

Extractos de neem en el comportamiento de *Aphis nerii* y la transmisión del virus de la mancha anular del papayo^{1,2}

Elías Hernández-Castro³, Víctor Utrera-Landa³,
Juan A. Villanueva-Jiménez^{3,4}, Daniel A. Rodríguez-Lagunes⁵
y Mario M. Ojeda-Ramírez⁶

J. Agric. Univ. P.R. 89(1-2):75-84 (2005)

RESUMEN

Se determinó el efecto de extractos de neem en el comportamiento de alimentación y la transmisión del Virus de la Mancha Anular del Papayo (PRSV-p) por *Aphis nerii*. Se evaluó un extracto acuoso al 10% de semillas de neem sin escarificar, y un testigo con agua, asperjados en plantas de papayo en el laboratorio. El comportamiento de alimentación del áfido se estudió en dos fases: exploratoria (0 hasta 3 min) y de alimentación (>3 hasta 20 min). Se determinó la mortalidad de áfidos a las 24 h. El análisis de la transmisión del virus se realizó con base en pruebas de ELISA. No se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto al comportamiento de alimentación para la fase exploratoria, lo que indica que el neem no afecta la búsqueda y el probado inicial del áfido sobre la planta. En cambio, un número significativamente mayor de áfidos ($p < 0.05$) dejó de alimentarse en la fase >3 hasta 20 min. Además, la mortalidad de áfidos es mayor ($p < 0.05$) en el tratamiento con plantas asperjadas con neem (37% vs. 10%). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la transmisión del PRSV-p por *Aphis nerii*, lo que indica que los extractos acuosos de semillas de neem no impiden la transmisión del virus.

Palabras clave: *Azadirachta indica*, transmisión viral, VMAP, virus no persistente

ABSTRACT

Neem extracts on *Aphis nerii* behavior and papaya ringspot virus transmission

The effect of neem extracts on feeding behavior of *Aphis nerii*, as well as Papaya Ringspot Virus (PRSV-p) transmission, was determined. We evaluated papaya seedlings sprayed under laboratory conditions with a 10% aqueous extract of unpeeled neem seed and with a water control. Two time

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 12 de junio de 2003.

²Financiado por el CONACYT-México: G33672-B. Se agradece a Alberto Pantoja, UPR, y Juan Cibrián-Tovar, C.P., por revisar el manuscrito.

³Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados, Apdo. Postal 421, C.P. 91700, Veracruz, Ver., México. Tel. (52) (229) 934-9485. Fax: (52) (229) 934-9100.

⁴Resp. publicación. javj@colpos.mx.

⁵Fac. C. Biol. y Agropec., U. Veracruzana, Córdoba, Ver., México. darola@correoweb.com.

⁶Fac. Estadística e Informática, U. Veracruzana, Apdo. Postal 475, Xalapa, Ver., México.

periods, exploratory (0 to 3 min) and feeding (>3 to 20 min), were used to evaluate aphid feeding behavior. Aphid mortality was determined 24 h after spraying. Viral transmission was measured by ELISA tests. No significant differences ($p > 0.05$) were obtained in the exploratory feeding behavior. However, significantly more aphids ($p < 0.05$) stopped feeding on neem-sprayed plants from the >3 to 20 min period. Also, higher ($p < 0.05$) aphid mortality (37% vs. 10%) was found in neem-sprayed plants. However, no significant differences ($p > 0.05$) were found in PRSV-p transmission, thus indicating that neem seed aqueous extracts did not prevent viral transmission.

Key words: *Azadirachta indica*, viral transmission, PRSV-p, non-persistent virus

