

EFFECTOS TOXICOLÓGICOS DE EXTRACTOS DE MOLLE (*Schinus molle*) Y LANTANA (*Lantana camara*) SOBRE *Chrysoperla externa* (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE), *Trichogramma pinto* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) Y *Copidosoma koehleri* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) EN EL PERÚ¹

Toxicological effects of extracts of Peruvian peppertree (*Schinus molle*) and lantana (*Lantana camara*) on *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pinto* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Perú¹

José Iannacone O.² *, Gerardo Lamas M.³

A B S T R A C T

Extracts of two plants, lantana (*Lantana camara* L., Verbenaceae) and the Peruvian peppertree (*Schinus molle* L., Anacardiaceae), were evaluated on eggs, first stage larvae and pupae of *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), and on the immature and adult phases of the microhymenopterans *Trichogramma pinto* Voegelé (Trichogrammatidae) and *Copidosoma koehleri* Blanchard (Encyrtidae) in toxicological bioassays under laboratory conditions. At the concentrations applied, aqueous extracts (F₁) of lantana and Peruvian peppertree caused no significant effects on larval (residual assay) and pupal (dip assay) mortality of *C. externa*, but the egg hatching rate (dip assay) was affected by hexanic extract (F₂; 10%) of lantana and Peruvian peppertree, and by acetonic extract (F₃; 10%) of lantana leaves. Adults of *T. pinto* were susceptible to almost all fractions in residual contact trials; adults of *C. koehleri* were affected by F₁ Peruvian peppertree and F₃ lantana. Emergence of both parasitoids was significantly affected by F₂ lantana and Peruvian peppertree, and by F₃ lantana in comparison to the control (distilled water). The most intense effects among the three insects assayed were produced by F₂ and F₃ lantana fractions. *T. pinto* was slightly more sensitive to botanical extracts in comparison with *C. koehleri*. The possibility of using these botanical insecticides in an Integrated Pest Management program is discussed.

Key words: botanical insecticides, beneficial insects, natural enemies, *Lantana camara*, *Schinus molle*.

R E S U M E N

Extractos de dos plantas; la lantana (*Lantana camara* L., Verbenaceae) y el molle (*Schinus molle* L., Anacardiaceae), se evaluaron sobre huevos, larvas de primer estadio y pupas de *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), y sobre estados inmaduros y adultos de los microhimenopteros *Trichogramma pinto* Voegelé (Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* Blanchard (Encyrtidae), en bioensayos toxicológicos bajo condiciones de laboratorio. Los extractos acuosos (F₁) del molle y la lantana a las concentraciones aplicadas no causaron efectos significativos en la mortalidad de las larvas (ensayo de residualidad) y pupas (ensayo de inmersión) de *C. externa*, pero los extractos hexánicos (F₂; 10%) de molle y lantana, y el acetónico (F₃; 10%) de lantana tuvieron efectos ovicidas por inmersión. Los adultos de *T. pinto* fueron sensibles a casi todas las fracciones en ensayos de contacto-residualidad y los adultos de *C. koehleri* fueron sensibles al F₁ de molle y a la F₃ de lantana. La emergencia de ambas microavispa fue afectada principalmente por el F₂ de molle y de lantana, y por el F₃ de lantana en comparación con el control (agua destilada). Las fracciones F₂ y F₃ de lantana causaron los mayores efectos en los tres insectos. *T. pinto* fue ligeramente más sensible a los extractos botánicos en comparación con *C. koehleri*. Se discute la posibilidad de uso de estos insecticidas botánicos en programas de Manejo Integrado de Plagas.

Palabras clave: insecticidas botánicos, insectos benéficos, enemigos naturales, *Lantana camara*, *Schinus molle*.

¹ Recepción de originales: 30 de octubre de 2002.

² Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Lima, Perú.
E-mail: joselorena@terra.com, *Autor para correspondencia.

³ Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado 14-0434, Lima, Perú.
E-mail: glamasm@unmsm.edu.pe

INTRODUCCIÓN

El molle, *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), es una planta con actividad antifúngica y antimicrobiana principalmente en las hojas (Gundidza, 1993). Además, tiene importancia etnobotánica, pues se la ha utilizado en el control de plagas agrícolas en varias localidades del Perú (Rodríguez y Egúsqiza, 1996); estos autores evaluaron el efecto insecticida sobre la mortalidad larval de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* Zeller.

Los extractos de las flores de lantana, *Lantana camara* L. (Verbenaceae), presenta actividades repelentes contra mosquitos *Aedes* (Diptera: Culicidae) (Dua *et al.*, 1996). Además se han detectado propiedades antimaláricas en extractos de sus raíces (Weenen *et al.*, 1990). Varios autores han revisado los efectos foliares tóxicos de *L. camara*, entre ellos sus propiedades insecticidas (Reátegui y Peruano, 1999; Sharma *et al.*, 2000). Esta especie es considerada tanto ornamental en cercos de jardines urbanos, como una maleza (Ghuisaberti, 2000). Reátegui y Peruano (1999), y Gomero (2000) evaluaron el efecto insecticida y repelente de *L. camara* sobre la polilla de la papa.

Las larvas y adultos de *Chrysoperla externa* Hagen son depredadores muy voraces de huevos y larvas de lepidópteros y predominan en varios cultivos agrícolas en el Perú (Núñez, 1988a, 1998; Iannacone y Reyes, 2001; Iannacone y Murrugarra, 2002). *C. externa* tiene amplia distribución en este país, con presencia de adultos a través de todo el año, fácil crianza en cautiverio, potencial para adaptarse a varios ambientes de cultivos y aparente resistencia a numerosos plaguicidas (Núñez, 1988a; Fernández, 2000).

Trichogramma pintoi Voegelé es una especie introducida en el Perú en 1973, y actualmente está naturalizada en diversas zonas agroecológicas del país (Whu y Valdivieso, 1999). Esta especie es un eficiente controlador de huevos de varias especies de lepidópteros considerados plagas agrícolas (Whu, 1985; Fuentes, 1994; Whu y Valdivieso, 1999).

Copidosoma koehleri Blanchard es un parasitoide nativo de Sudamérica que actúa especialmente sobre huevecillos del complejo de polillas de la papa (Ramán *et al.*, 1993).

Estos tres insectos benéficos son criados en forma intensiva por el Programa Nacional de Control Biológico, Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA) del Perú, con fines de conservación e incremento para programas de liberación.

El conocimiento del efecto de los plaguicidas, entre ellos los botánicos, sobre la fauna benéfica y en especial sobre sus diferentes estados de desarrollo, permitirá evitar el uso de aquellos con consecuencias negativas y fomentar el uso de los que causen un menor impacto ecotoxicológico (Calow, 1993; Hassan *et al.*, 1994). El Manejo Integrado de Plagas (MIP) requiere del uso de plaguicidas selectivos que preserven los enemigos naturales de las plagas. De esta manera, es indispensable el conocimiento de los efectos de los plaguicidas sobre la fauna benéfica (Rumpf *et al.*, 1997, 1998; Liu y Chen, 2000; Smith y Krischik, 2000; Liu y Chen, 2001).

En el Perú no existen protocolos validados y estándares de bioensayo de evaluación con diferentes especies de controladores biológicos, para determinar el efecto de los plaguicidas en ellos. Iannacone y Alvarino (2002) evaluaron el efecto toxicológico del carbámico cartap sobre la microavispa parasitoide *Muscidifurax raptorellus* Kogan & Lerner (Hymenoptera: Pteromalidae). Recientemente, Iannacone *et al.* (2002) determinaron el efecto de la rotenona sobre este último parasitoide.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad toxicológica del molle y lantana en huevos, larvas y pupas de *Chrysoperla externa*, y las microavispas parasitoides *Trichogramma pintoi* y *Copidosoma koehleri* en estados adulto e inmaduro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se realizaron en el Centro de Control Biológico (CCB) del Programa Nacional de Control Biológico-Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA), Vitarte, Lima, Perú, entre los años 2000 y 2002.

