	8,30	54,20	37,50	0,032
	0,005	8,90 c	7,40	51,90	40,70	0,042
	0,02	10,00 b	27,20	27,20	45,50	0,058
	0,05	10,18 b	3,50	39,40	57,11	0,021
	0,2	9,87 b	100,00	—	—	—
	0,5	10,71 a	85,70	0,00	14,30	0,860

por ejemplo, *Oncopeltus fasciatus*, trabajando con extractos de *Azadirachta indica* y *Melia azedarach* (LEUSCHNER, 1974).

Pruebas de actividad reductora de fecundidad y efecto esterilizante

Pruebas con hembras tratadas

Los resultados obtenidos del estudio de los parámetros de fertilidad y fecundidad en ensayo sobre hembras tratadas se muestran en el Cuadro 2.

En primer lugar, podemos remarcar el paralelismo entre blanco y testigo en todas los índices estudiados, lo que nos indica el efecto nulo del disolvente en nuestros estudio.

La dosis más alta de azadiractina 20 ng/insecto provoca una disminución del n° huevos/puesta, así como n° puestas/insecto, lo que en conjunto repercute en la fecundidad (n° huevos/insecto), y así sólo observamos valores del orden de 33 huevos /insecto tratado frente a valores del orden de 125 huevos/insecto para los controles.

No se observan diferencias en la viabilidad de los huevos (eclosionan entre 60-70%) en todos los casos, sin diferencias significativas con los testigos ni entre las dosis de azadiractina ensayadas.

Tampoco en la duración de las cópulas pudimos llegar a estimar diferencias, adquiriendo este parámetro valores medios de

2.25 a 2.75 en los distintos ensayos efectuados.

En cuanto al último parámetro considerado, el n° acoplamientos / insecto tratado, de nuevo constatamos que solamente con la dosis alta de azadiractina se reduce significativamente, pasando de valores medios del orden de 3 a 1.4 (reducción del orden del 50%).

Concluyendo podemos decir que la dosis más alta de azadiractina causa alteración en la fecundidad de las hembras. Por contra el parámetro correlacionado con la fertilidad (% eclosiones), no parece venir afectado a las dosis de azadiractina utilizadas. Hay que decir además que en observaciones con la lupa binocular no hemos sido capaces de observar en ningún caso anomalías en el aparato reproductor de las hembras tratadas.

Pruebas con machos tratados

Antes que nada hay que decir que el hecho de estimar la posible influencia de azadiractina sobre los machos en base a puestas realizadas por hembras sobre las que los primeros se habían apareado, puede resultar problemático a la hora de sacar conclusiones, dado que entra en juego las condiciones intrínsecas de cada hembra utilizada. Para ello se procuró utilizar hembras jóvenes que hubieran puesto en evidencia con anterioridad su capacidad reproductora.

Cuadro 2.—Índices utilizados para evaluar la fecundidad y la fertilidad en hembras de *N. viridula*. Valores medios de un mismo índice seguidos de la misma letra no difieren significativamente según la prueba del intervalo múltiple de Duncan ($P < 0.05$).

Producto	Dosis (ng/ins)	N.º huevos/puesta	N.º puestas/ins. trat.	N.º huevos/ins. trat.	Viabilidad (%)	Duración cópula (días)	N.º cópulas/ins. trat.
Blanco	—	63,77 a	1,83 a	116,80 a	67,50 a	2,26 a	3,15 a
Testigo	—	67,78 a	1,91 a	129,90 a	67,78 a	2,26 a	2,97 a
Azadiractina	2	67,16 a	1,50 a	100,75 a	72,88 a	2,26 a	3,07 a
	5	71,56 a	1,33 a	95,50 a	59,92 a	2,25 a	2,90 a
	20	49,37 b	0,66 b	32,94 b	64,71 a	2,76 a	1,41 b

Cuadro 3.-Índices utilizados para evaluar la fecundidad y la fertilidad en machos de *N. viridula*. Valores medios correspondientes a un mismo índice, seguidos de la misma letra no difieren significativamente según la prueba del intervalo múltiple de Duncan ($p < 0.05$).

Producto	Dosis (ng/ins)	N.º huevos/puesta	N.º puestas/ins. trat.	N.º huevos/ins. trat.	Viabilidad (%)	Duración cópula (días)	N.º cópulas/ins. trat.
Blanco	–	66,26 b	2,81 a	187,10 ab	67,78 a	2,00 ab	2,07 ab
Testigo	–	67,20 b	2,47 a	167,80 ab	77,10 a	2,16 ab	1,60 bc
Azadiractina	2	69,02 b	2,82 a	194,95 a	62,72 a	2,75 a	2,75 a
	5	82,87 a	1,32 b	110,43 b	73,32 a	2,44 a	0,75 cd
	20	34,50 c	0,50 b	17,86 c	60,30 a	1,50 c	0,32 d

Los resultados correspondientes a los machos tratados se presentan en el Cuadro 3, y en ellos vislumbramos una tendencia parecida a las hembras.