INTRODUCCIÓN

En México se cultivan 20,780 ha de papayo, de las cuales aproximadamente 6,000 ha se siembran en el Estado de Veracruz (INEGI-CP, 1998). El principal limitante del cultivo en este país es la enfermedad producida por el virus de la mancha anular del papayo (PRSV-p), que ocasiona pérdidas que van desde un 10% y pueden alcanzar el 100% si los ataques son en los primeros meses de crecimiento vegetativo (De León y Becerra, 1991). La enfermedad se puede localizar en todas las zonas agrícolas donde se produce papayo en México y en varios países tropicales de América. Esta enfermedad viral limita la productividad y longevidad del cultivo, que ha pasado de un sistema productivo multi-anual a uno anual, con los consecuentes incrementos en costos de producción y riesgo de pérdidas (De los Santos et al., 2000). El PRSV-p es transmitido de manera no persistente por varias especies de áfidos (Homoptera: Aphididae), como *Myzus persicae* Sulzer, *Aphis gossypii* Glover, *A. fabae* Scopoli, *A. spiraecola* Patch, *A. nerii* Boyer de Fonscolombe, y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (García et al., 1988). En Veracruz se han reportado a *Aphis gossypii* y *A. nerii* en relaciones epidemiológicas significativas con la mancha anular del papayo (Mora et al., 1992; GIP, 1995). Ambas especies presentan alta eficiencia de transmisión del PRSV-p, siendo en el caso de *A. nerii* de 83 a 88% (Célis et al., 2002; García et al., 1988; Villanueva y Villanueva-Jiménez, 1994; Mora et al., 1992).

Desde 1990, el Grupo Interdisciplinario de Papayo (GIP), del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas en México, ha venido desarrollando una estrategia de manejo integrado del cultivo de papayo (MIP) con énfasis en esta enfermedad viral. El GIP investiga tácticas de manejo novedosas o ampliamente probadas, que al integrarse retrasen la incidencia y disminuyan la severidad de la enfermedad, con aumentos en la producción y productividad del cultivo (GIP, 1992; 1995). Algunas de las prácticas validadas incluyen la protección del semillero con una malla antiáfido o de polipropileno, mayores densidades de siembra (2,800 plantas por hectárea), eliminación de plantas con

síntomas iniciales del PRSV-p hasta el inicio de la fructificación, establecimiento de barreras que limpian el estilete del áfido vector [con maíz—*Zea mays* (L.), y jamaica o sorrel—*Hibiscus sabdariffa* L.), aplicación de emulsiones de aceite mineral (citrolina) al 1.8% para el mismo fin, así como una adecuada fertilización y control de malezas para mantener la sanidad y nutrición óptima del cultivo (GIP, 1992, 1995).

Entre las tácticas de manejo ensayadas, tanto en investigación como por algunos productores, el uso de plaguicidas disponibles de manera comercial no ha logrado el control eficiente de la enfermedad viral a través de afectar a sus vectores (De los Santos et al., 2000). La investigación en el área de viricidas aún se encuentra en etapa de investigación básica para humanos (Ooi et al., 2004; Armaka et al., 1999), por lo que no se espera contar con viricidas agrícolas de manera comercial en los próximos años. Sin embargo, la búsqueda de nuevas moléculas insecticidas para el manejo de vectores sigue siendo atractiva, debido a su facilidad de aplicación e implicaciones comerciales para usuarios y fabricantes potenciales. Además, la tendencia actual es hacia la sustitución de los productos organo-sintéticos en la agricultura por aquellos de origen natural (Boeke et al., 2004; George et al., 2000). En 1998, el GIP consideró necesario explorar la aplicación de algún insecticida botánico para el posible manejo del complejo de vectores en campo dentro del manejo integrado del papayo en Veracruz, México (Pérez et al., 2000). Se seleccionó al neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) por tener efectos repelentes y antialimentarios contra áfidos y, en general, por regular la fecundidad y la oviposición de insectos (Holmes y Hassan, 1996). Brechelt y Fernández (1995) reportan que al realizar aplicaciones de extractos acuosos de neem al 5% lograron controlar a *A. gossypii*, *Lypaphis erysimi* (Kaltenbach), *Brevicoryne brassicae* (L.) y *Aphis* (*op. cit.*) *maidis* (Fitch) en los cultivos de chile (*Capsicum annuum* L.), sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad.), pepino (*Cucurbita pepo* L.), coliflor (*Brassica* spp.) y maíz [*Zea mays* (L.)] en la República Dominicana.