Extractos botánicos

Se siguieron los protocolos de trabajo propuestos por Hoss (1999) para la preparación de las muestras y los extractos crudos.

Schinus molle y *Lantana camara*

Las especies evaluadas se seleccionaron debido a sus antecedentes promisorios para controlar plagas tales como *P. operculella*. Las hojas de molle y lantana se utilizaron para la preparación de los extractos crudos, puesto que sus sustancias activas se encuentran mayormente a nivel foliar (Gundidza, 1993; Sharma *et al.*, 2000). Los especímenes botánicos de ambas especies se obtuvieron de jardines adyacentes al CCB, Vitarte, Lima, Perú, entre julio y octubre de 2001 y febrero de 2002. La recolección del material vegetal para ambas plantas se realizó en la etapa de floración.

Las hojas de ambas plantas se secaron por separado en una estufa a 40°C durante 48 h, hasta obtener un peso seco constante; para el molle el porcentaje de humedad inicial fue de 75,84 ± 4,42% (72,39 – 82,15%, n = 5) y para la lantana fue de 81,80 ± 2,33% (79,92 – 84,41%, n = 3); posteriormente, las hojas se trituraron en un mortero hasta obtener un polvo con 95% de granulos < 0,5 mm (verificado bajo microscopio), resultando un polvillo 95% menor o igual a este tamaño. Las muestras se sellaron herméticamente en frascos ámbar de vidrio de borosilicato de 50 mL (Kimble®, USA) y se fecharon hasta la preparación de los extractos, manteniéndolas a 6°C por no más de 14 d. La preparación de los extractos botánicos acuosos crudos (F₁), se realizó con agua destilada (pH = 7,2; dureza = 2,03 mg L⁻¹ y alcalinidad = 8 mg L⁻¹). Se prepararon extractos acuosos al 10%, en una proporción de 20 g por 200 mL de agua destilada, macerando por 48 h para la extracción de los compuestos hidrosolubles (Thomazini *et al.*, 2000). Posteriormente se filtraron a través de un

papel fino (Whatman® N° 1, USA). El pH de la solución acuosa se llevó a 6 al inicio de cada bioensayo, con una solución de NaOH 0,1 M o de H₂SO₄ 0,1 M. En los ensayos sólo se usaron extractos acuosos de preparación reciente (no más de 72 h), debido a que algunos microorganismos fúngicos pueden afectar su calidad.

Además, se prepararon dos extractos botánicos liposolubles crudos (macerados), con 50 mL de hexano grado analítico y 5 g del polvo botánico. La extracción se efectuó durante 7 días a temperatura ambiente (24 ± 3°C); posteriormente se filtró con papel fino, para obtener el extracto botánico crudo de hexano al 10% (F₂). Al residuo de material vegetal (después de esta primera extracción) se le añadieron 50 mL de acetona grado analítico, procediéndose de igual manera para la obtención del extracto crudo de acetona al 10% (F₃) (Pascual, 1996).

Chrysoperla externa

Los huevos desfilamentados (< 48 h de edad) se obtuvieron de cultivos estandarizados del PNCB-SENASA, a partir de los cuales se realizaron las crianzas masivas en condiciones de laboratorio, con el fin de obtener larvas y pupas para los bioensayos de susceptibilidad (Núñez, 1988b). La especie se identificó a nivel del estadio larvario y adulto usando las claves de Núñez (1988a). Las larvas de primer estadio, recién emergidas (< 24 h), se aclimataron masivamente en el laboratorio en envases cuadrangulares de plástico de 12 x 30 x 20 cm con cartulinas internas plegadas unas sobre otras, y se alimentaron con huevos de *Sitotroga cerealella* (Olivier), pegados en cartulinas que se renovaron cada 3 a 4 días, obtenidos del PNCB-SENASA. Una vez formadas las pupas, éstas se trasladaron a envases cilíndricos de plástico de 30 cm de altura y 20 cm de diámetro, para conseguir los adultos y continuar el ciclo biológico hasta la obtención de los huevos filamentosos. El alimento de los adultos estuvo compuesto por 24,39% de miel de abeja procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), 48,78% de levadura de cerveza, 24,39% de agua destilada y 2,44% de polen (procedente de la UNALM). La crianza se realizó

a cabo bajo condiciones de temperatura de $24 \pm 3^\circ\text{C}$ y humedad relativa entre 65 y 90%. La crianza se desarrolló bajo un fotoperíodo 13:11 (L:O).

Para los bioensayos se utilizaron huevos de menos de 48 h, los que se incubaron individualizados en viales de vidrio de 2 mL de capacidad. Las larvas se criaron individualmente en envases de vidrio de 5,5 mL y se alimentaron *ad libitum* con huevos de *S. cerealella*, pegados en cartulinas de 5 x 5 mm. En los ensayos se utilizaron larvas de primer estadio de desarrollo y se utilizaron cohortes de especímenes de entre 24 y 48 h. Se escogió este estadio debido a que en bioensayos toxicológicos con otros crisópidos ha demostrado ser el más vulnerable (Badawy y Arnaouty, 2000). Para los bioensayos con pupas se utilizaron puparios de 48 h de edad, debido a que se requieren hasta 48 h para el desarrollo de prepupa a pupa (Núñez, 1988b; Liu y Chen, 2000). Para todos los estados de desarrollo, las pruebas de sensibilidad se realizaron bajo oscuridad, para evitar la fotólisis de los extractos botánicos (Calow, 1993).

En general, a menos que se indique lo contrario, los bioensayos con los huevos se realizaron en viales de 0,5 cm de radio y 2,7 cm de altura cubiertos con tapones de algodón. Las lecturas para las larvas de primer estadio y pupas se hicieron en envases de vidrio de 1 cm de radio y 5 cm de altura. Los parámetros fueron: la eclosión para los huevos; para las larvas, la mortalidad, considerada como la inmovilización de los especímenes, y la desadherencia de la superficie interna del vial de vidrio al ser pinchadas con un alfiler entomológico, durante 15 s de observación al microscopio estereoscópico con un aumento de 10 X; y para las pupas el porcentaje de adultos emergidos.

Trichogramma pintoi

Las formas adultas (hembras y machos) de *T. pintoi* se obtuvieron desde cultivos estandarizados del PNCB-SENASA, mantenidas desde el 02 de junio de 1973, al que regularmente se agregó material de campo para mantener la diversidad genética de la colonia. La especie se identificó a nivel del estadio adulto con las claves de Pinto *et al.* (1983). La crianza de *T. pintoi* siguió las recomendaciones de Fuentes (1994), usando como

hospedero a *S. cerealella*. Se utilizó el ensayo de toxicidad por contacto-residual para las microavisas adultas y el de aplicaciones tóxicas para los huevos parasitados de *S. cerealella* con *T. pintoi*.

Copidosoma koehleri

Microavisas de esta especie se obtuvieron de una colonia mantenida durante diez años en el PNCB-SENASA. Esta colonia se obtuvo inicialmente del Centro Internacional de la Papa (CIP), Perú. *C. koehleri* se crió en el laboratorio sobre huevos y larvas de *P. operculella* bajo condiciones de temperatura $24 \pm 3^\circ\text{C}$ y fotoperíodo 12:12. Su identificación se hizo con las claves de Noyes (1980). Para *C. koehleri* se utilizaron envases de 0,7 cm de radio y 3,7 cm de altura.

