

Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*

José Iannacone¹
Gerardo Lamas²

RESUMEN. *Chrysoperla externa* (Neuroptera:Chrysopidae) es un promisorio controlador biológico de plagas agrícolas de importancia económica en Perú. La rotenona y la azadiractina (componente principal del nim), productos de origen botánico, y el plaguicida carbámico cartap, inicialmente de origen animal, fueron evaluados sobre huevos, larvas de primer instar (L_1) y pupas de *C. externa*, en bioensayos ecotoxicológicos realizados en el laboratorio. Los tres productos evaluados, a las dosis máximas utilizadas para el control de plagas, no causaron efectos significativos ($P>0,05$) en el porcentaje de eclosión de huevos y emergencia de pupas. Se observó que la rotenona, la azadiractina y el cartap, a concentraciones de 4000 mg i.a./L, de 8 mg i.a./L y de 625 mg i.a./L, respectivamente, causaron efectos en el porcentaje de eclosión de individuos vivos (que sobrevivieron más de 12 h). Además, la azadiractina provocó un retraso significativo en el porcentaje de emergencia de pupas. Para el caso de L_1 de *C. externa*, las concentraciones de 40 mg i.a./L de azadiractina y 100 mg i.a./L de rotenona, por efecto de contacto-residual provocaron mortalidades estadísticamente diferentes al testigo. El cartap, a concentraciones de 1,25 mg i.a./L, produjo un 80% de mortalidad en solo 1 h de exposición. Ninguna de las tres sustancias provocaron efectos en L_1 en ensayos de ingestión con huevos de *Sitotroga cerealella* impregnados de las sustancias. Por tanto, la L_1 de *C. externa* fue el estado de desarrollo inmaduro más sensible. Se discute la posibilidad de empleo de los insecticidas botánicos y *C. externa* en programas de manejo integrado de plagas.

Palabras clave: *Chrysoperla externa*, Nim, Rotenona, Insecticidas botánicos, Control biológico, Cartap.

ABSTRACT. Effect of two botanic extracts and a conventional insecticide on the predator *Chrysoperla externa*. *C. externa* (Neuroptera: Chrysopidae) is a promising biological control agent of economically important agricultural pests in Peru. Rotenone and azadirachtin (the main component of neem), products of botanical origin, and the carbamic pesticide cartap, initially of animal origin, were evaluated on eggs, first instar larvae (L_1) and pupae of *C. externa* in ecotoxicological bioassays performed in the laboratory. The three products evaluated, at the highest doses utilized for pest control, did not cause significant effects ($P>0.05$) on the percentage hatch of eggs and the emergence of pupae. It was observed that rotenone, azadirachtin and cartap, at concentrations of 4000 mg a.i./L, 8 mg a.i./L and 625 mg a.i./L, respectively, caused effects on the percentage of hatched living individuals (surviving more than 12 h). Moreover, azadirachtin significantly delayed the emergence of pupae. In the case of L_1 of *C. externa*, the concentrations of 40 mg a.i./L of azadirachtin and 100 mg a.i./L of rotenone by contact-residual effect, produced mortalities significantly different to the control. Cartap, at a concentration of 1.25 mg a.i./L produced 80% mortality, in only 1 h of exposure. None of three chemicals produced effects on L_1 in ingestion bioassays with eggs of *Sitotroga cerealella* impregnated with the substances. Therefore, the L_1 of *C. externa* was the most sensitive immature developmental stage. The possibility of employing the botanical insecticides and *C. externa* in an integrated pest management programmes is discussed.

Key words: *Chrysoperla externa*, Neem, Rotenone, Botanic insecticides, Biological control, Cartap.

¹ Escuela de Post Grado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. joselorena@terra.com

² Museo de Historia Natural, Universidad Mayor de San Marcos, Lima 14, Perú. glamasm@unmsm.edu.pe

Introducción

La papa (*Solanum tuberosum*) no solo es originaria de Perú, sino que constituye uno de los principales cultivos alimenticios en ese país. Entre los insectos que causan daños serios a este cultivo está la polilla (*Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Coll *et al.* 2000, Edmowande *et al.* 2000).

Uno de los controladores biológicos de *P. operculella* en Perú es *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), el cual ataca huevos y larvas de la plaga. Este neuróptero, llamado comúnmente alas de encaje, mosca de ojos dorados o león de áfidos, es un controlador biológico promisorio en el manejo ecológico e integrado de plagas. Las larvas y adultos de *C. externa* son depredadores muy voraces, oófagos y larvífagos, que se alimentan de cuerpos blandos de insectos y arácnidos (Fonseca *et al.* 2000), lo mismo que de huevos y larvas de lepidópteros como *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Spodoptera eridania* (Cramer), *Tuta absoluta* Meyrick, *Heliothis zea* Boddie, *Heliothis virescens* Fabricius, *Cydia pomonella* L. y *Phyllocnistis citrella* Stainton, y predomina en plantaciones de tomate, maíz, papa, algodón, olivo, palma aceitera, cítricos y manzana (Beingolea 1994, Núñez 1988a y 1998, Iannacone y Murrugarra 2000, Ribeiro *et al.* 2000, Iannacone y Reyes 2001).

C. externa además posee ventajas como agente de control biológico, tales como: una amplia distribución en la costa y la sierra de Perú, con presencia de adultos durante todo el año, fácil de criar en cautiverio, potencial para adaptarse a varios ambientes de cultivos y aparente resistencia a numerosos plaguicidas (Núñez 1988a, Cardoso y Lazzari 2000, Fernández *et al.* 2000).