En Veracruz, México, Pérez et al. (2000) evaluaron en el campo extractos acuosos de semilla escarificada de neem al 2.5% y 5%, y un testigo en el cultivo de papayo bajo la propuesta MIP. Los resultados no mostraron diferencias significativas en la disminución de la incidencia de la enfermedad. Este trabajo creó varias interrogantes en cuanto al potencial del neem como repelente de la alimentación de áfidos vectores, como aficida y como agente preventivo de la infección del PRSV-p. Estas interrogantes requerían contestarse con estudios de laboratorio, por lo que se decidió utilizar una especie vectora de importancia, como *Aphis nerii* (Mora et al., 1992), que sirviera de modelo para revisar el efecto en laboratorio de este producto natural en la interferencia de la relación virus-vector.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar en el laboratorio el efecto de los residuos de semillas de neem, aplicados a plantas de papayo, sobre el comportamiento de alimentación de *Aphis nerii*. Además, se estudió su relación con la transmisión del PRSV-p.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Protección de Agroecosistemas del Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados. Se utilizaron hembras partenogenéticas adultas ápteras de *Aphis nerii*, criadas en jaulas entomológicas sobre plantas provenientes de semillas de su hospedera silvestre, asclepia (*Asclepias curassavica* L.). La cría del áfido se realizó en un invernadero rústico a temperatura ambiente, con promedio anual de 27.8°C, humedad relativa entre 60 y 100%, y un régimen de fotoperiodo natural entre 10 y 14 h de luz. Se sembraron semanalmente semillas de papayo cv. Maradol roja en vasos térmicos de unicel de 150 ml, durante los meses de agosto, septiembre y octubre de 1999.

El experimento se dividió en dos etapas, en la primera se observó el comportamiento y la mortalidad de los áfidos, y en la segunda se evaluó la transmisión del PRSV-p; en ambos casos con la presencia del tratamiento de residuos frescos de extractos acuosos de neem.

Tratamientos. Se evaluaron como tratamiento: a) el extracto acuoso (10%) de semilla de neem sin escarificar, y b) plantas asperjadas con agua potable, como testigo. La solución del extracto acuoso se preparó 24 h antes de la aplicación, y se dejó bajo sombra a temperatura ambiental hasta su aplicación. Se utilizaron 25 g de semilla de neem con cáscara en 250 ml de agua para obtener una concentración de extracto acuoso al 10%, equivalente a 5% de semilla escarificada. Cada aplicación a las plantas se realizó una hora antes de iniciar las observaciones. Se emuló una aspersión comercial mediante un atomizador manual, aplicando cinco veces a la planta hasta el punto de goteo, por el haz y el envés de todas las hojas. El tratamiento testigo fue asperjado de igual forma con agua. Se utilizaron plantas de papayo con 12 hasta 15 hojas verdaderas.

Comportamiento de Aphis nerii a los extractos acuosos de semillas de neem

Se seleccionaron suficientes áfidos adultos ápteros de la colonia alimentada con asclepia, y se pasaron a una placa petri para un periodo de ayuno de dos horas. Posteriormente se seleccionaron tres áfidos, los cuales fueron transferidos mediante un pincel a cada una de las plantas de papayo asperjadas con cada uno de los tratamientos. Estos insectos se observaron detenidamente por un periodo total de 20 min, a fin de determinar la reacción de comportamiento de los áfidos que se

describe más adelante. Posteriormente, los adultos se confinaron en la planta por 24 h dentro de tubos de acrílico transparente de 16 cm de diámetro y 40 cm de altura, sellados con malla de tela. Al final del periodo de 24 h, se registró la mortalidad de los áfidos en ambos tratamientos. Cada prueba se repitió 39 veces para cada tratamiento, con tres áfidos por planta cada uno.

El periodo de 20 min de observación del comportamiento se dividió en dos fases: la exploratoria que duró los primeros 3 min (0 hasta 3 min), y la de alimentación que consumió el resto del periodo de observación (>3 hasta 20 min). La primera fase se designó como exploratoria debido a que los áfidos son chupadores, y al posarse sobre una planta primero realizan inserciones de su estilete de corta duración; las picaduras de prueba pueden, en ciertos casos, conducir al insecto a aceptar o rechazar la planta (Acosta, 1989). En la etapa exploratoria es cuando se realiza la mayor proporción de transmisiones de virus no persistentes (Urias-M. y Alejandre-A., 1999). Esta etapa se dividió en cuatro criterios de comportamiento basados en observaciones preliminares: *Exploratorio sin alimentarse* (ESA), cuando durante los primeros tres minutos el insecto exploraba la planta pero no realizaba ningún intento de probado; *Exploratorio arrastrando el estilete* (EAE), cuando el insecto hizo movimientos táctiles con el estilete sobre la superficie de la hoja, sin llegar a insertarlo; *Exploratorio interrumpido* (EI), cuando el insecto hizo movimientos de exploración sobre la hoja, insertando brevemente el estilete en varias ocasiones, sin establecerse en algún sitio para su alimentación; y *Alimentación durante los tres minutos iniciales* (A3), cuando insertó el estilete desde el inicio de la prueba y durante los tres minutos de la fase exploratoria.