El pH de las soluciones preparadas se midió al inicio del ensayo, y se estandarizó a $6 \pm 0,5$ (Iannacone y Gutiérrez, 1999). Los bioensayos se realizaron bajo condiciones de temperatura de $24 \pm 3^\circ\text{C}$.

Bioensayos

Chrysoperla externa

Toxicidad por inmersión de huevos y pupas

Huevos y pupas de *C. externa* se sumergieron durante 5 s en viales, en las diluciones de las sustancias y en agua destilada, siguiendo las recomendaciones de Senior *et al.* (1998). Después de la inmersión, los huevos y las pupas se colocaron en papel Tissue® (Scott Brand Products, USA) por 10 min para absorber lo restante de las soluciones acuosas y permitir el secado a temperatura ambiente. Se aplicaron las tres fracciones de cada uno de los dos extractos botánicos. Se trataron 20 huevos y 20 pupas por cada fracción de cada sustancia evaluada (5 especímenes por repetición) y cuatro repeticiones por cada fracción. Los huevos se individualizaron en viales de vidrio de 0,5 cm de radio y 2,7 cm de altura y las pupas en viales de 1 cm de radio y 5 cm de altura cubiertos con tapas de algodón. Después de las aplicaciones, los viales se mantuvieron cerrados en oscuridad bajo condiciones de cría, las lecturas se hicieron hasta la eclosión de los huevos sobre el 80% (120 h) y emergencia de las pupas sobre el 80% (> 120 h) en el agua destilada.

Toxicidad por contacto-residual para las larvas de primer estadio

Los extractos botánicos disueltos en agua destilada, hexano y acetona se aplicaron en viales de vidrio (25 µL por cada vial grande de vidrio). En cada vial de 1 cm de radio y 5 cm de altura se esparció en forma homogénea en sus paredes y base, con la ayuda de un hisopo de base de madera, la cantidad (µL) determinada de la sustancia química colocada en su interior y posteriormente se permitió el secado de los viales a temperatura ambiente durante 2 h, o alternativamente a 35°C en una estufa durante 1 h con sus respectivos tapones de algodón. Posteriormente, en el interior de cada uno de los viales ya secos se depositó una larva de 24 a 48 h de edad. Se trataron 20 larvas por cada fracción de cada sustancia evaluada y un total de 5 larvas por repetición y cuatro repeticiones por cada fracción. Los viales se mantuvieron en oscuridad y se observó la mortalidad acumulada a 48 h de exposición (Hassan, 1992). Las larvas se consideraron vivas si realizaban algún tipo de movimiento coordinado y adherencia con las patas a la superficie interna del vial de vidrio durante 15 s de observación bajo microscopio estereoscópico a 10 X, con la ayuda de un alfiler entomológico.

Microavispa: *Trichogramma pintoi* y *Copidosoma koehleri*

Toxicidad por inmersión

Las aplicaciones de las fracciones de los bioinsecticidas y agua destilada, se hicieron usando huevos de *S. cerealella* parasitados por *T. pintoi*, adheridos a pequeños cuadrados de cartulina de 6 x 6 mm, y larvas de *P. operculella* parasitadas por *C. koehleri*, en estado momificado, durante 5 s se sumergieron en placas Petri de plástico, siguiendo las recomendaciones de Brunner *et al.* (2001). Después de la inmersión, los huevos y larvas parasitadas se colocaron en papel Tissue® durante 10 min para absorber el exceso de las soluciones acuosas y se dejaron secar a temperatura ambiente por 1 h, en conformidad con el procedimiento de la Organización Internacional de Control Biológico e Integrado (IOBC) (Hassan, 1992). Las fracciones F₁, F₂ y F₃ de los dos extractos botánicos se aplicaron sobre los huevos de *S. cerealella* parasitados por *T. pintoi* y sobre las larvas

inmóviles parasitadas por *C. koehleri*. Se trataron huevos (1 cuadrado de cartulina 6 x 6 mm por repetición; 155,25 ± 32,98 huevos por cartulina, n = 20) y 10 a 20 larvas parasitadas por cada fracción de cada sustancia evaluada. Los huevos y larvas momificadas se colocaron en viales de 1 cm de radio y 5 cm de altura. Los tubos se dispusieron en posición horizontal en una caja de plástico (Danfa *et al.*, 1998). Después de las aplicaciones tópicas, los viales se mantuvieron cubiertos en oscuridad bajo condiciones de cría.

Las lecturas se hicieron hasta la emergencia en el agua destilada de más del 80% de los adultos de *T. pintoi* desde los huevos de *S. cerealella* y emergencia de los adultos de *C. koehleri* de las larvas momificadas de *P. operculella*. El porcentaje de emergencia de adultos de *T. pintoi* se calculó contando el número de huevos de *S. cerealella* que tenían al menos un orificio de emergencia de adultos, dividiéndolo por el número total de huevos parasitados y multiplicándolo por 100. El porcentaje de emergencia de *C. koehleri* se calculó contando el número de microavispas emergidas de una larva momificada de *P. operculella*, dividiéndolo por el número total de cámaras parasitadas (además se contó el número de adultos formados no emergidos y el número de formas inmaduras de *C. koehleri*). La toxicidad se expresó para F₁, F₂ y F₃ para ambos extractos botánicos.

Toxicidad por contacto-residual para adultos de *T. pintoi* y *C. koehleri*

Estos ensayos se hicieron con los adultos de las dos microavispas. Para *T. pintoi*, las pruebas toxicológicas se realizaron con cohortes de especímenes adultos, hembras y machos colocados al azar y < 24 h de emergidos de los huevos de *S. cerealella*. Los bioensayos se realizaron bajo condiciones de oscuridad. Las lecturas se efectuaron en viales de 0,5 cm de radio y 2,7 cm de altura cubiertos con una torunda de algodón. Se usaron 20 adultos por cada fracción de cada sustancia evaluada y un total de 5 adultos por repetición y cuatro repeticiones por cada fracción. Para cada prueba se utilizaron 140 individuos aproximadamente. El indicador de la prueba de mortalidad fue la inmovilización de los

especímenes, durante 10 s de observación bajo microscopio (Danfa *et al.*, 1998; Brunner *et al.*, 2001). Los adultos de *T. pintoi* no se alimentaron antes de los bioensayos toxicológicos. Los extractos botánicos disueltos en agua destilada y el agua destilada se aplicaron en viales de vidrio esparciendo 12,5 μL para los viales pequeños. Estos ensayos se realizaron por duplicado. La temperatura del ensayo fue de $24 \pm 3^\circ\text{C}$. La toxicidad de cada extracto botánico se expresó en F_1 , F_2 y F_3 .

Para *C. koehlerii*, a todos los viales se les agregaron 12,5 μL (a los viales medianos) de cada una de las concentraciones acuosas con la ayuda de una pipeta automática con puntas descartables y luego con un hisopo se esparcieron homogéneamente sobre la superficie interna del vial. Finalmente se cubrieron con una torunda de algodón. Sin embargo, este procedimiento no previene que los insectos se adhieran a la superficie no tratada (torunda de algodón) (Danfa *et al.*, 1998). Posteriormente se permitió el secado de los viales a temperatura ambiente durante 2 h o alternativamente a 35°C en estufa durante 1 h con sus respectivos tapones o torundas de algodón.