A pesar del potencial y ventajas del control biológico, su integración con los métodos de control químico, ampliamente utilizados por los agricultores (Pascual 1996, Tenorio 1996, Hill y Foster 2000) limitan el desarrollo de programas de manejo integrado de plagas (Mejía *et al.* 2000, Vargas y Ubillo 2001). Una de las causas principales es que no se conocen bien los efectos directos e indirectos de los plaguicidas en la fauna benéfica (Murrugarra *et al.* 1998, Badawy y El Arnauty 2000, Iannacone 2001).

Ante esta situación, los insecticidas de origen botánico representan una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos. Los productos naturales extraídos de ciertas plantas, como *Lonchocarpus nicou* (Aublet)

DC. (rotenona) y *Azadirachta indica* Adr. Juss (nim) tienen la ventaja de ser biodegradables y en general, se considera que no producen desequilibrio en el ecosistema (Gruber 1992, Iannacone y Murrugarra 2000, Iannacone y Reyes 2000, Isman 2000). Al parecer, estos insecticidas biológicos provocan un impacto mínimo en la fauna benéfica; son eficaces contra plagas agrícolas y no tienen restricciones toxicológicas (Gonscalves *et al.* 2000, Zeng *et al.* 2000, Iannacone y Alvariano 2001a). Sin embargo, algunos autores han encontrado resultados de impacto negativo de estos productos en la fauna benéfica acuática y terrestre (Smilanick *et al.* 1996, Millan *et al.* 2000).

Un insecticida de origen natural utilizado por los agricultores es el 1,3 di-(carbamoilo)-2-dimetilaminopropano, conocido como hidrocloreuro de cartap, el cual es una sustancia derivada de la nereistoxina, extraída de los poliquetos marinos *Lumbrineris heteropoda* Hartman y *Lumbrineris brevicirra* Hartman. El cartap es un plaguicida carbámico, usado a nivel mundial para el control de plagas agrícolas (Bezerril *et al.* 1992, Rae *et al.* 1996, Reis y Souza 1998). En países asiáticos se ha utilizado como molusquicida sobre el gasterópodo dulceacuícola *Oncomelania hupensis* Chiui para el control del hospedante intermediario de *Schistosoma japonicum* Calpain (Xia *et al.* 1992).

El conocimiento del efecto de plaguicidas, tanto sintéticos como biológicos, sobre la fauna benéfica, y en especial sobre sus diferentes estados de desarrollo, será un primer paso para desestimular el uso de aquellos productos que tienen consecuencias negativas.

A nivel mundial, se han realizado bioensayos ecotoxicológicos principalmente para especies de controladores biológicos de importancia agrícola de la zona Neártica y Paleártica (Calow 1993). En el Perú, país neotropical, no se tienen protocolos validados y estándares de bioensayos para la evaluación con diferentes especies de controladores biológicos, como organismos no destinatarios, para determinar el efecto de los plaguicidas en ellos. Iannacone *et al.* (2000) sugiere emplear procedimientos estandarizados de bioensayos ecotoxicológicos, adaptados a especies de importancia de cada país o región, que sean equivalentes ecológicos de cada latitud.

Recientemente, Fernández *et al.* (2000) y Ferreira *et al.* (2000) utilizaron larvas de primer instar de *C. externa* para determinar el efecto ecotoxicológico de cuatro insecticidas y dos acaricidas sintéticos, en

bioensayos de corta duración. En Brasil, esta especie es ampliamente utilizada para el control biológico de numerosas plagas, principalmente lepidópteros y homópteros. Sin embargo, a la fecha no se tiene resultados sobre el impacto de los extractos botánicos rotenona y nim, y del cartap, sobre las poblaciones de este insecto, en las diversas etapas de su ciclo biológico.

Además, *C. externa* es criada intensivamente por el Programa Nacional de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA) de Perú, con fines de conservación y reproducción para su uso en programas de liberación, principalmente en tres etapas de su ciclo biológico: huevo, larva y pupa (Nuñez 1988b).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad ecotoxicológica de nim, rotenona y cartap en la demografía de *C. externa*, a nivel de huevos, larvas y pupas.

Materiales y métodos

Los bioensayos ecotoxicológicos fueron realizados en los laboratorios del Programa Nacional de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA), Vitarte, Lima, Perú.

C. externa

Los huevos desfilamentados (de 48 h), se obtuvieron de cultivos estandarizados del PNCB-SENASA, a partir de los cuales se realizó la cría masiva en condiciones de laboratorio, con el fin de obtener larvas y pupas para los bioensayos de susceptibilidad (Nuñez 1988a). La especie se identificó a nivel del instar larval y de adulto usando las claves de Nuñez (1988b).

Las larvas de primer instar, recién emergidas (< 24 h), se aclimataron masivamente en el laboratorio, donde se colocaron en envases cuadrangulares de plástico de 12 x 30 x 20 cm, los cuales se acondicionaron colocando cartulinas plegadas una sobre otra. Estas larvas se alimentaron con huevos de la polilla de los granos *Sitotroga cerealella* (Olivier), obtenidos del PNCB-SENASA. Los huevos de *S. cerealella* se pegaron a las cartulinas y cada tres a cuatro días se renovaron. Luego se obtuvieron las pupas, las cuales se trasladaron a envases cilíndricos de plástico de 30 cm de altura x 20 cm de diámetro, para obtener los adultos y así continuar el ciclo biológico hasta la obtención de los huevos filamentosos.

Los adultos se alimentaron con un compuesto elaborado con: 24,39% de miel de abeja (procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina-

UNALM), 48,78% de levadura de cerveza (Brewer's Yeast®, Lote No 276476-02, rica en vitamina B, principalmente tiamina 27%, riboflavina 7% y niacina 6%), 24,39% de agua destilada y 2,44% de polen (procedente de la UNALM). La crianza se llevó a cabo bajo condiciones no controladas de temperatura y humedad relativa; sin embargo, la temperatura fluctuó entre 21 °C y 27°C (promedio 24°C) y la humedad relativa entre 65% y 90%. La crianza se realizó bajo un fotoperiodo 13:11 (L:O).

En los bioensayos se utilizaron huevos desfilamentados (< de 48 h). Para la obtención de estados larvales y pupales, los huevos fueron incubados individualmente en pequeños viales de vidrio de 2 ml de capacidad. Las larvas fueron criadas individualmente en envases de vidrio de 5,5 ml de capacidad y alimentadas *ad libitum* con huevos de *S. cerealella*, pegados a cartulinas de 5 x 5 mm. Las larvas fueron criadas hasta el primer instar de desarrollo y se emplearon cohortes de especímenes entre 24 a 48 h. Se escogió este instar porque en bioensayos ecotoxicológicos con otros chrysópidos se había determinado como el estado más vulnerable (Badawy y El Arnaouty 2000). Sólo para el cartap se realizaron ensayos con la larva de tercer instar. Para los bioensayos pupales se usaron cocones de 48 h de edad, debido a que toma hasta 48 h el desarrollo de prepupa a pupa (Nuñez 1988b, Liu y Chen 2000). Para todos los estados de desarrollo, las pruebas de sensibilidad se realizaron bajo condiciones de oscuridad, para evitar el efecto de fotólisis de los extractos botánicos empleados (Calow 1993).

En los bioensayos ecotoxicológicos con los estados inmaduros de *C. externa* se utilizaron tres tipos de envases de vidrio: pequeño (2,7 cm de altura x 1 cm de diámetro), mediano (3,7 cm de altura x 1,4 cm de diámetro), y grande (5 cm de altura x 2 cm de diámetro). Todos se usaron con tapones de algodón.

Las variables evaluadas en los bioensayos con huevos fue la eclosión, mientras que en las pruebas con larvas fue la mortalidad, considerada como la inmovilización de los especímenes y la desadherencia a la superficie interna del vial de vidrio al ser pinchados con un alfiler entomológico, durante 15 seg de observación al microscopio estereoscópico de 10X. En el caso de las pupas la variable de respuesta fue la emergencia.

Productos evaluados

Nim. Se utilizó el producto Neem-X®; Agrícola SAUME - Perú, 0,4 % i.a. El nim, cuyo principal in-

grediente activo es la azadiractina, presentó las siguientes propiedades fisicoquímicas: solubilidad en agua = 0,00005 mg/L a 25°C; solubilidad en otros solventes = no disponible; punto de ebullición = no disponible; punto de fusión = no disponible; presión de vapor > 2 mmHg a 25 °C; coeficiente de partición = 12,3; tiempo de vida media < 100 h en agua. La sustancia química se disolvió al 1% en agua destilada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 µmhos/cm).

Para evaluar el producto en huevos de *C. externa*, se usaron las siguientes concentraciones de i.a.: 1 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 8 mg/L y 20 mg/L y un factor de dilución con una tendencia de 0,5. Para el bioensayo con larvas de primer instar se emplearon tres concentraciones de i.a.: 8 mg/L, 16 mg/L, 40 mg/L y un factor de dilución principalmente de 0,5. Para pupas se evaluaron dos concentraciones definitivas de i.a.: 16 mg/L y 32 mg/L y un factor de dilución de 0,5. La concentración de aplicación para el control de plagas en agricultura fluctúa entre 16 y 28 mg i.a./L.

Rotenona. Se utilizó el producto Agrosan® 8% P; Consorcio Exportador - Perú, 8 % i.a., que presentó las siguientes propiedades fisicoquímicas: solubilidad en agua = 0,2 mg/L a 28°C; punto de ebullición = 210 a 220 °C; punto de fusión = 165 a 166 °C; tiempo de vida media = 3 días en suelos arenosos. La sustancia química se disolvió al 1% en agua destilada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 µmhos/cm).

Para el bioensayo con huevos, se emplearon las siguientes concentraciones de i.a.: 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, 800 mg/L y 4000 mg/L y un factor de dilución de 0,5. Con las larvas de primer estadio se emplearon las siguientes concentraciones: 100 mg/L, 200 mg/L y 400 mg/L y un factor de dilución de 0,5. En pupas se emplearon las siguientes concentraciones definitivas: 800 mg/L, 1600 mg/L y 3200 mg/L y un factor de dilución de 0,5. La concentración de aplicación para el control de plagas en agricultura fluctúa entre 640 y 960 mg i.a./L.

Cartap. El producto usado fue Bala® 50 PS; Agrícola Saume – Perú, 50 % i.a. Este presentó las siguientes propiedades fisicoquímicas: solubilidad en agua = 178 g/L a 20 °C y 200 g/L a 25°C; punto de ebullición = 179 – 181°C; tiempo de vida media en el agua = 10 min a pH 7 y 25°C. Para los bioensayos el producto se disolvió al 1% en agua destilada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 µmhos/cm).

Para el bioensayo con los huevos se emplearon las siguientes concentraciones de i.a.: 625 mg/L, 1250

mg/L, 2500 mg/L, 5000 mg/L y 10000 mg/L y un factor de dilución de 0,5. Para el ensayo con larvas de primer instar se emplearon las siguientes concentraciones de i.a.: 1,25 mg/L, 6,25 mg/L, 62,5 mg/L, 125 mg/L, 1250 mg/L, 2500 mg/L, 5000 mg/L y 10 000 mg/L y un factor de dilución alternado de 0,1 y 0,5, con el fin de incluir un mayor número de concentraciones. Para las larvas de tercer instar se emplearon las siguientes concentraciones de i.a.: 0,24 mg/L, 0,49 mg/L, 2,49 mg/L, 6,24 mg/L, 31,24 mg/L, 156,24/L, 718,2 mg/L y 3 906 mg/L y un factor de dilución alternado principalmente de 0,5. Finalmente, en el bioensayo con pupas, se emplearon solo tres concentraciones: 18,75 mg/L, 37,50 mg/L y 75 mg/L y un factor de dilución de 0,5. La dosis de aplicación para el control de plagas en agricultura es 1000 mg i.a./L en promedio.

Bioensayos

En la mayoría de los ensayos se usó un factor de dilución de 0,5 para el cálculo de las concentraciones nominales decrecientes. Los valores pH de las soluciones preparadas se midieron al inicio de la prueba, estandarizándose a $6 \pm 0,5$ (Iannacone y Gutiérrez 1999, Iannacone y Alvarino 2001). La cría se llevó a cabo bajo condiciones no controladas de temperatura y humedad relativa; sin embargo, la temperatura registrada fluctuó entre 21 °C y 27 °C (promedio 24°C) y la humedad relativa entre 65% y 90% y un fotoperiodo 13:11 (L:O). Los bioensayos no se realizaron bajo condiciones controladas de temperatura, no obstante, ésta varió entre 24 ± 3 °C.

Ecotoxicidad por aplicaciones tópicas. Los huevos y pupas de *C. externa* se sumergieron durante 10 seg en las diluciones de las sustancias a evaluar y en agua destilada en el caso del testigo, siguiendo las recomendaciones de Senior *et al.* (1998). Después de la inmersión, se colocaron sobre papel Tissue® por 10 min para que éste absorbiera el exceso de líquido y permitir el secado ambiental. Se aplicaron varias concentraciones crecientes de los dos productos botánicos y del cartap en el agua destilada en mg i.a./L. Se utilizaron 20 huevos y 20 pupas por cada concentración de cada sustancia evaluada (5 especímenes / repetición), para un total de cuatro repeticiones. Los huevos fueron colocados individualmente en viales pequeños de vidrio. Para evaluar si el producto aplicado sobre el huevo afectaba la supervivencia de las larvas, a las 12 h de emergidas se registró su mortalidad. Las pupas fueron

colocadas en viales grandes con tapones de algodón (5 pupas/vial). Después de las aplicaciones tópicas, los viales se mantuvieron tapados y en la oscuridad, bajo condiciones de cría, realizándose las lecturas a las 120 h en el caso de los huevos y en las pupas, cuando el 80% de éstas habían eclosionado. Solo para la azadiractina, debido a su mecanismo particular de acción de inhibición hormonal, se evaluó el retardo en la emergencia de las pupas en tres periodos de lectura (15, 18 y 30 días) (Schmutterer 1997, Mareggiani 2001).

Ecotoxicidad por contacto residual. Estas pruebas se realizaron para larvas de primer instar, alimentadas previamente con huevos de *S. cerealella*. Las sustancias a evaluar (los extractos botánicos disueltos en agua destilada, el cartap y el agua destilada para el testigo) se aplicaron en viales de vidrio (12,5 µL para viales pequeños y medianos; y 25 - 50 µL para viales grandes). En cada vial se esparció homogéneamente en sus paredes y base (utilizando un hisopo de base de madera) la cantidad determinada de la sustancia colocada en su interior y posteriormente se permitió el secado de los viales a temperatura ambiente durante 2 h o alternativamente en una estufa a 35°C 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 primer instar. Se utilizaron 5 larvas / repetición y se realizaron cuatro repeticiones. Posteriormente, los viales se mantuvieron en condiciones de cría y oscuridad y se observó la mortalidad acumulada a 1,24,48 y 72 h de exposición (Hassan 1992). Las lecturas continuaron hasta que la mortalidad del testigo no fuera mayor a 20%. Adicionalmente, se realizó un ensayo con cartap en larvas de tercer instar (L₃) de *C. externa*. Las larvas fueron consideradas 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 al microscopio estereoscópico a 10x de aumento, con la ayuda de un alfiler entomológico.

Ecotoxicidad por incorporación en dieta. Estos ensayos se realizaron con larvas de primer instar y con menos 48 h, alimentadas con huevos de *S. cerealella* impregnados con la sustancia a evaluar (extractos botánicos disueltos en agua destilada, o cartap o agua destilada para el testigo) durante 10 seg de inmersión y colocados en papel Tissue® por 10 min para absorber

el exceso de líquido y permitir su secado ambiental (Fernández *et al.* 2000). Se utilizaron huevos de *S. cerealella* pegados a cartulinas de 10 x 10 mm como alimento para las larvas L₁ de *C. externa*. Estos bioensayos de ingestión fueron realizados en viales grandes y se evaluaron a las 24, 48 y 72 h de exposición. Para registrar la mortalidad se utilizó el mismo procedimiento indicado para los bioensayos de ecotoxicidad por contacto.

Diseño experimental y análisis estadístico

Todos los bioensayos de ecotoxicidad se evaluaron con las concentraciones nominales respectivas en un diseño de bloques completamente al azar. La eficacia de los tratamientos se evaluó mediante un análisis de varianza (Andeva) de dos vías con el modelo aditivo lineal, previa transformación de los datos a arcoseno (% de mortalidad/100)^{0,5} antes del análisis, para estabilizar el error de la varianza (Zar 1996). En caso de existir diferencias significativas entre las repeticiones y los tratamientos se realizó una prueba de diferencias verdaderamente significativas de Tukey (Norman y Streiner 1996). Los resultados del análisis están en conformidad con el procedimiento de la American Society for Testing and Materials en Pruebas de Ecotoxicidad (ASTM 1989). Los datos no transformados son presentados en las figuras y tablas.

Resultados

Los porcentajes de eclosión de huevos de *C. externa* con las concentraciones utilizadas de 1- 20 mg i.a./L de azadiractina y 100 - 4000 mg i.a./L de rotenona, no mostraron efectos estadísticamente significativos en comparación con el testigo absoluto (agua destilada) (Cuadros 1 y 2). Las concentraciones de 4000 mg i.a./L de rotenona y de 8 mg i.a./L de azadiractina afectaron el porcentaje de eclosión de los individuos vivos (que sobrevivieron más de 12 h) en 20 y 30%, respectivamente. El cartap, en concentración de 5 000 mg i.a./L tuvo efecto en la eclosión de los huevos (Cuadro 2), mientras que la concentración de 625 mg i.a./L provocó solo 10% de eclosión de larvas vivas (Cuadro 2).

No existieron efectos en las pupas de *C. externa* a concentraciones de 32 mg i.a./L de azadiractina, 3200 mg i.a./L de rotenona y 75 mg i.a./L de cartap (Cuadro 3). Sin embargo, la azadiractina produjo una demora significativa en la emergencia al comparar entre 15 y 18 días de exposición (Cuadro 4).

En las larvas de primer instar, las concentraciones

de 40 mg i.a./L de azadiractina y 100 mg i.a./L de rotenona provocaron mortalidades por efecto del contacto-residual estadísticamente diferentes al testigo absoluto (Cuadro 5). El cartap a concentración de 1,25 mg i.a./L, produjo un 80% de mortalidad solo a 1 h de exposición (Cuadro 6), y para larvas de tercer instar la concentración de 0,24 mg i.a./L produjo mortalidades diferentes al testigo a partir de 1 h de exposición (Cuadro 7).

Cuadro 1. Efecto de la azadiractina y rotenona en los porcentajes de eclosión de huevos de *C. externa*.

Azadiractina (mg i.a./L)	Eclosión (%)	Rotenona (mg i.a./L)	Eclosión (%)
1	90 a	100	63,36 a
2	80 a	200	80,00 a
4	100 a	400	80,00 a
Testigo	90 a	Testigo	90,00 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a P= 0,05. (Prueba de Tukey).

Cuadro 2. Efecto de la azadiractina, rotenona y cartap en la eclosión de los huevos de *C. externa* a diferentes tiempos (h) de exposición.

Concentración (mg i.a./L)	Eclosión (%)	Eclosión vivos (%)
Cartap 625	70 a	10 bc
1 250	90 a	30 b
2 500	100 a	20 b
5 000	50 b	20 b
10 000	10 b	0 c
Azadiractina		
8	70 a	30 b
20	90 a	30 b
Rotenona		
800	100 a	90 a
4 000	80 a	20 b
Testigo	90 a	80 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a P= 0,05. (Prueba de Tukey).

Al evaluar el efecto por ingestión, la azadiractina a 40 mg i.a./L y la rotenona a 800 mg i.a./L no provocaron efecto en larvas de primer instar de *C. externa*; cartap a concentraciones mayores a 50 mg i.a./L produjo mortalidad de 80% (en 24 h) a 100% (en 72 h) (Cuadro 8).

Cuadro 3. Efecto de la azadiractina, rotenona, y cartap en la emergencia de pupas de *C. externa*.

Concentración (mg i.a./L)	Emergencia (%)
Testigo	100 a
Cartap	
18,75	90 a
37,5	70 a
75	91 a
Azadiractina	
16	90 a
32	95 a
Rotenona	
800	70 a
1 600	80 a
3 200	100 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a P= 0,05. (Prueba de Tukey).

Cuadro 4. Efecto de la azadiractina en la emergencia de pupas de *C. externa*.

Concentración (mg i.a./L)	Emergencia (%)		
	15d	18d	30d
Azadiractina			
16	70 a	85 a	90 a
32	50 b	80 a	95 a
Testigo	80 a	95 a	95 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a P= 0,05 (Prueba de Tukey).

Cuadro 5. Efecto de la azadiractina y rotenona en la mortalidad de larvas de primer instar de *C. externa* a 48 h de exposición.

Concentración (mg i.a./L)	µg i.a./cm	Mortalidad (%)
Testigo	-	0 a
Azadiractina		
8	0,011	0 a
16	0,023	0 a
40	0,057	50 c
Rotenona		
100	0,144	20 b
200	0,289	20 b
400	0,578	10 ab

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a P= 0,05. (Prueba de Tukey).

Cuadro 6. Efecto del cartap en la mortalidad de larvas de primer instar de *C. externa*.

Cartap (mg i.a./L)	$\mu\text{g i.a./cm}^2$	Mortalidad (%)	
		1 h	24 h
1,25	0,265	80 b	90 b
6,25	1,32	100 b	100 b
62,5	13,2	100 b	100 b
125	26,4	100 b	100 b
1 250	264	100 b	100 b
2 500	528	100 b	100 b
5 000	1056	100 b	100 b
10 000	2112	100 b	100 b
Testigo	-	20 a	20 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a $P=0,05$. (Prueba de Tukey).

Cuadro 7. Efecto del cartap en la mortalidad de larvas de tercer instar de *C. externa*.

Cartap (mg i.a./L)	$\mu\text{g i.a./cm}^2$	Mortalidad (%)	
		1 h	24 h
0,24	0,051	20 b	30 b
0,49	0,102	30 b	30 b
2,49	0,510	60 c	60 c
6,24	1,020	100 d	100 d
31,24	5,100	100 d	100 d
156,24	25,500	100 d	100 d
718,2	127,500	100 d	100 d
3 906	637,500	100 d	100 d
Testigo	-	0 a	20 a

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a $P=0,05$ (Prueba de Tukey).

Cuadro 8. Mortalidad de larvas de primer instar de *C. externa* alimentadas con huevos de *S. cerealella* impregnados con azadiractina, rotenona y cartap, a tres diferentes tiempos (h) de exposición.

Concentración (mg i.a./L)	Mortalidad (%)		
	24 h	48 h	72 h
Testigo	0 a	0 a	0 a
Azadiractina			
4	0 a	0 a	0 a
40	0 a	0 a	0 a
Rotenona			
400	0 a	0 a	0 a
800	0 a	0 a	0 a
Cartap			
50	80 b	90 b	100 b
500	100 c	100 b	100 b

Promedios en una misma columna, seguidos por la misma letra, no difieren significativamente a $P=0,05$. (Prueba de Tukey).

Discusión

Los resultados muestran que el efecto de la rotenona, azadiractina y el cartap en huevos, larvas de primer instar y pupas de *C. externa* difirió con las concentraciones evaluadas. Los dos productos botánicos no afectaron el porcentaje de eclosión de huevos, mientras que las dos dosis más altas de cartap si lo hicieron (Cuadro 2). Pero cuando el criterio de efecto fue el porcentaje de eclosión de huevos con nacimiento de larvas que sobrevivan más de 12 h, algunas dosis de los tres productos produjeron una reducción significativa en la eclosión (Cuadro 2). Ninguno de los tres productos afectó las pupas (Cuadro 2).

Baoying *et al.* (2001) indican que en *Mallada signatus* (Schneider) la azadiractina demoró la pupación, indicando un efecto en la metamorfosis. Este impacto no necesariamente indica que la azadiractina es incompatible con el uso de *C. externa* como agente de control biológico. Este efecto puede ser evitado regulando el tiempo de aplicación de la azadiractina en un programa de manejo de plagas. Mejía *et al.* (2000) sugieren que la selectividad ecológica puede lograrse separando los componentes químicos y biológicos en el tiempo. Se ha sugerido que si se encuentra un insecticida que no es tóxico a 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 (Liu y Chen 2000).

En una evaluación con larvas de primer instar de *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister), Liu y Chen (2000) encontraron que el buprofezin tenía efecto ne-

gativo en el proceso de muda al segundo instar. Shour y Crowder (1980) señalan que la larva de primer instar de *Chrysoperla carnea* Stephens es tolerante a la permetrina y susceptible al fenvalerato. En la presente evaluación también se determinó que el primer instar larval de *C. externa* es más vulnerable y susceptible a los productos.

El efecto letal de los insecticidas sobre la fauna benéfica ha sido bien documentado en la literatura (Schmutterer 1997, Tillman y Scott 1997, Finizio *et al.* 2001). Vargas y Ubillo (2001) muestran que los resultados obtenidos en bioensayos ecotoxicológicos en condiciones de laboratorio sobre enemigos naturales no objetivos del control químico, sirven como referencia para orientar la selección de plaguicidas a utilizar en los programas de control de plagas en cultivos agrícolas, especialmente cuando se implementan programas de manejo integrado de plagas.

No se encontró en la literatura información sobre evaluaciones del efecto de la rotenona, azadiractina y cartap sobre *C. externa*. El efecto de la rotenona ha sido evaluado sobre el parasitoide *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), encontrando un efecto altamente tóxico sobre este enemigo natural de la mosca blanca *Trialeurodes vaporarum* (Westwood) (Kawai 1988) (Homoptera: Aleyrodidae). Obrycki *et al.* (1986) determinaron el efecto de la rotenona sobre *Edovum puttleri* Grisell (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de huevos de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). También se ha evaluado la ecotoxicidad de este producto en el ácaro *Amblyseius fallacis* (Gartman) depredador de la araña roja *Tetranychus urticae* Koch (Strickler y Croft 1985).

Schultz *et al.* (1993) ha indicado que el nim es un insecticida altamente benigno (atóxico) para depredadores y parasitoides de plagas en el cultivo de algodón y tomate. Sin embargo, a concentraciones más altas que las recomendadas se han observado ligeros efectos en el crecimiento de larvas de coccinélidos y chrysópidos.

Isman (1997) informó que los insecticidas botánicos tienen alta potencialidad de uso, principalmente en los países del Tercer Mundo. Sin embargo, existen barreras para su comercialización, tales como la escasez del recurso natural, control de calidad y estandarización, y finalmente el registro del plaguicida biológico.

El efecto del contacto residual de la rotenona en las larvas de primer instar de *C. externa* determinado

en este estudio, coincide con lo señalado por varios autores, quienes encontraron efecto de contacto de este producto en varias especies de insectos (Obrycki *et al.* 1986, Kawai 1988, Cubillo *et al.* 1999).

Aunque se ha indicado que las larvas de tercer instar de los chrysópidos (*C. carnea* y *C. rufilabris*) son más tolerantes al efecto de tóxicos, en comparación las de primer instar (Shour y Crowder 1980, Mizell y Schiffhauer 1990, Hurej y Dutcher, 1994, Lui y Chen 2000), en este estudio no se encontraron diferencias significativas bajo el efecto del cartap en *C. externa*.

En general, la rotenona, la azadiractina, y el cartap, a las dosis recomendadas para el control de plagas, pueden ser utilizadas en programas MIP que incluyen el uso de *C. externa*, pero es importante seguir algunas recomendaciones. Estos productos no deben utilizarse en concentraciones más altas que las recomendadas para evitar efectos negativos en este depredador. Además, dado que las liberaciones se hacen principalmente en la fase de huevos y larvas, la liberación no debe realizarse en la misma época en que se aplican estos extractos botánicos y el cartap, para evitar que disminuyan la supervivencia de las larvas recién eclosionadas o en los primeros instar y por ende se afecte el control biológico de la plaga.

Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo de todo el personal calificado del Programa Nacional de Control Biológico (PNCB), Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), Lima, Perú.

Literatura citada

- ASTM. 1989. Standard guide for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates and amphibians. Philadelphia, American Society for Testing and Materials. Guide no. E729-88a
- Badawy, HMA; El Arnaouty, SA. 2000. Direct and indirect effects of some insecticides on *Chrysoperla carnea* (Stephens) s.l. (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Neuropterology* 2: 67-76.
- Baoying, Q; Gordon, G; Gimme, W. 2001. Effects of neem-fed prey on the predacious insects *Harmonia conformis* (Boisduval) (Coleoptera: Coccinellidae) and *Mallada signatus* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). *Biol. Control* 22:185-190.
- Beingolea, OG. 1994. Guías práctica para identificar familias de insectos de interés agrícola. Lima, Perú, Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos. 309 p.
- Bezerril, EF; Carneiro, JDS; Torres-Filho, J. 1992. Chemical control of the leafminer *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Ibiapaba Plateau, Ceara. *An. Soc. Entomol. Bras.* 21:217-224.
- Calow, P. 1993. Handbook of ecotoxicology. Blackwell Science. vol. I. 478 p.
- Cardoso, JT; Lazzari, MN. 2000. Impact of *Chrysoperla externa*

- (Neuroptera: Chrysopidae) on *Cinara* spp. (Homoptera: Aphididae) in laboratory. In International Congress of Entomology (21,2000,Brasil).Abstract Book I.
- Cubillo, D; Sanabria, G; Hilje, L. 1999. Evaluación de la repelencia causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 53:65-71.
- Danfa, A; Fall, B; Van Der Valk, H. 1998. Acute toxicity tests with *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), using different locust control insecticides in the Sahel. In Everts, JW; Mbaye, D; Barry, O; Mullié, W. Ed. Environmental side-effects of locust and grasshopper control. vol. 3. p. 117-132.
- Fernández, MC; De Bortoli, SA; Ferreira, RJ. 2000. Pesticides effects on *Chrysoperla externa* (Hagen,1861) (Neuroptera: Chrysopidae). In International Congress of Entomology (21,2000,Brasil).Abstract Book I.
- Ferreira, BJ; Seno, KCA; Albergaria, NMMS; Dória, HOS; De Freitas, S. 2000. Acaricides selectivity evaluation on *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). In International Congress of Entomology (21, 2000, Brasil). Abstract Book I.
- Finizio, A; Calliera, M; Vighi, M. 2001. Rating system for pesticides risk classification on different ecosystems. Ecotoxicol. Environ. Saf. 49:262-274.
- Fonseca, AR; Carvalho, CF; Souza, B; Ecole, CC. 2000. Functional response of *Chrysoperla externa* fed on *Shizaphis graminum*. In International Congress of Entomology (21, 2000, Brasil). Abstract Book I.
- Gonscalves, MEC; Oliveira, JV; Barros, R; Torres, JB. 2000. Effect of vegetal aqueous extracts on immature stages and females of the cassava green mite *Mononychelus tanajoa*. In International Congress of Entomology (21, 2000, Brasil). Abstract Book I.
- Gruber, AK. 1992. Biología y ecología del árbol del neem (*Azadirachta indica* A. Juss): extracción, medición, toxicidad y potencial de crear resistencia. CEIBA (Honduras) 33: 249-256.
- Hassan, SA. 1992. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. IOBC/ WPRS Bulletin 1992/XV/3.
- Hassan, SA; Bigler, F; Bogenschuetz, H; Boller, E; Brun, J; Callis, JNM; Coremans-Pelseneer, J; Duso, C; Grove, A; Heimbach, U; Helyer, N; Hokkanen, H; Lewis, GB; Mansour, F; Moreth, L; Polgar, L; Samsoe-Petersen, L; Sauphanor, B; Staebli, A; Sterk, G; Vainio, A; Van De Veire, M; Viggiani, G; Vogt, H. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/ WPRS-working group pesticide and beneficial organisms. Entomophaga 39:107-119.
- Hill, TA; Foster, RE. 2000. Effect of insecticides on the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoids *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). J. Econ. Entomol. 93:763-768.
- Hurej, M; Dutcher, JD. 1994. Indirect effect of some insecticides used in pecan orchard to larvae of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). J. Entomol. Sci. 29:450-456.
- Iannacone, JA. 2001. Uso y perspectivas de insecticidas botánicos: reviviendo y modernizando una antigua técnica con plaguicidas etnobotánicos. In Simposio Internacional de Medio Ambiente y uso de recursos naturales para el desarrollo sustentable (2001, Lima, Perú). Libro de Resúmenes.
- Iannacone, JA; Gutiérrez, A. 1999. Ecotoxicidad de los agroquímicos lindano y clorpirifos sobre el nemátodo *Panagrellus*, la microalga *Chlorella* y el ensayo con *Allium*. Agricultura Técnica (Chile) 59: 85-95.
- Iannacone, J; Alvaríño, L; Caballero, C; Sánchez, J. 2000. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. Gayana 64:139-146.
- Iannacone, JA; Murrugarra, Y. 2000. Fluctuación poblacional del predador *Metacanthus tenellus* Stal (Heteroptera: Berytidae) por los insecticidas botánicos rotenona y neem en el cultivo de tomate en el Perú. Revista Colombiana de Entomología 26:89-97.
- Iannacone, JA; Reyes, M. 2000. Efecto de dos extractos botánicos rotenona y neem sobre dos plagas del tomate en el Perú. In Congreso Nacional de Botánica. (VIII, 2000, Arequipa, Perú). Libro de Resúmenes. Universidad Nacional de San Agustín. p. 105.
- Iannacone, JA; Alvaríño, L. 2001. Efecto de la azadiractina y rotenona en las poblaciones del gusano ejército *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú. In Convención Nacional de Entomología "Ing. Oscar Beingolea Guerrero In Memoriam" (XLIII, 2001, Lima, Perú). Libro de Resúmenes. p. 136.
- Iannacone, JA; Reyes, M. 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. Revista Colombiana de Entomología 27:147-152.
- Isman, MB. 1997. Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization. Phytoparasitica 25:339-344.
- Isman, MB. 2000. Phytochemical prospecting for insecticides: improving the odds of discovery. In International Congress of Entomology (XXI, 2000, Brasil). Abstract Book I.
- Kawai, A. 1988. Toxicity of some pesticides to *Encarsia formosa* Gahan. Bull. Natl. Res. Inst. Veg. Ornamental Plants Tea Ser. D 10:59-68.
- Liu, TX; Chen, TY. 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.
- Mareggiani, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 60: 22-30.
- Mejia, JW; Bustillo, AE; Orozco, J; Chavez, B. 2000. Efecto de cuatro insecticidas y de *Beauveria bassiana* sobre *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), parasitoide de la broca del café. Revista Colombiana de Entomología 26:117-123.
- Millan, CD; Farris, JL; Wilhide, JD. 2000. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 39:324-328.
- Mizell, RF; Schiffhauer, DE. 1990. Effects of pesticide on pecan aphid predators *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) (Neuroptera: Chrysopidae), *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea* (L.) *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Aphelinus perpallidus* (Hymenoptera: Encyrtidae). J. Econ. Entomol. 83:1806-1812.
- Murrugarra, Y; Reyes, M; Iannacone, J. 1998. Monitoreo de poblaciones bajo el efecto de los extractos botánicos de neem y rotenona, versus químicos convencionales en el cultivo de tomate en Ica, Perú. In Seminario Taller Internacional Aportes del Control Biológico en la Agricultura Sostenible y I Congreso Latinoamericano de la Sección Regional Neo-

- tropical de la Organización Internacional de lucha biológica (2,1998,Lima,Perú). p. 145.
- Norman,GR;Streiner,DL.1996.Bioestadística.Mosby/Doyma Libros. 260 p.
- Núñez,EZ.1988a.Chrysopidae (Neuroptera) del Perú y sus especies más comunes. Revista Peruana de Entomología 31: 69-75.
- Núñez, EZ. 1988b. Ciclo biológico de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae). Revista Peruana de Entomología 31:76-82.
- Núñez, EZ. 1998. Importancia de los predadores en el control biológico. In Nuevos aportes del control biológico en la agricultura sostenible. Lizarraga, AT;Barreto, UC;Holland, J. Ed. p. 69-96.
- Obrycki, JJ; Tauber, MJ; Tingey, WM. 1986. Comparative toxicity of pesticides to *Edovum putleri* (Hymenoptera: Eulophidae) an egg parasitoid of the colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera:Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 79: 948-951.
- Pascual, MJV. 1996. Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de *Chrysanthemum coronarium* L. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas (España) 22: 411-420.
- Rae, DJ; Watson,DM;Liang, WG;Li, M;Huang, MD;Ding,Y; Xiong, JJ;Du,DP; Tang, J;Beattie,AC. 1996.Comparison of petroleum spray oils, abamectina, cartap, and methomyl for control of citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in southern China. J. Econ.Entomol.89:493-500.
- Reis, PR; Souza, JCD. 1998. Chemical control of *Tuta absoluta* (Meyrick) in staked tomato plants. Ciencia e Agrotecnol. 22:13-21.
- Ribeiro, LJ;Berti-Filho, E;Antonio, MB. 2000. First record of *Chrysoperla externa* preying the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. In International Congress of Entomology (21, 2000, Brasil). Abstract Book I.
- Schmutterer, H.1997.Side effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites.J. Appl.Entomol.121:121-126.
- Schultz, EB; Bhatnagar, D; Jacobson, M; Metcalf, RL; Saxena, R; Unander, D. 1993. Neem a tree for solving global problems. 2 ed. Report of an Ad Hoc Panel of the Board on Science and Technology for International Development National Research Council. Washington, D.C., National Academic Press.
- Senior, LJ;Mcewen,PK;Kidd, NAC.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.
- Shour, MH;Crowder,LA.1980.Effects of pyrethroid insecticides on the common green lacewing. J. Econ. Entomol. 73: 306-309.
- Smilanick, JM; Zalom, FG; Ehler, LE. 1996. Effect of Methamidophos residue on the pentatomid eggs parasitoids *Trissolcus basalis* and *T. utahensis*. Biol.Control 6:193-201.
- Strickler, K;Croft, BA.1985.Comparative rotenone toxicity in the predator *Amblyseius fallacis* (Acari: Phytoseiidae) and the herbivore *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) grown on lima beans and cucumbers. Environ.Entomol.14: 243-246.
- Tenorio, J. 1996. Biología, comportamiento y control de las polillas de la papa: *Symmetrischema tangolias* (Gyen) y *Phthorimaea operculella* (Zéller) en Cajamarca. Tesis Ing. Agr. UNALM.
- Tillman, PG; Scott, W. 1997. Susceptibility of *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) to field rates of selected cotton insecticides. J. Ent.Sci.32:303-310.
- Vargas, RM; Ubillo, AF. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas Agricultura Técnica (Chile) 61:35-41.
- Xia, Q; Tan, P; Fen, X; Chen, M; Kajihara, N; Minai, M; Hosaka, Y. 1992. Assessment of the molluscicidal activities of Tribromosolan, cartap and chlorothalonil against *Oncomelania hupensis*. Jpn. J. Med.Sci.Biol.45:75-80.
- Zar, JH.1996. Bioestadistical analysis. 3 ed. New Jersey, Prentice-Hall.662 p.
- Zeng, XN; Coll, JT; Xie, JJ; Liu, XQ; Campos, FD. 2000. Comparison of rotenone contents bioactivity between roots and callus cultures of *Derris elliptica*. In International Congress of Entomology (21,2000,Brasil).Abstract Book I.