La segunda fase se denominó de alimentación, ya que durante este tiempo el áfido decide utilizar la planta para su alimentación. Esta etapa se dividió en tres criterios de comportamiento basados en observaciones preliminares: *Alimentación definitiva* (A20), cuando el áfido permaneció con el estilete dentro de la planta entre el minuto 3 y el minuto 20 de la prueba; *Alimentación interrumpida durante la prueba* (AIDP), cuando el insecto insertó el estilete para alimentarse, pero dejó de hacerlo pasado algún tiempo; y *Sin alimentarse* (SA), cuando el insecto no hizo el menor intento de alimentarse durante la segunda fase.

Prueba de la transmisión del PRSV-p

La cría de áfidos, el periodo de ayuno de los áfidos y la aspersión de los tratamientos se realizaron de la misma manera que para la prueba de comportamiento. Para realizar la prueba de transmisión se obtuvieron plantas de papayo con síntomas característicos del PRSV-p, que

dieron positivas en una prueba de inmunoabsorbancia con enzimas conjugadas (ELISA) con un kit para PRSV-p (AGDIA, Inc., USA)⁷.

Para esta prueba se utilizaron 70 plantas de papayo, 35 para el tratamiento de neem y 35 para el testigo. La prueba de transmisión del virus se realizó con 10 áfidos por planta. Los áfidos ayunados se pasaron con un pincel a las hojas de papayo enfermas, de dos a cinco meses de edad, permitiendo un tiempo estimado de alimentación suficiente para la adquisición del virus, de 35 hasta 55 segundos. Luego los insectos se pasaron a plantas sanas de dos meses de edad, asperjadas con los tratamientos, donde se confinaron por 24 h (tiempo de inoculación).

A las 24 h los insectos supervivientes se removieron con un pincel. Las plantas inoculadas se confinaron en jaulas entomológicas de PVC (altura 0.8 m, profundidad 0.8 y ancho 1.0 m) cubiertas con tela de organdí, y se observaron al término de 60 días para determinar la presencia de síntomas virales. Además, al final de este periodo se realizó una prueba de ELISA para determinar la presencia del virus en cada una de las plantas inoculadas; para ello se seleccionó la tercera hoja de cada planta. Las hojas seleccionadas se etiquetaron y se colocaron en bolsas de plástico selladas individualmente, posteriormente se colocaron en un termo con hielo gel azul para mantenerlas frescas hasta su análisis al día siguiente. Para la prueba de ELISA (Téliz y Mora, 1986) se utilizó un kit con antisuero de PRSV-p (AGDIA, Inc., USA).

Análisis de resultados

Los resultados del ensayo de comportamiento y los de la prueba de ELISA se analizaron mediante χ^2 para homogeneidad de los tratamientos, considerando los datos de frecuencias (Ramírez y López, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de Aphis nerii a residuos de neem

La Figura 1 muestra el porcentaje de áfidos que respondieron a cada uno de los criterios en las dos fases de comportamiento evaluadas. Gráficamente, para el tratamiento con neem al 10%, tanto el comportamiento *Exploratorio sin alimentarse* (ESA) como el *Exploratorio arrastrando el estilete* (EAE) obtuvieron los valores porcentuales más altos, a diferencia del *Exploratorio interrumpido* (EI) y el de *Alimentación durante los tres minutos iniciales* (A3); los mayores porcentajes correspondieron al tratamiento testigo. Sin embargo, la prueba no

⁷Las marcas registradas sólo se usan para proveer información específica y su uso no constituye garantía ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