Los experimentos con *C. koehlerii* se hicieron con cohortes de adultos < 48 h de emergidos, alimentados antes del bioensayo. Se utilizaron machos y hembras al azar, tomados de los frascos de emergencia de adultos. Para cada prueba se utilizaron 140 individuos aproximadamente. Estos individuos se consideraron muertos cuando no se posaban sobre el vial y se encontraban en el fondo del recipiente con las patas hacia arriba, durante 10 s de observación al microscopio. El tratamiento control consistió en agua destilada. Se utilizaron cuatro repeticiones (1 vial = 1 repetición) por tratamiento. Se usaron 20 adultos por cada fracción de cada sustancia evaluada y un total de 5 adultos por repetición. Estos ensayos se hicieron por duplicado. Los ensayos de toxicidad aguda de residuos se realizaron en oscuridad. Los viales se mantuvieron en condiciones de cría y oscuridad y se observó la mortalidad acumulada a diferentes horas de exposición (Hassan, 1992). Las lecturas continuaron siempre y cuando la mortalidad en el control no fuera superior a 35%. La temperatura

del ensayo fue de $24 \pm 3^\circ\text{C}$. La toxicidad de cada extracto botánico se expresó en F_1 , F_2 y F_3 .

Diseño experimental y tratamiento estadístico

Los bioensayos de toxicidad con formas inmaduras y adultos de *C. externa* y *T. pintoi* y sólo adultas de *C. koehlerii* se evaluaron con las fracciones respectivas, en un diseño en bloque completamente al azar (DBCA) con siete tratamientos (agua destilada, F_1 , F_2 y F_3 de molle, y F_1 , F_2 , y F_3 de lantana) con cuatro repeticiones. El ensayo de emergencia de adultos de *C. koehlerii* siguió un diseño completamente aleatorio (DCA) de siete tratamientos con 10-20 repeticiones. La eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un ANDEVA, con el modelo aditivo lineal, previa transformación de los datos a arcoseno (porcentaje de mortalidad de larvas o adultos, emergencia de adultos o eclosión de huevos/100)^{0,5} antes del análisis, para estabilizar el error de la varianza (Zar, 1996).

Además, el ANDEVA se usó en *C. koehlerii* para determinar si existían diferencias entre el número total de cámaras por larva momificada de *P. operculella*, entre el número de adultos emergidos, entre los adultos no emergidos, y finalmente entre las formas inmaduras no emergidas para las seis fracciones botánicas y el agua destilada, previa transformación de los resultados a $\log(x+1)$. En el caso de existir diferencias significativas entre las repeticiones y entre los tratamientos se hicieron pruebas de diferencias verdaderamente significativas (DVS) de Tukey. La prueba de χ^2 se aplicó con el fin de determinar la existencia de dependencia a asociación significativa entre las fracciones botánicas y el efecto en el grado de desarrollo (adulto emergido, adulto no emergido y forma inmadura) de *C. koehlerii*. Sólo cuando en los bioensayos se encontraron mortalidades diferentes de cero en el control o agua destilada los análisis estadísticos se realizaron con los valores ajustados según la fórmula de Abbott (Dionisio, 2001). Cuando el efecto de mortalidad larvaria y de adultos en uno de los tratamientos fue menor que en el control, se ajustaron a cero, con el fin de evitar los resultados negativos (Iannacone y Reyes, 2001).

Los resultados del análisis están en conformidad con el procedimiento de la American Society for Testing and Materials en pruebas de toxicidad (ASTM, 1989). Los tiempos letales medios TL_{50} s se calcularon para *T. pinto* y *C. koehleri* usando el programa computarizado Probit (USEPA, Environmental Protection Agency, USA, versión 1,5). El modelo de regresión se verificó usando el estadístico Chi-cuadrado. Se empleó la prueba t de Student para datos pareados para determinar las diferencias en TL_{50} entre ambas microavispa (ASTM, 1989). Para la catalogación de los plaguicidas a las dosis o concentraciones evaluadas se usaron los índices de toxicidad propuestos por Vargas y Ubillo (2001). Para el cálculo de la

estadística descriptiva e inferencial se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 7,5 (SPSS, 1999).

RESULTADOS

Chrysoperla externa

El Cuadro 1 presenta el efecto de los extractos macerados de molle y lantana sobre diferentes estados de desarrollo de *C. externa*. Los extractos F_1 de molle y lantana no causaron efectos diferentes al agua destilada en el porcentaje de eclosión de huevos. Sin embargo, para F_2 de molle y lantana y F_3 de lantana se observaron efectos ovicidas ($F = 32,2$; g.l.= 6 y 21; $P = 0,0001$).

Cuadro 1. Efecto toxicológico de extractos de molle y lantana sobre las diferentes fases de desarrollo de *Chrysoperla externa*.

Table 1. Toxicological effect of Peruvian peppertree and lantana extracts on different development phases of *Chrysoperla externa*.

Especie, puntos de lectura Tratamientos	<i>Chrysoperla externa</i>				
	Huevos, eclosión, %	L_1 , mortalidad, 48 h, %	Pupas, 8 d, emergencia, %	Pupas, 21d, emergencia, %	Pupas, 21d, emergencia, % ¹
Agua destilada	90 ± 11,54a	10(0)2 ± 11,54ab	50 ± 20a	100 ± 0a	95 ± 10a
Molle acuoso (F_1)	95 ± 10a	20(11,11) ± 16,33ab	35 ± 19,14a	90 ± 11,54a	95 ± 10a
Molle hexánico (F_2)	20 ± 16,33b	10(0) ± 11,54ab	55 ± 19,14a	95 ± 10a	85 ± 10a
Molle acetónico (F_3)	100 ± 0a	35(27,77) ± 10 b	70 ± 25,81a	90 ± 11,54a	90 ± 11,54a
Lantana acuoso (F_1)	90 ± 11,54a	15(5,55) ± 19,14ab	75 ± 25,16a	90 ± 11,54a	80 ± 16,33a
Lantana hexánico (F_2)	20 ± 16,32b	10(0) ± 11,54ab	30 ± 25,81a	90 ± 11,54a	85 ± 19,15a
Lantana acetónico (F_3)	40 ± 16,32b	0 ± 01,5	70 ± 20a	90 ± 20a	85 ± 19,15a

Promedio ± desviación estándar.

Promedios en una misma fila seguidos por la misma letra minúscula no difieren significativamente a $P=0,05$ (Tukey, SPSS versión 7,5).

¹ Incluyen aquellos adultos emergidos que no pudieron expandir alas.

² Promedios entre paréntesis están corregidos por la fórmula de Abbott.

La mortalidad de la L_1 a 48 h de exposición no fue afectada significativamente para ninguno de los extractos, pues estos no causaron efecto de contacto-residual en comparación con el agua destilada. Sin embargo, hubo diferencias entre F_3 de molle y lantana ($F = 2,97$; g.l. = 6 y 21; $P = 0,029$).

En la emergencia de las pupas de *C. externa* a lecturas de 8 y 21 d, e incluso considerando el efecto en adultos emergidos que no pudieron expandir las alas a 21 d, no hubo diferencias

significativas a 8 d ($F = 2,53$; g.l. = 6 y 21; $P = 0,053$), a 21 d ($F = 0,41$; g.l. = 6 y 21; $P = 0,85$) y a 21 d (incluyendo a los que no expandieron las alas: $F = 0,63$; g.l. = 6 y 21; $P = 0,93$).

