

Actividad insecticida de extractos del fruto de *Melia azedarach* en distintos estados de madurez sobre *Drosophila melanogaster*

A. HUERTA, I. CHIFFELLE, D. LIZANA, J. E. ARAYA

Se evaluó la actividad insecticida de extractos del fruto de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) en distintos estados de madurez sobre *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae), con miras a su uso potencial en manejo integrado de plagas en Chile. El estudio tuvo tres etapas: 1) muestreo de frutos al azar desde árboles ornamentales de *M. azedarach* en Santiago de Chile; 2) preparación de los extractos; 3) evaluación de la mortalidad de los adultos (n=10) en bioensayos de laboratorio, con frutos inmaduros y maduros, agua y etanol, y tres concentraciones de los extractos (3.200, 7.500 y 10.700 ppm). Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 2x3 de tratamientos y tres repeticiones. Los extractos fueron insecticidas eficaces y causaron hasta 77% de mortalidad de *D. melanogaster* con frutos inmaduros, etanol y 7.500 y 10.700 ppm. La CL₅₀ menor se obtuvo con los extractos de frutos inmaduros con etanol (2.071 ppm) a los 22 días. La mayoría de los adultos expuestos a los extractos del fruto tuvieron progenie viable escasa.

A. HUERTA, D. LIZANA. Departamento de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile, Casilla 9206, Santiago, Chile. Fax: 56-2-5417971. ahuerta@uchile.cl, ahuertaf@gmail.com (Correspondencia: A. Huerta).

I. CHIFFELLE. Departamento de Agroindustria y Enología, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

J. E. ARAYA. Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

Palabras clave: Insecticida botánico, insecticida natural, mosca del vinagre.

INTRODUCCIÓN

Los insecticidas sintéticos son herramientas importantes en el control de plagas, aunque han tenido un uso excesivo con consecuencias negativas, como toxicidad hacia agricultores, consumidores y hacia animales silvestres, interrupción del control natural y polinización, contaminación de aguas, y evolución de resistencia de las plagas a estos productos (PERRY *et al.*, 1998; AKHTAR y ISMAN, 2004). Algunos productos no son degradables y se acumulan en el ambiente, por lo que muchos se han retirado del mercado y su concentración se fiscaliza en frutos

y hortalizas. Las investigaciones para solucionar estos problemas se orientan hacia productos naturales para apoyar la labor de los insecticidas sintéticos, disminuyendo algunos de sus efectos negativos. Sin embargo, los insecticidas botánicos se han usado en agricultura durante al menos dos mil años en Asia y Medio Oriente (THACKER, 2002). El interés por compuestos botánicos nuevos para el control de plagas se basa en su eficacia, degradabilidad y su actividad fisiológica (RODRÍGUEZ, 1998; ISMAN, 1999).

El neem, *Azadirachta indica* L., y el neem chino, *Melia azedarach* L. (Meliaceae) son árboles nativos de Asia y Australia meridional.

nal, con propiedades insecticidas importantes. Ambas especies se han usado principalmente con fines ornamentales y se han naturalizado en países tropicales y subtropicales (VILLALOBOS, 1996).

La actividad insecticida de *M. azedarach* se debe a triterpenoides biológicamente activos con efecto anti-alimentario, es decir, inhiben la alimentación de insectos fitófagos produciendo la muerte y malformaciones de las generaciones posteriores (VERGARA *et al.*, 1997; CARPINELLA *et al.*, 2003). Se han evaluado extractos de hojas y frutos de *M. azedarach* sobre diversas plagas, con resultados promisorios (PADRÓN *et al.*, 2003; MAZZONETTO y VENDRAMIM, 2003; PÉREZ-PACHECO *et al.*, 2004).

La actividad de azadiractina a partir de *A. indica* ha permitido investigar insecticidas naturales en la mayoría de los géneros cercanos, incluyendo *Melia* (AKHTAR y ISMAN, 2004, GONZÁLEZ-GÓMEZ *et al.*, 2006). Entre los triterpenoides en las semillas de *M. azedarach*, la meliacarpina, similar a la azadiractina, tiene también actividad en la regulación del crecimiento de insectos (SCHMUTTERER, 2002).