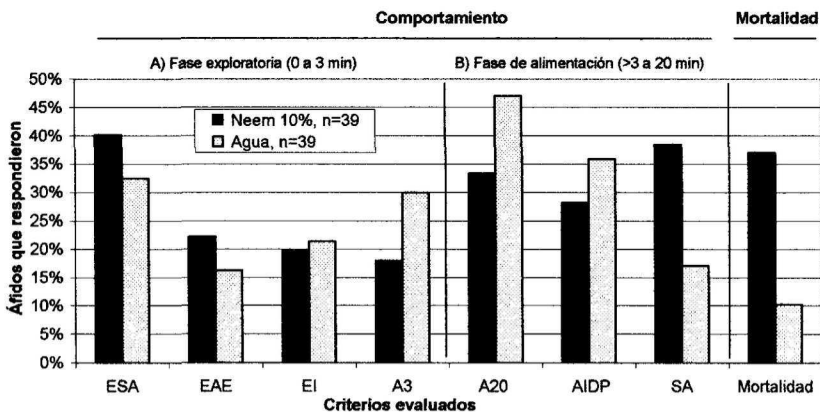


FIGURA 1. Efecto de residuos acuosos de neem, asperjados en plantas de papayo, en el comportamiento de alimentación de áfidos ápteros (*Aphis nerii*), durante dos fases de observación, y mortalidad de los áfidos a las 24 h. Fase Exploratoria (0 a 3 min): ESA = Exploratorio sin alimentarse, EAE = Exploratorio arrastrando el estilete, EI = Exploratorio interrumpido, A3 = Alimentación durante los tres minutos iniciales. Fase de Alimentación (>3 a 20 min): A20 = Alimentación definitiva, AIDP = Alimentación interrumpida durante la prueba, SA = Sin alimentarse (mayor explicación en materiales y métodos). Cada tratamiento con 39 repeticiones, tres áfidos adultos ápteros por repetición.

paramétrica para la fase de comportamiento de 0 a 3 min, en sus cuatro criterios de comportamiento, no presenta diferencias significativas ($p > 0.05$), por lo tanto, el comportamiento en esta primera fase se considera independiente del tratamiento aplicado.

En un ensayo en el campo con papayo Maradol roja, Pérez et al. (2000) no encontraron disminución de la incidencia de la enfermedad después de aplicar extractos acuosos de semilla con cáscara de neem al 2.5% y 5%. Estos resultados sugieren que a pesar de la aplicación del extracto acuoso (desde 2.5 hasta 10%, en campo o laboratorio), es probable que los áfidos inserten el estilete en el probado inicial el tiempo suficiente para permitir la transmisión del virus. La transmisión del PRSV-p es no persistente, lo que ayuda a explicar la ineffectividad de los extractos acuosos de semilla de neem para evitar que los áfidos piquen y reduzcan la incidencia viral.

El comportamiento de los áfidos en la segunda fase de observación es diferente, ya que tanto los porcentajes del comportamiento de *Alimentación definitiva* (A20) a los 20 min y los de *Alimentación interrumpida durante la prueba* (AIDP) fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) en el testigo; así como el porcentaje del comportamiento *Sin alimentarse* (SA) fue más alto en el tratamiento aplicado con neem 10%. Estos resultados indican que en la etapa de alimenta-

ción posterior a los tres primeros minutos, el comportamiento es dependiente del tratamiento aplicado; la aplicación del neem ocasiona una reacción de repelencia en la alimentación de los áfidos.

Estos resultados podrían ser prometedores en cultivos donde los áfidos colonizan al cultivo, o para enfermedades virales de tipo persistente o semipersistente, ya que el neem podría disminuir la actividad de alimentación sobre el hospedero en periodos de tiempo mayores a tres minutos (Brechelt y Fernández, 1995). Sin embargo, éste no es el caso en el cultivo de papayo, ya que los áfidos no colonizan y el virus es no persistente, por lo que el neem no reduce la incidencia del PRSV-p.

Además, se observó un porcentaje significativamente mayor ($p < 0.05$) de áfidos muertos (37%) en el tratamiento con neem al 10%, comparado con el porcentaje de áfidos muertos observado en el testigo (10%). Se puede inferir, por lo tanto, que la aplicación de neem incrementa la mortalidad de los áfidos. Holmes y Hassan (1996) evaluaron extractos acuosos al 18% de semilla de neem en rosales para controlar a *M. persicae*, y observaron un control total a las 24 h después de aplicado el producto. Schumutter (1990) menciona que, bajo condiciones de laboratorio, altas concentraciones de extractos de semilla de neem, aplicados sobre *Vicia faba*, causan mortalidad en *Acyrtosiphon pisum* y en *A. fabae*. Además, el neem afecta el desarrollo y fecundidad de estos homópteros. A pesar de haber obtenido mortalidad de áfidos en las pruebas de laboratorio con papayo, no es posible asegurar la inhibición de la transmisión del PRSV-p, además de ser el papayo una planta que estos insectos no colonizan.