Trichogramma pinto

El Cuadro 2 indica que a 3 h de exposición, hubo efectos significativos en la mortalidad de los adultos, pero los extractos no fueron diferentes al agua destilada ($F = 3,37$; g.l.= 6 y 29; $P = 0,012$); la F_1 de molle, al no causar efecto de mortalidad, fue diferente a los otros cinco extractos, pero no

al agua destilada. A 6 h de exposición, hubo diferencias sólo entre el agua destilada y la F₃ de lantana (F = 4,79; g.l.= 6 y 29; P = 0,002). Cuando se hizo el análisis a 12 h de exposición, las seis fracciones fueron estadísticamente diferentes al agua destilada (F = 12,53; g.l. = 6 y 29; P = 0,0001), incluso la F₂ de molle y la F₃ de lantana causaron mortalidades > 90%. La emergencia de adultos de *T. pintoi* a partir de huevos parasitados de *S. cerealella*, fue afectada por F₂ de molle y

lantana, y el F₃ de lantana (F = 419,63; g.l. = 5 y 18; P = 0,0001).

Copidosoma koehleri

El Cuadro 3 presenta los efectos de los siete tratamientos (seis fracciones botánicas y el agua destilada) en la mortalidad de adultos a cuatro periodos de exposición, así como en la emergencia de los adultos a partir de larvas momificadas de *P. operculella*.

Cuadro 2. Efecto toxicológico de extractos de molle y lantana sobre las diferentes fases de desarrollo de *Trichogramma pintoi*.

Table 2. Toxicological effect of Peruvian peppertree and lantana extracts on different development phases of *Trichogramma pintoi*.

Especie, puntos de lectura Tratamientos	<i>Trichogramma pintoi</i>			
	Adultos, mortalidad, 3 h, %	Adultos, mortalidad, 6 h, %	Adultos, mortalidad, 12 h, %	Adultos, emergencia, %
Agua destilada	5(0) ¹ ± 9,04ab	13,33(0) ± 13,03a	36,66(0) ± 18,74a	85,87 ± 1,57a
Molle acuoso (F ₁)	0 ± 0a	10(0) ± 11,54a	55(28,90) ± 25,66b	83,12 ± 2,42a
Molle hexánico (F ₂)	20(15,78) ± 16,33b	25(13,46) ± 10ab	95(91,96) ± 10c	2,23 ± 1,03b
Molle acetónico (F ₃)	25(21,05) ± 19,15b	30(19,24) ± 11,54ab	90(84,08) ± 11,54bc	81,77 ± 9,58a
Lantana acuoso (F ₁)	25(21,05) ± 19,15b	30(19,24) ± 25,81ab	80(68,32) ± 23,09bc	87,61 ± 2,62a
Lantana hexánico (F ₂)	20(15,78) ± 16,33b	35(25) ± 10ab	90(84,08) ± 11,55bc	4,37 ± 2,48b
Lantana acetónico (F ₃)	25(21,05) ± 10b	50(42,31) ± 11,54b	95(91,95) ± 10c	3,97 ± 2,41b

Promedio ± desviación estándar.

Promedios en una misma fila seguidos por la misma letra minúscula no difieren significativamente a P=0,05 (Tukey, SPSS versión 7,5).

¹ Promedios entre paréntesis están corregidos por la fórmula de Abbott.

Cuadro 3. Efecto toxicológico de extractos de molle y lantana sobre las diferentes fases de desarrollo de *Copidosoma koehleri*.

Table 3. Toxicological effect of Peruvian peppertree and lantana extracts on different development phases of *Copidosoma koehleri*.

Especie, puntos de lectura Tratamientos	<i>Copidosoma koehleri</i>				
	Adultos, mortalidad, 3 h, %	Adultos, mortalidad, 12 h, %	Adultos, mortalidad, 24 h, %	Adultos, mortalidad, 48 h, %	Adultos, emergencia, %
Agua destilada	2,5(0) ¹ ± 7,07a	2,5(0) ± 7,07a	22,5(0) ± 22,51a	25(0) ± 20, 7a	93,97 ± 7,50a
Molle acuoso (F ₁)	0 ± 0a	5(2,56) ± 10a	35(16,12) ± 10a	90(86,66) ± 11,55b	80,51 ± 29,36ab
Molle hexánico (F ₂)	0 ± 0a	20(17,94) ± 16,33ab	20(0) ± 16,33a	50(33,33) ± 25,81ab	68 ± 10,54b
Molle acetónico (F ₃)	0 ± 0a	20(17,94) ± 16,33ab	25(3,22) ± 10a	45(26,66) ± 10ab	87,83 ± 10,55ab
Lantana acuoso (F ₁)	5(2,56) ± 10a	35(33,33) ± 19,15b	45(29,03) ± 19,15a	65(53,33) ± 19,15ab	84,31 ± 13,03ab
Lantana hexánico (F ₂)	0 ± 0a	5(2,56) ± 9,25a	17,5(0) ± 27,12a	57,5(43,33) ± 42ab	45,21 ± 28,29c
Lantana acetónico (F ₃)	0 ± 0a	0 ± 0a	25(3,22) ± 37,85a	95(93,33) ± 10b	19,71 ± 17,63d

Promedio ± desviación estándar.

Promedios en una misma fila seguidos por la misma letra minúscula no difieren significativamente a P=0,05 (Tukey, SPSS versión 7,5).

¹ Promedios entre paréntesis están corregidos por la fórmula de Abbott.

A las 3 h no hubo diferencias significativas en los porcentajes de mortalidad entre las tres fracciones de molle y lantana y el agua destilada ($F = 0,78$; g.l. = 6 y 29; $P = 0,59$). El mismo comportamiento ocurrió a 24 h de exposición ($F = 1,28$; g.l. = 6 y 29; $P = 0,29$). A 12 h de exposición, sólo la F_1 de lantana mostró diferencias significativas con el agua destilada ($F = 5,43$; g.l. = 6 y 29; $P = 0,001$), y a 48 h hubo un efecto notable de la F_3 de lantana. Con relación a la emergencia de adultos, la F_2 de molle y lantana, y la F_3 de lantana produjeron efectos significativos en comparación al agua destilada ($F = 36,09$; g.l. = 6 y 105; $P = 0,001$) (**Cuadro 3**).

El **Cuadro 4** indica que no hubo diferencias significativas entre las cámaras formadas por *C. koehleri* por larva momificada de *P. operculella*

($F = 2,11$; g.l. = 6 y 105; $P = 0,06$), pero sí entre el número de adultos emergidos ($F = 14,18$; g.l. = 6 y 105; $P = 0,000$), presentando un menor número de emergidos las fracciones F_2 y F_3 de lantana. También hubo diferencias en el número de adultos no emergidos ($F = 3,66$; g.l. = 6 y 105; $P = 0,002$), presentándose diferencias en el número de emergidos entre las fracciones F_3 de molle y F_3 de lantana. Finalmente, hubo diferencias entre el número de formas inmaduras no emergidas ($F = 42,76$; g.l. = 6 y 105; $P = 0,000$), con un menor número de inmaduros no emergidos en las fracciones F_2 y F_3 de lantana, y en F_2 de molle (**Cuadro 4**). Hubo diferencias en los porcentajes de adultos emergidos, no emergidos y en las formas inmaduras no emergidas bajo la acción de los siete tratamientos ($c^2 = 1661$; g.l. = 12; $P = 0,000$).

Cuadro 4. Efecto de los extractos de molle y lantana sobre diferentes fases del ciclo biológico de *Copidosoma koehleri*.

Tabla 4. Effects of Peruvian peppertree and lantana extracts on different phases of the biological cycle of *Copidosoma koehleri*.