Los datos del Cuadro muestran que los valores de fecundidad (nº huevos/insecto tratado) revelan un descenso considerable desde 195 a 110 y 18 en función de la dosis de azadiractina aplicada. En este parámetro contribuyen por igual tanto las reducciones observadas en nº huevos/puesta como en nº puestas/insecto.

Respecto a los restantes parámetros (duración de la cópula o cópulas/insecto), sólo la dosis superior de azadiractina muestra diferencias significativas con los controles.

Igual a lo que sucedía con las hembras en el parámetro que hemos definido como viabilidad de los huevos, que es una medida de la fertilidad, no parece tener influencia ninguno de los tratamientos. Valores medios de entre 60-80 % de huevos eclosionaron finalmente, sin que se observen diferencias significativas entre las distintas fracciones probadas.

Parece confirmarse pues que la azadiractina llega a influir en la fisiología del sistema reproductor femenino de *N. viridula*, este efecto ya descrito también para otros heterópteros como *Oncopeltus fasciatus*, trabajando con azadiractina a dosis inferiores a 1000 ng (Dorn A. *et al.* 1987). Lo más novedoso sin embargo es su efecto evidente también para machos, bastante menos estudiado en la literatura.

Pruebas de actividad disuasoria de la oviposición

Los resultados de las pruebas de actividad disuasoria de la oviposición se resumen en el Cuadro 4 y en la gráfica de la Figura 2.

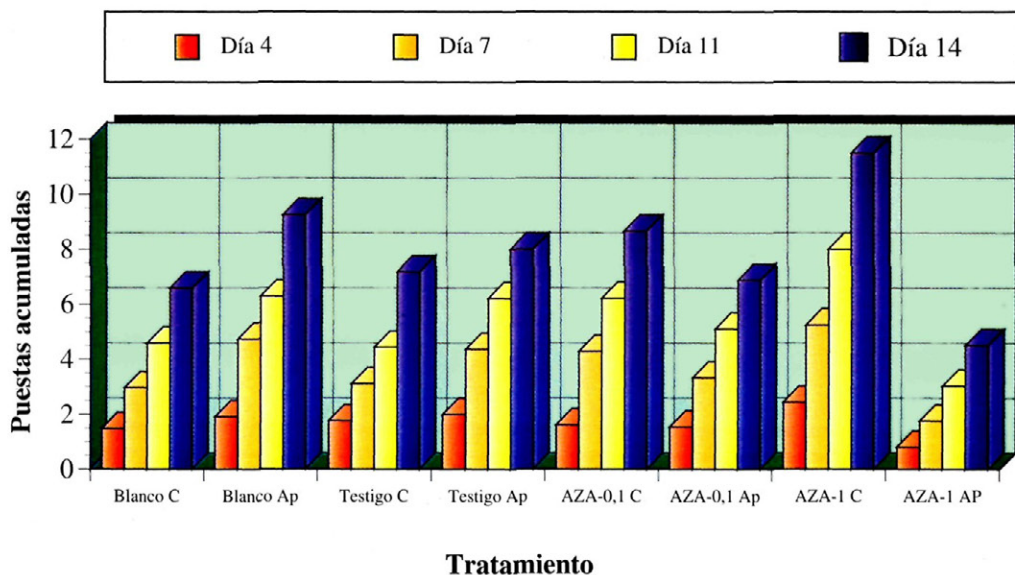
Los valores del parámetro IDO, referidos a los cuatro periodos de estudio, se muestran en el Cuadro. A reseñar la espectacularidad de la actividad mostrada por la azadiractina con la dosis mayor utilizada ($1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), que presenta valores muy altos del índice de inhibición; valores de 0.7, significativamente diferentes de los controles 0.40.

En la Figura 2 se han representado el valor medio de las puestas acumuladas en las tiras de papel de los tratamientos (aplicaciones) y del control, contabilizados durante los cuatro periodos de evaluación, a los 4, 7, 11 y 14 días. Como puede verse la aplicación de la dosis superior de azadiractina ($1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) origina valores de puestas acumuladas inferiores al control en todo el periodo de la experiencia. Este efecto tiene tendencia a repetirse cuando se usa una dosis 10 veces inferior, aunque con resultados bastante menos espectaculares.

Resumiendo parece pues que tratamientos de azadiractina a dosis de $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ producen un claro efecto disuasorio de la oviposición sobre hembras fecundadas de *N. viridula*

Cuadro 4.-Evaluación del nº de puestas periódicas en base al índice IDO = $[N_c / (N_c + N_{Ap})]$. Valores medios correspondientes a un mismo periodo de evaluación, seguidos de la misma letra no difieren significativamente según la prueba del intervalo múltiple de Duncan ($p < 0.05$).