La razón principal del bajo desarrollo de *M. azedarach* como insecticida comercial en comparación a *A. indica* radica en que los frutos de la primera contienen meliatoxina, un triterpenoide tóxico para mamíferos (SCHMUTTERER, 2002). Sin embargo, la composición química de *M. azedarach* varía notablemente desde su estado silvestre al cultivado, y los frutos desarrollados en Argentina no tienen meliatoxina pero sí otros triterpenoides, principalmente meliar-tenin, un fuerte antialimentario de insectos, que podría ser útil para el manejo de plagas y enfermedades (CARPINELLA *et al.*, 2003, 2005).

Dada esta variabilidad en la composición química de *M. azedarach* según el ambiente y el manejo, y la escasa investigación de esta especie en Chile, donde este árbol está bien adaptado, se estudió en laboratorio la actividad de los extractos de sus frutos en dieta sobre *Drosophila melanogaster* Meigen

(Diptera: Drosophilidae), usando varias concentraciones, solventes y estados de madurez del fruto, como contribución al manejo integrado de plagas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Los frutos de *M. azedarach* se muestrearon al azar desde la copa de 15 árboles de maduración heterogénea ubicados en el Campus Antumapu de la Universidad de Chile, Santiago, Chile, en abril de 2006. Los frutos se separaron mediante diferenciación de color y apariencia externa en dos estados de madurez (inmaduro (verde) y maduro).

Los bioensayos con *D. melanogaster* se hicieron en un medio de cría compuesto por una mezcla ácida con agua (1 L), agar-agar (16 g), sémola fina (60 g), levadura seca (10 g), fungicida (Nipagin) (12 ml), sacarosa (43 g), nitrato de sodio (4,2 g), fosfato (1,2 g) y cloruro de potasio (0,7 g), y sulfatos de magnesio (0,7 g) (Moreno *et al.*, 2000).

Preparación de los extractos

De cada estado de madurez de los frutos se recolectó aproximadamente 1 kg. Estas muestras se secaron en una estufa de aire forzado a 37 °C por 70 h y se molieron en un molino mecánico con un tamiz de graduación N° 60 hasta obtener harina. Los extractos se prepararon con la harina de los frutos inmaduros y maduros, con dos solventes (agua y etanol) en tres concentraciones, que se determinaron de acuerdo a la solubilidad de la harina en cada solvente.

Evaluación de eficacia del insecticida

Los extractos de los frutos de *M. azedarach* se evaluaron mediante bioensayos de laboratorio sobre adultos de *D. melanogaster* en función de concentraciones patrones, usándose como variables el estado de madurez del fruto, la solubilidad y la concentración del producto, mediante una modificación del método de González *et al.* (1997), quienes emplearon para un ensayo de toxicidad con moscas de la guayaba (*Anastrepha*

Cuadro 1. Mortalidad promedio (% \pm D.E.) de adultos de *D. melanogaster* por efecto de extractos de frutos de *M. azedarach* en la dieta.

Solventes	Estados de madurez	Concentraciones (ppm)*		
		3.200	7.500	10.700
Etanol	Inmaduro	56,67 \pm 0,58b	76,67 \pm 0,58a	76,67 \pm 3,21a
	Maduro	16,67 \pm 0,58c	43,33 \pm 0,58b	63,33 \pm 0,58a
Agua	Inmaduro	43,33 \pm 1,15c	60,00 \pm 1,00b	73,33 \pm 0,58a
	Maduro	16,67 \pm 1,15c	36,67 \pm 1,15b	53,33 \pm 0,58a

*Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas entre las concentraciones según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

striata Schiner) unidades experimentales compuestas por jaulas con 10 moscas adultas. La mezcla ácida para alimentar a los insectos se puso en un frasco de vidrio (300 mL) con el extracto elaborado en base a *M. azedarach*, según solvente y concentración definida para cada tratamiento. En los frascos se introdujeron 10 moscas de 5 días después de la emergencia, y se observaron permanentemente durante 22 días, contando las moscas muertas y vivas cada 2 días, aproximadamente.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los dos estados de madurez se estudiaron por separado, usando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x3 de tratamientos (Taucher, 1999) y tres repeticiones. El factor A fue la solubilidad (agua y etanol) y el factor B la concentración del extracto (3.200, 7.500 y 10.700 ppm). Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza usando SAS versión 6.11 (SAS Institute, 1998) y se compararon las medias con pruebas de Tukey ($p \leq 0,05$)

Para discriminar el mejor solvente y determinar el estado de madurez más efectivo se compararon los resultados de mortalidad obtenidos con ambos estados de madurez. Con los mejores resultados se hizo un análisis Probit para determinar la CL_{50} (Concentración letal para matar al 50 % de los individuos). Se utilizó el software Raymond Probit Analysis Program® de la Universidad de California, Riverside. Las pendientes y las líneas dosis-Probit se obtuvie-

ron usando el procedimiento Probit (Robertson *et al.*, 1984). Para medir el ajuste de los resultados al modelo Probit se usaron pruebas de Chi^2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mortalidad de *D. melanogaster* alcanzada con los extractos etanólicos fue superior ($p \leq 0,05$) a los obtenidos con agua para un mismo estado de madurez de los frutos, con excepción del estado maduro en la concentración menor (3.200 ppm), la que no fue diferente en ambos solventes (Cuadro 1).

Los resultados más efectivos se obtuvieron en los extractos de frutos inmaduros en dieta con etanol a 7.500 y 10.700 ppm, con cerca de 77% de mortalidad, luego el extracto del mismo estado de madurez con la concentración de 10.700 ppm con agua (73% de mortalidad). Los tratamientos de los extractos de concentración menor (3.200 ppm) de frutos maduros con ambos solventes causaron sólo 17% de mortalidad. En el Cuadro 1 se distingue un efecto de las concentraciones de los extractos sobre la mortalidad de los insectos, esto es, a mayor concentración del producto hubo mortalidad mayor, independiente del estado de madurez del fruto y de los solventes utilizados. No obstante, las pruebas Tukey, entre solventes arrojaron diferencias significativas sólo en el estado maduro de los frutos, aunque sí diferencias claras entre las concentraciones de los distintos extractos de los frutos.

El comportamiento de *D. melanogaster* durante los bioensayos varió según el estado