Fases de <i>C. koehleri</i>	Número de cámaras	Nº adultos emergidos	Nº adultos no emergidos	Nº de formas inmaduras no emergidas
Tratamientos				
Agua destilada	38,82 ± 9,56a	35,78 ± 9,08a	1,85 ± 2,63ab	1,17 ± 2,96a
F1 molle	40,50 ± 14,04a	32,89 ± 18,51a	6,44 ± 12,38ab	1,16 ± 1,88a
F2 molle	35,20 ± 6,28a	24,00 ± 6,25a	4,00 ± 2,49ab	7,20 ± 3,88bc
F3 molle	31,20 ± 7,46a	27,20 ± 6,64a	1,20 ± 1,13a	2,80 ± 4,49a
F1 lantana	32,10 ± 6,47a	27,00 ± 6,89a	1,50 ± 1,95ab	3,60 ± 3,27ab
F2 lantana	33,17 ± 10,68a	14,50 ± 11,09b	1,66 ± 1,78ab	17,00 ± 12,71cd
F3 lantana	43,55 ± 8,04a	9,11 ± 9,02b	6,38 ± 5,79b	28,16 ± 11,06d

Promedios en una misma columna seguidos por la misma letra minúscula no difieren significativamente a $P=0,05$ (Tukey, SPSS versión 7,5).

Análisis comparativo

Al evaluar las tres especies de controladores biológicos, hubo diferencias principalmente entre el agua destilada y las F_2 y F_3 de lantana (Cuadros 1-3). Además, estas pruebas mostraron que el ensayo de mortalidad de adultos de *T. pintoi* a 12 h de exposición fue el más sensible, seguido del de mortalidad de *C. koehleri* a 48 h de exposición, y luego del de emergencia de adultos de huevos de *S. cerealella* (Cuadros 1 y 2).

Los promedios de TL_{50} (h) para cada uno de los siete tratamientos para *T. pintoi* y *C. koehleri*

indicaron diferencias en los valores de TL_{50} para ambas microavispa ($t = 3,21$; g.l. = 6; $P = 0,01$) (**Figura 1**), siendo *T. pintoi*, en términos de TL_{50} , más sensible que *C. koehleri*, según la escala de Vargas y Ubillo (2001). Los extractos botánicos fueron moderadamente tóxicos para *T. pintoi* (entre 5 y 24 h) y levemente tóxicos (> 24 h) para *C. koehleri*. Para *T. pintoi*, la secuencia de TL_{50} en orden ascendente fue: F_3 lantana (5,09 h), F_3 molle (6,15 h), F_2 lantana (6,16 h), F_2 molle (6,31 h), F_1 lantana (6,82 h), F_1 molle (11,24 h) y finalmente agua destilada (17,46 h). En cambio, la secuencia de TL_{50} fue

ligeramente diferente para *C. koehleri*, siendo en orden ascendente: F₁ lantana (26,33 h), F₁ molle (27,47 h), F₃ lantana (29,41 h), F₂ lantana (43,22 h), F₂ molle (51,01 h), F₃ molle (54,37 h) y agua destilada (141,58 h). A pesar de estas ligeras diferencias en el orden, los promedios de TL₅₀ se correlacionaron linealmente entre ambas especies ($r = 0,81$; g.l. = 5; $P = 0,02$).

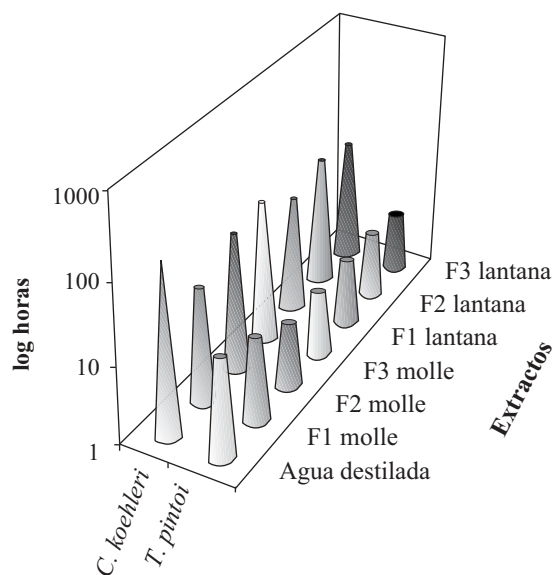


Figura 1. Valores de tiempo letal medio (TL₅₀) de extractos de molle y lantana sobre *Trichogramma pintoi* y *Copidosoma koehleri*.

Figure 1. Mean lethal time (LT₅₀) values of peppertree and lantana extracts on *Trichogramma pintoi* and *Copidosoma koehleri*.

DISCUSIÓN

El efecto letal de los insecticidas sobre la fauna benéfica ha sido bien documentado en la literatura (Calow, 1993; Finizio *et al.*, 2001). Vargas y Ubillo (2001) mostraron que los resultados obtenidos en bioensayos toxicológicos en condiciones de laboratorio sobre enemigos naturales que no son objetivo del control químico, sirven como referencia para orientar la selección de plaguicidas en los programas de control de plagas y enfermedades en cultivos agrícolas, especialmente cuando se trata de implementar un programa de MIP, debiendo preferirse aquellos productos de fácil degradación, más selectivos, y

considerando su modo y espectro de acción (Rumpf *et al.*, 1997). Al evaluar el efecto de los plaguicidas sobre la sensibilidad del parasitoide *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, Villanueva *et al.* (2000) pudieron seleccionar cuáles productos eran compatibles con el control biológico, dentro del MIP.

En las pautas de la IOBC (Hassan, 1992) y Jepson (1993) se realizó un recuento de los principales protocolos estándar utilizados para evaluar los efectos de plaguicidas convencionales sobre invertebrados benéficos, así como metodologías de laboratorio para determinar su toxicidad sobre los enemigos naturales. Los protocolos para fauna benéfica en los ensayos ecotoxicológicos son simples, requieren poco instrumental y son económicos, además de permitir relacionar las concentraciones de aplicación en campo con los resultados de mortalidad, facilita la evaluación del riesgo ambiental (Danfa *et al.*, 1998).

Liu y Chen (2000) sugirieron que la selectividad ecológica puede lograrse separando los componentes químicos y biológicos en el tiempo. La IOBC (Hassan, 1992) sugirió que si se encuentra un insecticida que no es tóxico para un determinado enemigo natural en el laboratorio, es probable que sea atóxico al mismo insecto en el campo, y por lo tanto no serán necesarias pruebas adicionales de semicampo o de campo.

Roel *et al.* (2000) señalaron que la efectividad de un extracto botánico depende de la sustancia orgánica utilizada para su extracción (acetona, metanol, hexano o acetato de etilo). Maguiña y Iannacone (2000) señalaron que los extractos orgánicos botánicos presentan mayor actividad que los acuosos en el camarón salino *Artemia franciscana* (Kellog). Los resultados indican que lantana y molle en extractos orgánicos presentaron efectos toxicológicos biocidas significativamente mayores en comparación con el agua destilada sobre organismos no destinatarios (Cuadros 1-3).

Chrysoperla externa

Los resultados indicaron que, en general, los extractos con solventes orgánicos de la F₂ de ambos productos botánicos y la F₃ de lantana

tuvieron efectos ovicidas, no selectivos sobre esta fase del depredador (Cuadro 1), por lo que estas formulaciones no deberían ser utilizadas cuando esta fase de desarrollo sea dominante en el campo. Aún para estos casos se requieren estudios toxicológicos de semicampo y campo, Liu y Chen, 2000 y Ramírez *et al.* 2001, señalaron que los extractos botánicos obtenidos con disolventes, al extraer distintos metabolitos, pueden causar mortalidades variables sobre insectos evaluados en bioensayos de laboratorio.