Prueba de transmisión viral

Los resultados obtenidos en la prueba de ELISA se muestran en la Figura 2. El análisis estadístico indicó que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) en la transmisión del PRSV-p entre los tratamientos evaluados.

En la prueba de comportamiento de alimentación de *A. nerii* se observó que, a pesar de la aplicación del extracto acuoso de semillas de neem al 10%, los áfidos realizaron el probado inicial de las hojas de papayo, por lo que es posible que al llevar el virus en su estilete la transmisión del PRSV-p no se haya prevenido. Estos resultados corroboran lo encontrado por Pérez et al. (2000), quienes no encontraron diferencias estadísticas en cuanto a la incidencia y severidad del PRSV-p con las dosis de extractos acuosos de semillas de neem evaluadas en el campo. Lo anterior también se confirma con la ausencia de diferencias en el probado inicial de *A. nerii* sobre plantas de papayo con y sin residuos de neem en este ensayo (Figura 1).

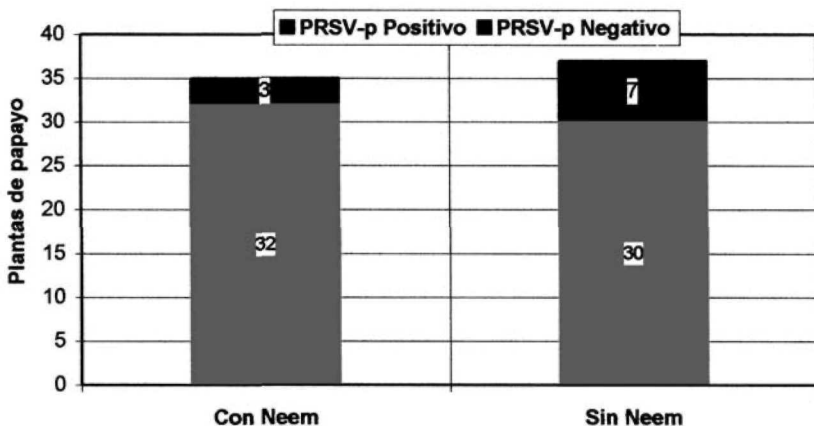


FIGURA 2. Plantas de papayo detectadas con reacción positiva y negativa al virus PRSV-p en pruebas de ELISA, luego de ser asperjadas con extractos acuosos de neem, y posteriormente sometidas a la transmisión del virus por el áfido vector *Aphis nerii*.

Los extractos acuosos al 10% de semillas de neem con cáscara aplicados sobre plantas de papayo no disminuyen la transmisión del virus de la mancha anular de papayo, ya que la transmisión de este virus es del tipo no persistente y basta unos segundos para que la infección ocurra. Sin embargo, los extractos de neem al 10% sí influyen en el comportamiento de alimentación del áfido en tiempos de tres hasta 20 min. Inclusive, los extractos acuosos ocasionan una mortalidad significativa de áfidos a las 24 h. Esta respuesta a los extractos acuosos puede ser de utilidad en la prevención de la transmisión de virus semipersistentes o persistentes, o en el control del áfido como plaga directa en otros cultivos.

LITERATURA CITADA

Acosta-L., R., 1989. Mecanismos de transmisión de virus por insectos. *En: Ecología de Insectos Vectores de Virus en Plantas Cultivadas*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 7-14.

Armaka, M., E. Papanikolaou, A. Sivropoulou y M. Arsenakis, 1999. Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res.* 43:79-92.

Boeke, S. J., I. R. Baumgart, J. J. A. van Loon, A. van Huis, M. Dicke y D.K. Kossou, 2004. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. *J. Stored Products Res.* 40:423-438.

Brechelt, A. y L. Fernández-C., 1995. El Nim un Árbol para la Agricultura y el Medio Ambiente. Experiencias en la República Dominicana. Fundación Agricultura y Medio Ambiente, Instituto Politécnico Loyola, San Cristóbal, República Dominicana. 133 pp.