Producto	Dosis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Índice IDO		$N_c / (N_c + N_{Ap})$	
		Período 1	Período 2	Período 3	Período 4
Blanco	0	0,39 b	0,33 c	0,42 b	0,46 c
Testigo	0	0,46 b	0,31 c	0,51 ab	0,53 b
Azadiractina	0,1	0,49 b	0,61 b	0,57 a	0,52 b
	1	0,79 a	0,80 a	0,43 b	0,69 a



Tratamiento

Fig. 2.- Evolución del número de puestas acumuladas en papeles de puesta control y tratado situados en los recintos de oviposición para las distintas aplicaciones consideradas.

CONCLUSIONES

A partir de los datos comentados en el apartado anterior se han establecido las siguientes conclusiones:

1.- La azadiractina muestra un elevado efecto inhibitor de la muda en ninfas de 5º estadio de *N. viridula*. cuando las mismas fueron tratadas tópicamente dentro de las primeras 24 horas posteriores a la muda.

2.- Cuando se aplica azadiractina a

dosis subletales sobre ninfas de 5º estadio aparecen hembras aparentemente normales, pero se pone de manifiesto un efecto reductor de la fecundidad de las mismas. Este mismo efecto se evidencia en machos procedentes de ninfas tratadas a las mismas dosis.

3.- Dosis del orden de $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ modifican la conducta de oviposición de las hembras fecundadas de *N. viridula*, mostrando un claro efecto disuasor.

ABSTRACT

RIBA, M. Y S. MARTÍ, 1996: Actividad biológica de la azadiractina sobre *Nezara viridula* (L.). *Bol. San. Veg. Plagas*, 22 (1): 169-177.

The potential of azadirachtin as insect growth regulator has been evaluated by applying several doses of the product on 5 th. instar nymphs *Nezara viridula*. Fertility and fecundity of adults, males and females, proceeding from nymphs treated at several lower doses of the product were also studied.

At a dose of 200 ng/insect a percent of mortality higher than 85% was obtained during the molt, and all the adults had got a great number of nymph characteristics and died very soon. At the lower tested doses, from 50 to 2 ng/insect, more than 50% of adults looked normally. No effect on the last nymph instar lasting was observed, even at the highest applied dose.

A clear reduction effect on the fertility of males and females were found at a dose of 5 ng/insect. The number of eggs/treated insect were significantly lower than the controls.

Finally azadirachtin used at a dose of 1 µg/cm² on the oviposition area, showed an important disruption in the egg lying behavior of the gravid females.

Key Words: azadirachtin, *Nezara viridula*, growth regulator.

REFERENCIAS

- BUTTERWORTH J.H., MORGAN E.D AND PERCY G.R. (1972). The structure of azadirachtin, the functional groups. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 2445-2450.
- DORN A. RADEMACHER J.M. AND SEHN E. (1987). Effects of azadirachtin on reproductive organs and fertility in the large milkweed bug. pp: 273-288. En Schmutterer and Aschner (1987).
- HARRIS V.E. AND TODD J.W. (1981). Rearing the southern green stink bug, *Nezara viridula*, with relevant aspects of its biology. *J. Georgia Entomol. Soc.* 16 (2): 203-210.
- HASSANALI A. AND BENTLEY M.D. (1987). Comparison of the insect antifeedant activities of some limonoids. pp. 683-690. En Schmutterer and Ascher (1987).
- JACOBSON M. (1988). *Focus on phytochemical pesticides*. Vol. 1. The Neem Tree. CRC Press. Boca Raton-Florida (USA).
- LARSON R.O. (1987). Development of Margosan-O, a pesticide from neem seed. pp: 243-253. En Schmutterer y Ascher, (1987).
- LEUSCHNER K. (1972). Effect of an unknown plant substance on a shield bug. *Naturwissenschaften* 59: 217-218.
- RADWNASKI S.A. Y WICKENS G.E. (1981). Vegetative fallows and potential use of the neem tree (*Azadirachta indica*) in the tropics. *Econ. Bot.* 35: 398-414.
- REMBOLD H., FORSTER H., CZOPPELT CH. RAO P.J. AND SIEBER K.P. (1984). The azadirachtins, a group of insect growth regulators from the neem tree. En Schmutterer and Ascher (1984).
- REMBOLD H. (1989). Azadirachtins: Their structure and mode of action. En *Insecticides of plant origin* pp. 572. Arason J.T, Philogene B.J.R. and Morand P. (Eds). Amer. Chem. Soc. (ACS Symp. Ser. 387).
- SCHMUTTERER H. (1981). Some properties of components of the neem tree (*Azadirachta indica*) and their use in pest control in developing countries. Meded. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 46: 39-47.
- SCHMUTTERER H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- SCHMUTTERER H. , ASCHER K.R.S. Y REMBOLD H. (Eds) (1981). Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). Proc. 1st Int. Neem Conf. German Agency for Thechnical Cooperation. Eschborn (Federal Republic of Germany).
- SCHMUTTERER H. Y ASCHER K.R.S. (Eds) (1984 y 1987). Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proc. 2on and 3rd Int. Neem Confs. German Agency for Thechnical Cooperation. Eschborn (Federal Republic of Germany).

(Aceptado para su publicación: 12 febrero 1996)