Las variaciones en términos de desviación estándar observadas entre los tratamientos sobre el efecto ovicida y sobre las pupas, podrían deberse a la carencia o reducción del contacto entre los huevos o pupas con el producto tóxico (Liu y Chen, 2000).

Trichogramma pintoi

Se ha demostrado que las especies de *Trichogramma* son muy sensibles a la acción de numerosos insecticidas y fungicidas sintéticos (Navarro y Marcano, 2000; Brunner *et al.*, 2001). En el ensayo de mortalidad a 12 h de exposición, *T. pintoi* fue más sensible a los seis extractos botánicos en comparación con el control (agua destilada) (Cuadro 2). En contraste, Cano y Gladstone (1994) mostraron compatibilidad para *Trichogramma pretiosum* ante la acción conjunta con otro insecticida botánico como el nim, sin ningún efecto de este insecticida en el porcentaje de parasitismo a las dosis recomendadas en el control de plagas (28 mg ingrediente activo (IA) L⁻¹).

Copidosoma koehleri

Los efectos observados variaron con la respuesta final, los tiempos de exposición y las formulaciones y plantas comparadas. Al parecer la F₃ de lantana produjo los mayores impactos sobre el porcentaje de mortalidad a 48 h y en el porcentaje de emergencia de adultos en comparación con el control (Cuadro 3). Así, una sola aplicación de estos extractos de esa formulación tendría efectos deletéreos sobre los adultos y momias larvianas que alojan al parasitoide (Longley, 1999). A pesar que las formas inmaduras (larvas, prepupas y pupas) del parasitoide están protegidas por el cuerpo del hospedero, algunos insecticidas, dependiendo de

sus propiedades físico-químicas, penetran al interior de la momia y pueden causar la muerte del parasitoide en sus diferentes fases de desarrollo (Longley, 1999). Además, residuos del plaguicida pueden permanecer en el exterior de las momias y las avispas los ingieren al cortar con sus mandíbulas el orificio de emergencia, o, también, los adultos se exponen durante el proceso de emergencia a los químicos que quedan en la superficie de la momia, debido a que su cutícula aún no se encuentra endurecida (Longley y Stark, 1996). En contraste, Willrich y Boethe (2001) determinaron que el diflubenzuron (inhibidor de la síntesis de quitina) no produce efectos deletéreos sobre *Copidosoma floridanum* (= *truncatellum*) (Ashmad), al no existir diferencias significativas en el porcentaje de emergencia de adultos desde las larvas de *Pseudopiusia includens* (Walker).

Liu y Chen (2000) indicaron que se requieren más estudios del efecto de insecticidas en crisópidos y otros depredadores y parasitoides en diferentes agroecosistemas.

En los ensayos descritos, se evaluó la actividad de extractos crudos que contienen numerosos compuestos, algunos de los cuales pueden ser comunes en los extractos de hexano y acetona. Será necesario proceder a un fraccionamiento de esos extractos de *S. molle* y *L. camara* para evaluar posteriormente su actividad y aislar el o los compuestos activos.

CONCLUSIONES

1. Los extractos acuosos de molle y lantana, a las concentraciones empleadas, no causaron efectos estadísticamente significativos en la mortalidad de larvas (ensayo de residualidad a 48 h de exposición) y pupas (efectos por inmersión por 5 s) de *Chrysoperla externa*. En contraste, los extractos hexánicos de molle y lantana y el acetónico de lantana tuvieron efectos ovicidas (efectos por inmersión por 5 s).
2. Los adultos de *Trichogramma pintoi* fueron sensibles a casi todas las fracciones botánicas en ensayos de contacto-residualidad a 48 h de exposición, pero la emergencia de los adultos a partir de huevos de *Sitotroga cerealella* fue

- afectada principalmente por el extracto hexánico de molle y lantana, y por el acetónico de lantana.
- Los adultos de *Copidosoma koehleri* fueron sensibles al extracto acuoso del molle y al acetónico de lantana, en cambio la emergencia de los adultos desde larvas momificadas de *Phthorimaea operculella* fue afectada por los extractos hexánicos de molle y lantana, y por el acetónico de lantana.
 - Los extractos hexánico y acetónico de lantana causaron los mayores efectos negativos en los tres controladores biológicos.

- Entre los dos parasitoides evaluados, *T. pintoii* fue ligeramente más sensible a los extractos botánicos de molle y lantana en comparación a *C. koehleri*.

AGRADECIMIENTOS

Al programa Nacional de Control Biológico, Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA) y a todo su personal calificado por el apoyo brindado a esta investigación.

LITERATURA CITADA

- ASTM. 1989. Standard guide for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates and amphibians. Guide No. E-729-88a. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- Badawy, H.M.A., and S.A. Arnauty. 2000. Direct and indirect effects of some insecticides on *Chrysoperla carnea* (Stephens) s.l. (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Neuropterol.* 2:67-76.
- Brunner, J.F., J.E. Dunley, M.D. Doerr, and E.H. Beers. 2001. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. *J. Econ. Entomol.* 94:1075-1084.
- Calow, P. 1993. Handbook of ecotoxicology. 478 p. Vol. I. Blackwell Science Ltd., Sheffield, UK.
- Cano, E., y C. Gladstone. 1994. Efecto del insecticida botánico, nim-20 sobre el parasitismo por *Trichogramma pretiosum* en huevos de *Helicoverpa zea* en el cultivo del melón. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 33:23-25.
- Danfa, A., B. Fall, and H. Van Der Valk. 1998. Acute toxicity tests with *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), using different locust control insecticides in the Sahel. p. 117-136. Vol. 3. Chapter 6. In J.W. Everts, D. Mbaye, O. Barry, and W. Mullié (eds.). Environmental side-effects of locust and grasshopper control. FAO, Rome, Italy.
- Dionisio, M. 2001. Efecto de dos subespecies de *Bacillus thuringiensis*: *aizawai* y *kurstaki* sobre tres especies de las polillas de la papa: *Phthorimaea operculella* (Zeller), *Symmetrischema tangolias* (Gyen) y *Tuta absoluta*. 107 p. Tesis de Licenciado en Biología. Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.
- Dua, V.K., N.C. Gupta, A.C. Pandey, and V.P. Sharma. 1996. Repellency of *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers against *Aedes* mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 12:406-408.
- Fernández, F. 2000. Pesticides effects on *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). Abstract Book I. XXI International Congress of Entomology, Foz de Iguazu, Brazil. August 20-26, 2000. EMPRAPA, Brasilia, Brasil.
- Finizio, A., M. Calliera, and M. Vighi. 2001. Rating system for pesticides risk classification on different ecosystems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49:262-274.
- Fuentes, F.S. 1994. Producción y uso de *Trichogramma* como regulador de plagas. 193 p. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Ghuisaberti, E.L. 2000. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). *Fitoterapia* 71:467-486.
- Gomero, L.O. 2000. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas. p. 13-26. In Arning, I. y H. Velásquez (eds.). Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Gundidza, M. 1993. Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn. *Cent. Afric. J. Med.* 39:231-234.
- Hassan, S.A. 1992. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. *IOBC/WPRS Bulletin* 1992/15/3. 186 p. University of Southampton, High Field, Southampton, UK.
- Hassan, S.A., F. Bigler, H. Bogenschuetz, E. Boller, J. Brun, J.N.M. Calis, et al. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group pesticide and beneficial organisms. *Entomophaga* 39:107-119.