Célis-L., B., F. Osorio-A. y J. A. Villanueva-Jiménez, 2002. Transmisión del virus de la mancha anular del papayo mediante adultos alados y ápteros de *Aphis nerii* en laborato-

- rio. *En: 15ª Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria*, Veracruz 2002. CIRGOC-INIFAP-SAGAR. Octubre 24-25. Veracruz, Méx. Memoria en CD. 2 pp.
- De León-M., J. R. y E. N. Becerra-L., 1991. Estudio y control de la virosis en papayo. *En: Cuarta Reunión Científica del Sector Agropecuario y Forestal del Estado de Veracruz*. Publicación Especial No 8. CIFAP-Veracruz. SARH-INIFAP. Ver. México. pp. 54-60.
- De los Santos-De la R., F., E. N. Becerra-L., R. Mosqueda-V., A. Vázquez-H. y A. B. García-V., 2000. Manual de Producción de Papaya en el Estado de Veracruz. Folleto Técnico Núm. 17, División Agrícola INIFAP-SAGAR- FVP. Veracruz, Méx. 86 pp.
- García-G., B., J. Villanueva-B. y N. Becerra-L., 1988. Pruebas de transmisión por áfidos. *En: Memoria 1a Reunión Científica Forestal y Agropecuaria del Estado de Veracruz*. SARH-INIFAP-CIFAP-VER. Veracruz, Ver, México. pp. 88-89.
- George, J., H. P. Bais y G. A. Ravishankar, 2000. Biotechnological Production of Plant-Based Insecticides. *Critical Reviews in Biotechnology* 20:49-77.
- GIP (Grupo Interdisciplinario del cultivo de papayo: Arenas, L., C. Avila, E. Cárdenas, J. Etchévers, C. Flores, E. García, V. González, L. Matheis, A. Mora, G. Mora, A. Nieto, D. Riestra, D. Téliz, J. Velázquez y J. Villanueva), 1992. La virosis del papayo en Veracruz: etiología y control. 355 pp. *En: Memoria 5ta Reunión Científica del Sector Agropecuario y Forestal del Estado de Veracruz*. SARH-INIFAP-CIFAP-VER. Veracruz, Ver. Méx.
- GIP (Grupo Interdisciplinario del Papayo: C. Flores-R., E. García, D. Nieto, D. Téliz y J. A. Villanueva), 1995. Integrated management of papaya in México. *Acta Horticulturae* 370:151-158.
- Holmes, M. S. y E. Hassan, 1996. The contact, systemic and repellent action of neem seed extract against green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). 5th International Neem Conference. Gattton, Australia. 45 pp.
- INEGI-CP, 1998. Recursos Agrícolas del Trópico y Subtrópico Mexicano. Instituto de Estadística Geografía e Informática-Colegio de Postgraduados. México, D.F. p. 174.
- Mora-A., G., D. Téliz, L. C. Campbell y C. Ávila, 1992. Temporal and spatial development of ringspot in Veracruz, México. *J. Phytopathology* 136:27-36.
- Ooi, L. S. M., H. Wang, C. W. Luk y V. E. C. Ooi, 2004. Anticancer and antiviral activities of *Youngia japonica* (L.) DC (Asteraceae, Compositae). *J. Ethnopharmacology* 94:117-122.
- Pérez-M., J. E., D. Riestra-D., R. Mosqueda-V., D. A. Rodríguez-L., J. A. Villanueva-Jiménez, E. García-P. y E. Hernández-C., 2000. Extractos acuosos de semilla de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) en el manejo integrado del papayo (*Carica papaya*). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6:81-89.
- Ramírez-G., M. E. y Q. López-T., 1993. Métodos Estadísticos No Paramétricos. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Méx. 223 pp.
- Schumutter, H., 1990. Properties and potencial of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Ann. Rev. Entomol.* 35:271-97.
- Téliz-O., D. y G. Mora-A., 1986. Inmunoabsorbancia con enzimas conjugadas. *Rev. Mex. Fitopatología* 4:133-141.
- Urias-M., C. y T. Alejandre-A., 1999. Los virus y su impacto en la producción agrícola. *En: Hortalizas: Plagas y Enfermedades*. Ed. Trillas. México. pp. 92-107.
- Villanueva-B., J. y J. A. Villanueva-Jiménez, 1994. Transmisibilidad del virus de la mancha anular del papayo entre hospedantes por medio de áfidos. *En: XXIX Congreso Nacional de Entomología*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México. pp. 142-143.