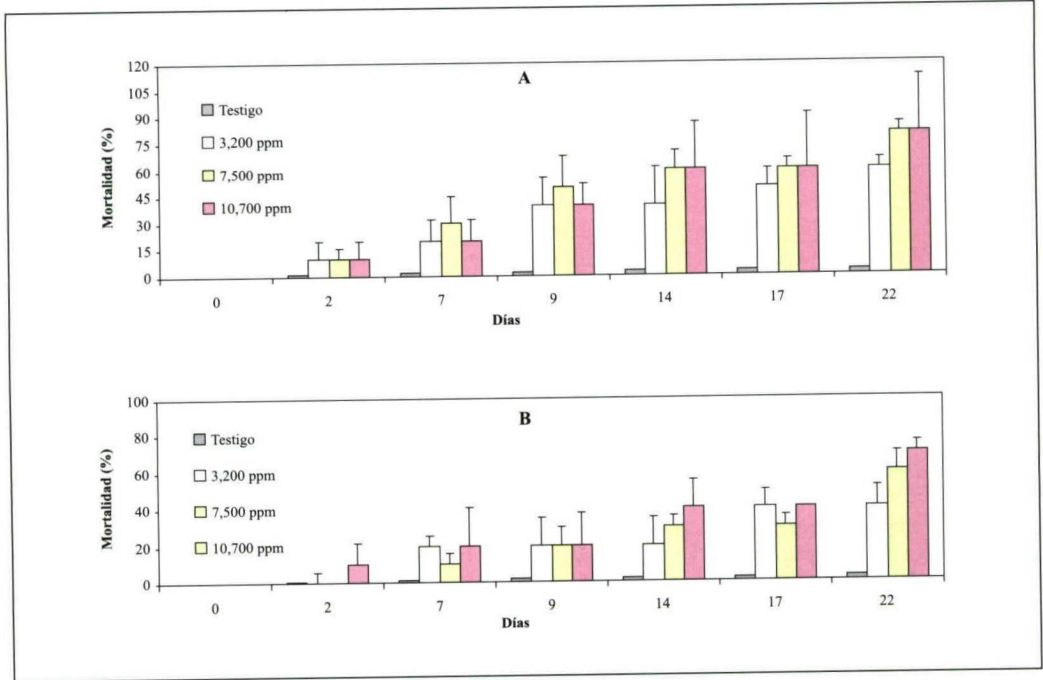


Figura 1. Mortalidad (% ± D.E.) de adultos de *D. melanogaster* con extractos de frutos inmaduros de *M. azedarach* en la dieta con distintas concentraciones. A: etanol; B: agua.

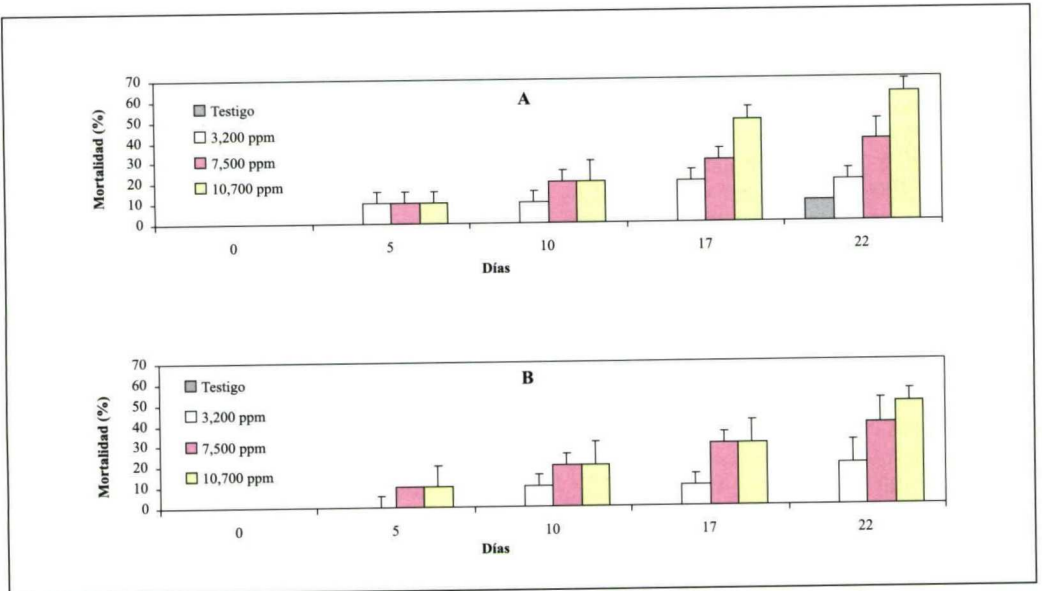


Figura 2. Mortalidad (% ± D.E.) de adultos de *D. melanogaster* en extractos de frutos maduros de *M. azedarach* en la dieta con distintas concentraciones. A: etanol; B: agua.

Cuadro 2. Efecto de extractos acuosos y etanólicos de frutos inmaduros de *M. azedarach* sobre la mortalidad de *D. melanogaster*.

Extractos	Pendientes \pm D.E.	CL ₅₀ (ppm)	Chi ² *
Día 14: Agua	5,95 \pm 1,16	11.908	3,06
Etanol	14,86 \pm 2,89	4.714	1,02
Día 22: Agua	23,89 \pm 4,51	4.382	2,30
Etanol	17,84 \pm 3,46	2.071	1,14

* Valores menores que el Chi² tabulado (df = 2; p \leq 0,05) = 5,99, por lo cual el modelo Probit se ajusta a los datos experimentales.

de madurez evaluado y la concentración del extracto. Como el producto estaba mezclado con el alimento, las moscas tendían inicialmente a bajar hacia el medio pero se alejaban de él con el transcurso de los días, especialmente en los extractos a base de frutos inmaduros. Este alejamiento de las moscas del medio de crianza fue más notorio en los tratamientos con las dosis mayores del producto, donde las moscas bajaban a comer los tres primeros días y después permanecían en la parte superior del frasco.

El seguimiento comprobó la incapacidad del insecto para reproducirse, principalmente en los bioensayos con las concentraciones mayores del producto donde no hubo puestas de huevos. Esto fue más notorio en los frascos con extractos a base de frutos inmaduros. En los extractos de frutos maduros hubo ovipositura, pero la mayoría de las veces el insecto permaneció en estado de larva o pupa, y murió antes de llegar a adulto.

En las concentraciones menores de los extractos elaborados con ambos estados de madurez hubo oviposaduras, pero sin un desarrollo normal y en su mayoría quedaron en etapas intermedias; de los individuos que lograron pupar y emerger, los adultos presentaron alas vestigiales. Sin embargo, en los frascos con medio de alimentación sin extracto insecticida (testigos), el comportamiento, alimentación y reproducción de las moscas fueron normales.

Los extractos acuosos y etanólicos de frutos de *M. azedarach* de ambos estados de madurez afectaron la mortalidad de los adultos (Figuras 1 y 2). En los extractos etanólicos obtenidos con frutos inmaduros hubo

una respuesta de mortalidad a los dos días de exposición, con una respuesta concentración/mortalidad lineal a los 14 días, según análisis de regresión Probit, tendencia que se mantuvo hasta los 22 días (Cuadro 2).

En los extractos acuosos derivados del estado inmaduro del fruto se obtuvo una respuesta de mortalidad a los dos días de exposición sólo con la concentración mayor (10.700 ppm). Esta respuesta aumentó con el tiempo de exposición (Cuadro 2).

Con los extractos obtenidos del fruto maduro los efectos ocurrieron en un tiempo mayor (5 días) y con mortalidades menores que con fruto inmaduro, en una respuesta lineal a partir de 17 días, de acuerdo al análisis de regresión de Probit (Figura 2 y Cuadro 3).

Los extractos de etanol fueron más efectivos, con una CL₅₀ para *D. melanogaster* de 2.071 ppm (Cuadro 2). Los extractos en agua requirieron 4.382 ppm para alcanzar este resultado de mortalidad a los 22 d.

La mortalidad cercana a 77% de los adultos de *D. melanogaster* expuestos a los extractos de los frutos concuerdan con los obtenidos por VALLADARES *et al.* (1997) sobre el poder antialimentario de *M. azedarach*; ellos evaluaron 2, 5 y 10%, y obtuvieron un efecto antialimentario de 75% a 100% de inhibición con la concentración mayor en adultos de *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae).

Las concentraciones más eficaces obtenidas contrastan con las de VERGARA *et al.* (1997); ellos evaluaron extractos etanólicos de *M. azedarach* sobre el crustáceo *Artemia salina* (L.) y obtuvieron toxicidad con 1.000 a 3.000 ppm. Esto se explica por la relación

Cuadro 3. Efecto de extractos acuosos y etanólicos de frutos maduros de *M. azedarach* sobre la mortalidad de *D. melanogaster*.

Extractos	Pendientes \pm D.E.	CL ₅₀ (ppm)	Chi ^{2*}
Día 17: Agua	13,32 \pm 3,06	43.277	2,55
Etanol	22,45 \pm 4,58	15.486	4,67
Día 22: Agua	29,11 \pm 5,51	10.442	5,69
Etanol	37,31 \pm 7,02	8.354	5,64

* Valores menores que el Chi² tabulado (df = 2; p \leq 0,05) = 5,99, por lo cual el modelo Probit se ajusta a los datos experimentales.

entre el clima y la acumulación de compuestos insecticidas en esta especie; otros organismos animales tienen distinta sensibilidad a *M. azedarach* (CARPINELLA *et al.*, 2005; SZEWCZUK *et al.*, 2006).

Las CL₅₀ entre 2.071 y 4.382 ppm, resultan similares a los de VERGARA *et al.* (1997); ellos determinaron un óptimo de 3.000 ppm para *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Estos niveles son mayores que los obtenidos en otras latitudes o en estados tempranos de desarrollo del insecto. MUÑOZ *et al.* (1998) obtuvieron CL₅₀ inferiores a 1.000 ppm para larvas de la polilla del brote del pino, *Rhyacionia buoliana* Den et Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae).

La acción repelente de los extractos y las malformaciones de algunos individuos también las observaron RODRÍGUEZ y VENDRAMIM (1998), comprobando que la mayoría de las sustancias a base de *M. azedarach* inhibe la acción de las oxidasas en el intestino medio; el insecto juvenil se convierte en pupa o adulto anormal, o bien muere, por deficiencia nutricional o interferencia en los procesos fisiológicos.

VERGARA *et al.* (1997) indican que los efectos combinados de los compuestos en el fruto son más poderosos que en forma individual. Esto permite inferir que sería mejor un extracto a base del fruto completo, en vez de aislar el principio activo, dado que al existir un conjunto de compuestos, no sólo aumentaría la mortalidad de los insectos,

sino que disminuiría la probabilidad que éstos desarrollen resistencia a una mezcla de ingredientes activos. ISLAN (1997) señala que para los insectos es difícil reaccionar a un complejo de sustancias que a una única molécula.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de frutos inmaduros de *M. azedarach* fueron más eficaces como insecticidas que los de frutos maduros, y causaron mortalidad de *D. melanogaster* de hasta 77%. La CL₅₀ en este insecto con frutos inmaduros en etanol (2.071 ppm) se obtuvo a los 22 días. En general, en los bioensayos no hubo descendencia viable de *D. melanogaster*. Algunos individuos pudieron producir insectos que fueron incapaces de desarrollarse o con malformaciones en las alas. Por último, se sugiere continuar con el estudio sobre el uso de insecticidas botánicos para potenciar el desarrollo del manejo integrado de plagas.

AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por el Proyecto Incentivo para FONDECYT-Iniciación DI 2006 (ESP-INI 06/01) "Propiedades insecticidas de extractos de *Melia azedarach* para el manejo integrado de plagas", del Departamento de Investigación de la Universidad de Chile.

ABSTRACT

HUERTA, A., I. CHIFFELLE, D. LIZANA, J. E. ARAYA. 2008. Insecticide activity of *Melia azedarach* fruit extracts in mature stage different on *Drosophila melanogaster*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 425-432.

The insecticide activity of extract from fruits of *Melia azedarach* L. (Meliaceae) was evaluated in the laboratory on *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae), towards their use in integrated pest management in Chile. The study had three stages, random fruit sampling from ornamental trees of *M. azedarach* in Santiago, Chile, preparation of extracts, and evaluation of mortality of adults (n=10) in bioassays with immature and mature fruits, water and ethanol, and four extract concentrations (3,200; 7,500; and 10,700 ppm), with three replications per treatment. The extracts demonstrated to be efficacious insecticides, and caused up to 77% mortality of *D. melanogaster* with immature fruits, ethanol, and 7,500 and 10,700 ppm. The lowest LC₅₀ was obtained with the immature fruit extract in ethanol (2,071 ppm at 22 days. Most adults exposed to fruit extracts had a scarce viable progeny.

Key words: Botanical insecticide, nature insecticide, vinegar fly.

REFERENCIAS

- AKHTAR, Y., ISMAN, M. B. 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *J. Appl. Ent.* **128**: 32-38.
- CARPINELLA, C., DEFAGÓ T., VALLADARES G., PALACIOS M. 2003. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 369-374.
- CARPINELLA, M. C., FERRAYOLI C. G., PALACIOS, S. M. 2005. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 2922-2927.
- GONZÁLEZ E., DEIBIS J., CÁSARES, R. 1997. Susceptibilidad de poblaciones adultas, machos y hembras de *Anastrepha striata* Schiner al insecticida malation, usando técnicas de aplicaciones tópicas y consumo de cebos tóxicos. *Bol. Entomol. Venezolana* **12** (1): 51-57.
- GONZÁLEZ-GÓMEZ, R., OTERO-COLINA G., VILLANUEVA-JIMÉNEZ J. A., PÉREZ-AMARO J. A., SOTO-HERNÁNDEZ, R. M. 2006. Toxicidad y repelencia de *Azadirachta indica* contra *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Agrociencia* **40**: 741-751.
- ISLAN, B. 1997. Neem and other botanical insecticides: barriers to comercialization. *Phytoparasitica* **25** (4): 339-344.
- ISMAN, M. B. 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pestic. Outlook* **10**: 68-72.
- MAZZONETTO, F., VENDRAMIM J. 2003. Effect of powders from vegetal species on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) in stored bean. *Neotrop. Entomol.* **32** (1): 145-149.
- MORENO, M., GONZÁLEZ S., ACEVEDO I., MORALES G., BETANCOUR M., LÓPEZ J., PELÁEZ C. 2000. *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): modelo biológico para la estandarización de extractos naturales con actividad insecticida. *Rev. Colombiana Entomol.* **26** (1-2): 41-47.
- MUÑOZ, P., MUÑOZ M., SCHMEDA G., ASTUDILLO L. 1998. Actividad de extractos de *Melia azedarach* L. sobre polilla del brote del pino, *Rhyacionia buoliana*, en dieta artificial. IV Simposio Internacional de Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones. Instituto de Química de Recursos Naturales, Campus Lircay, Universidad de Talca, Chile. pp: 138-139.
- PADRÓN, B., ORANDAY A., RIVAS C., VERDE M. 2003. Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzgium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. *Ciencia UANL* **6** (3): 333-338.
- PÉREZ-PACHECO, R., RODRÍGUEZ, C., LARA-REYNA, J., MONTES, R., RAMÍREZ, G. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). *Acta Zool. Mex.*(n.s.) **20** (1): 141-152.
- PERRY, A. S., YAMAMOTO I., ISHAAYA I., PERRY R. Y. 1998. Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects. *Springer-Verlag, Berlin*. 261 p.
- ROBERTSON, J.L., SMITH K.C., SAVIN N.E., LAVIGNE R.J. 1984. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression. *J. Econ. Entomol.* **77** (4):833-837.
- RODRÍGUEZ, H. 1998. Determinación de toxicidad y bioactividad de cuatro insecticidas orgánicos recomendados para el control de plagas en cultivos hortícolas. *Rev. Latin. Agric. Nutr. (RELAN)* **1** (3): 32-41.
- RODRÍGUEZ, H., VENDRAMIM J. 1998. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insecticida de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Rev. Manejo Integrado de Plagas (Honduras)* **48**: 11-18.
- SAS INSTITUTE. 1998. SAS. Language Guide for Personal Computers release 6.03 Edition. SAS Institute. Cary N.C. USA. 1028 p.
- SCHMUTTERER, H. (Ed.). 2002. The Neem Tree. Neem Found, Mumbai. 892 p.
- SZEWCUK, V. D., MONGELLI E.R., POMILIO A. B. 2006. *In vitro* anthelmintic activity of *Melia azedarach*

- naturalized in Argentina. *Phytotherapy Res.* **20** (11): 993-996.
- THACKER, J. R. M. 2002. An Introduction to Arthropod Pest Control. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK 343 p.
- TAUCHER, E. 1999. Bioestadística. 2da Edición. Editorial Universitaria. Santiago de Chile. 310 p.
- VALLADARES, G., DEFAGÓ M.T., PALACIOS S.M., CARPINELLA M.C. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* **90**: 747-750.
- VERGARA, R., ESCOBAR C., GALEANO P. 1997. Potencial insecticida de extractos de *Melia azedarach* L. (Meliaceae). Actividad biológica y efectos. *Rev. Facultad Nacional de Agronomía (Colombia)* **50** (2): 186.
- VILLALOBOS, P. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid. 35 p.

(Recepción: 24 marzo 2008)

(Aceptación: 30 julio 2008)