- Hoss, R. 1999. Recursos botánicos con potencial biocida: conceptos básicos y métodos de análisis. 80 p. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Iannacone, J.A., y L. Alvarino. 2002. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida cartap en bioensayos con tres invertebrados. *Agri. Téc. (Chile)* 62:366-374.
- Iannacone, J.A., L. Alvarino, y G. Lamas. 2002. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida botánico rotenona empleando cuatro invertebrados de la biota animal. p. 644. *In* Mazzoleni, R.C., F.X. Souto, L.A. Lacava, y J.R.R. Braun (eds.). XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia: A Zoologia e os Ecosistemas Costeiros, Itajaí- Santa Catarina. 17 a 22 de fevereiro de 2002. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Brasil.
- Iannacone, J.A., y A. Gutiérrez. 1999. Ecotoxicidad de los agroquímicos lindano y clorpirifos sobre el nemátodo *Panagrellus*, la microalga *Chlorella* y el ensayo con *Allium*. *Agric. Téc. (Chile)* 59:85-95.
- Iannacone, J.A., e Y. Murrugarra. 2002. Efecto del nim y rotenona en las poblaciones de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) y en dos especies de áfidos (Homoptera: Aphididae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú. *Folia Entomol. Mex.* 41:119-128.
- Iannacone, J.A., y M. Reyes. 2001. Efecto en las poblaciones de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) por los insecticidas botánicos neem y rotenona en el cultivo de tomate en el Perú. *Rev. Colombiana Entomol.* 27:147-152.
- Jepson, P.C. 1993. Insects, spiders and mites. p. 299-325 Vol. I. *In* Calow, P. (ed.). *Handbook of ecotoxicology*. Blackwell Science Ltd., Oxford, England.
- Liu, T.X., and T.Y. Chen. 2000. Effects of the chitin synthesis inhibitor buprofezin on survival and development of immatures of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 93:234-239.
- Liu, T.X., and T.Y. Chen. 2001. Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *Fla. Entomol.* 84:628-633.
- Longley, M. 1999. A review of pesticide effects upon immature parasitoids within mummified hosts. *Int. J. Pest Manage.* 45:139-145.
- Longley, M., and J.D. Stark. 1996. Analytical techniques for quantifying direct, residual and oral exposure of an insect parasitoid to an organophosphate insecticide. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57:683-690.
- Maguiña, A.A., y J. Iannacone. 2000. *Artemia franciscana* Kellog 1906 "Camarón salino" como agente de bioensayo para evaluar cinco extractos crudos de plantas con propiedades antiparasitarias. *Bol. Soc. Quím. Perú* 66:154-169.
- Navarro, R.V., y R. Marcano. 2000. Efecto de diferentes insecticidas sobre el parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley y *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner en huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie). *Agronomía Trop.* 50:337-346.
- Noyes, J.S. 1980. A review of the genera of Neotropical Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) (Entomol.)* 41:107-253.
- Núñez, E.Z. 1988a. Chrysopidae (Neuroptera) del Perú y sus especies más comunes. *Rev. Per. Entomol.* 31:69-75.
- Núñez, E.Z. 1988b. Ciclo biológico de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cicnta* (Neuroptera: Chrysopidae). *Rev. Per. Entomol.* 31:76-82.
- Núñez, E.Z. 1998. Importancia de los predadores en el control biológico. p. 69-96. *In* Lizarraga, A.T., U.C. Barreto, y J. Holland (eds.). Nuevos aportes del control biológico en la agricultura sostenible. Red de Acción en Alternativas al Uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Pascual, M.J.V. 1996. Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de *Chrysanthemum coronarium* L. *Bol. San.Veg. Plagas* 22:411-420.
- Pinto, J.D., E.D. Oatman, and G.R. Platner. 1983. The identity of two closely related and frequently encountered species of New World *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 85:588-593.
- Raman, K.V., M. Palacios, y N. Mujica. 1993. Control biológico de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* por el parasitoide *Copidosoma koehleri*. *Boletín de Capacitación CIP* 3. 28 p. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.
- Ramírez, L.A., L.E. García, C. Rodríguez, y A.E. Castro. 2001. Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 60: 50-56.
- Reátegui, R.F., y G.M. Peruano. 1999. Efecto del aceite esencial de *Lantana camara* L. sobre la oviposición de *Phthorimaea operculella* Z. *Anal. Cien. UNALM (Perú)* 15:168-173.
- Rodríguez, A.M.T., y R. Egúsqüiza. 1996. Efecto del molle (*Schinus molle*) y sus extractos en el control de *Phthorimaea operculella* en almacenes de papa. p. 23. Resúmenes y programa de la 38ª Convención Nacional de Entomología, Chíncha, Perú. Sociedad Entomológica del Perú.

- Roel, A.R., J.D. Vendramim, R.T.S. Frigueto, e N. Frigueto. 2000. Efeito do extracto acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivencia da lagarta-do-cartucho. *Bragant.* (Campinas) 59:53-58.
- Rumpf, S., C. Frampton, and B. Chapman. 1997. Acute toxicity of insecticides to *Micromus tasmaniae* (Neuroptera: Hemerobiidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae): LC₅₀ and LC₉₀ estimated for various test durations. *J. Econ. Entomol.* 90:1493-1499.
- Rumpf, S., C. Frampton, and D.R. Dietrich. 1998. Effects of conventional insecticides and insect growth regulators on fecundity and other life-table parameters of *Micromus tasmaniae* (Neuroptera: Hemerobiidae). *J. Econ. Entomol.* 91:34-40.
- Senior, L.J., P.K. Mc Ewen, and N.A.C. Kidd. 1998. Effects of the chitin synthesis inhibitor triflumuron on green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae): influence on adult potentialities and off-spring. *Acta Zool. Fenn.* 209:227-231.
- Sharma, S., O.P. Sharma, B. Singh, and T.K. Bhat. 2000. Biotransformation of landadenes, the pentacyclic triterpenoid hepatoxins of lantana plant, in guinea pig. *Toxicon.* (India) 38:1191-1202.
- Smith, S.F., and V.A. Krischik. 2000. Effects of biorational pesticides on four coccinellid species (Coleoptera: Coccinellidae) having potential as biological control agents in interiorscapes. *J. Econ. Entomol.* 93:732-736.
- SPSS. 1999. Statistical Package for the Social Sciences user's manual: Statistics version 7.5 para Windows 95. SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA.
- Thomazini, A.P.B.W., J.D. Vendramim, e M.T.R. Lopes. 2000. Extractos aquosos de *Trichilia pallida* e atracado tomateiro. *Sci. Agric. (Brasil)* 57:13-17.
- Vargas, R.M., y A.F. Ubillo. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agric. Téc. (Chile)* 61:35-41.
- Villanueva, J.A., M.A. Hoy, and F.S. Davies. 2000. Field evaluation of integrated pest management-compatible pesticides for citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoid *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae). *J. Econ. Entomol.* 93:357-367.
- Weenen, H., M.H. Nkunya, D.H. Bray, L.B. Mwasumbi, L.S. Kinabo, and V.A. Kilimali. 1990. Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants. *Plant. Med.* 56:368-370.
- Whu, M. 1985. Estudios biosistemáticos de *Trichogramma* spp. *Rev. Per. Entomol.* 28:5-8.
- Whu, M.P., y L.J. Valdivieso. 1999. Distribución y comportamiento de ocho especies de *Trichogramma* y *Trichogrammatoidea* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el Perú. *Rev. Per. Entomol.* 41:61-68.
- Willrich, M.M., and D.J. Boethe. 2001. Effects of diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Environ. Entomol.* 30:794-797.
- Zar, J.H. 1996. Biostatistical analysis. 662 p. 3th ed. Prentice-Hall. Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA.