

## Toxicidad de azadirona y 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensina (4:1) sobre adultos de *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hym.: Braconidae)

N. ZAPATA, P. MEDINA, M. GONZÁLEZ, F. BUDIA, B. RODRÍGUEZ, E. VIÑUELA

Se evaluó la toxicidad de los limonoides azadirona (F12) y 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensina en proporción 4:1 (F18) en hembras del parasitoides *P. concolor*, mediante dos tipos de ensayo: aplicación tópica e ingestión en el agua de beber a 1000 mg i.a./l. Para poder disolver correctamente los limonoides en agua fue preciso determinar previamente qué emulgente no era tóxico para el parasitoides. De los tres evaluados, saponinas, Tween 20 y lauril sulfato de sodio al 0,1 y 1% en ensayo de ingestión, Tween 20 al 0,1% resultó el más apropiado. La mortalidad causada por las fracciones no superó el 12% en ningún ensayo. La capacidad benéfica tampoco fue modificada.

N. ZAPATA, P. MEDINA, F. BUDIA y E. VIÑUELA: Protección de Cultivos, E.T.S.I. Agrónomos, 28040. Madrid.

M. GONZÁLEZ: Departamento de Protección Vegetal. INIA. Carretera de la Coruña Km. 7,5. 28040. Madrid.

B. RODRÍGUEZ: Laboratorio de Productos Naturales. Instituto de Química Orgánica General. C.S.I.C. 28006. Madrid.

**Palabras clave:** *Psytalia concolor*, *Trichilia havanensis*, emulgentes, limonoides, efectos secundarios.

### INTRODUCCIÓN

Las propiedades insecticidas o repelentes de algunos extractos de plantas son conocidas desde antiguo, pero hasta hace poco tiempo solo eran empleados fundamentalmente de manera artesanal para cultivos de subsistencia en los países menos desarrollados (CAÑARATE, 2002). Actualmente las circunstancias han cambiado y existe una enorme presión para incrementar su empleo en todo tipo de agricultura ya que, en general, se les considera menos tóxicos que los pesticidas de síntesis y además las plagas tardan más tiempo en desarrollar resistencia debido a que los extractos están constituidos por un grupo de ingredientes activos de diversa naturaleza química (SILVA *et al.*, 2002).

Entre las sustancias de origen vegetal que han mostrado potente actividad insecticida actuando como reguladores del desarrollo y antialimentarios se encuentran los limonoides. Dentro de este grupo la azadiractina es la más conocida, ya que ha resultado efectiva contra numerosas plagas (SCHMUTTERER, 1990), pero también existen otros limonoides eficaces en el control, como la azadirona y la mezcla 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensina (4:1), compuestos aislados de semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. Este árbol crece en gran parte de Centroamérica y desde hace mucho tiempo algunos agricultores mexicanos usan sus frutos macerados para proteger del ataque de insectos, aves y roedores las semillas de maíz al momento de su siembra. Estos limonoides han mostrado efectividad contra lepidópteros noctuidos y coleópteros



Figura 1. Frutos y semillas de *Trichilia havanensis* Jacquin (Meliaceae)

(LÓPEZ-OLGUÍN, 1998; LÓPEZ-OLGUÍN *et al.*, 1998; ORTEGO *et al.*, 1998).

*Psytalia concolor* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae) es un parasitoide larvario-pupal, endófago de varios dípteros de la familia Tephritidae y uno de los principales agentes de control biológico de la mosca del olivo *Bactrocera oleae* Gmelin. Su reproducción en condiciones artificiales se ha venido efectuado con éxito desde hace ya varios años sobre la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* Wiedemann. Esto ha permitido efectuar liberaciones controladas en olivares mejorando el control biológico (JIMÉNEZ, 1989). Es una especie muy sensible al efecto de los plaguicidas (CROFT, 1990), lo que ha llevado a pensar que sería una especie bioindicadora muy adecuada para el estudio de los efectos secundarios de los plaguicidas (VIÑUELA *et al.*, 2000).

Para proponer el empleo de los extractos vegetales y fracciones de extractos como alternativas viables para el manejo integrado de las plagas es necesario evaluar previamente su impacto en el medioambiente y su efecto sobre las poblaciones de enemigos naturales. Por esta razón, el presente trabajo de investigación ha tenido como objetivo evaluar la toxicidad para el parasitoide *P. concolor* de dos fracciones acetónicas obtenidas de semillas de *T. havanensis* que contenían los limonoides azadirona y una mezcla en proporción 4:1 de 1,7 + 3,7-di-*O*-

acetilhavanensina, aplicados vía tópica e ingestión.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Insectos

En los ensayos se emplearon hembras de *P. concolor* de edad inferior a 24 horas que procedían de una cría a pequeña escala mantenida en condiciones de laboratorio. Su reproducción se efectuó sobre su huésped de sustitución *C. capitata* siguiendo el procedimiento descrito por JACAS & VIÑUELA (1994). La cría de los insectos y los experimentos realizados fueron mantenidos bajo condiciones controladas de temperatura ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ), humedad relativa ( $75\pm 5\%$ ) y fotoperíodo (16:8 L:O). Para facilitar su manejo, los insectos fueron anestesiados con frío durante 3 minutos lo que permitía un margen de manipulación de 5 minutos.

### Fracciones ensayadas

Se recolectaron semillas (Figura 1) de la especie arbórea *T. havanensis* en el año 2001 en Puebla (México). Tras una extracción con acetona y posterior cromatografía se separaron dos fracciones que correspondían principalmente (>95%) a los limonoides azadirona (F12) y a una mezcla de 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensina en proporción 4:1 (F18). Las fracciones fueron obtenidas en el Laboratorio de Productos Naturales del Centro de Química Orgánica de Madrid, CSIC.

### Bioensayos

Los experimentos se llevaron a cabo en cajas de plástico de 12 cm de diámetro por 5,5 cm de alto, con ventilación en la cara superior a través de una tela de visillo. Cada una de estas unidades representó una repetición. En todos los experimentos se emplearon 15 hembras de *P. concolor* de menos de 24 horas por cada réplica. A los insectos se les proporcionó alimento no tratado consistente en una mezcla 4:1 de azúcar molido y levadura de cerveza depositada en un recipiente de plástico de 2 ml. El agua de beber, o cuando correspondía, la solución tratada,

se les suministró por ascensión capilar a través de una mecha de bayeta que en su porción inferior estaba contenida dentro de un envase de vidrio de 10 ml cubierto con Parafilm.

Se estudió la mortalidad acumulada al tercer y séptimo día. Al tercer día de iniciado el tratamiento se extrajeron 2 hembras por cada réplica que fueron individualizadas en cajas acondicionadas para determinar capacidad benéfica durante los cuatro días siguientes, según el método desarrollado por JACAS & VIÑUELA (1994) y modificado por GONZÁLEZ *et al.* (1996). En cada experimento se establecieron 4 repeticiones por tratamiento.

Para clasificar la toxicidad de las fracciones y emulgentes se siguió la escala de la Organización Internacional para la Lucha Biológica (OILB) que, de acuerdo a la magnitud de reducción respecto al control, se define por un número que va del 1 al 4, siendo 1= inocuo (reducción <30%), 2= ligeramente tóxico (reducción 30-79%), 3= moderadamente tóxico (reducción 80-99%) y 4= tóxico (>99%) (HASSAN, 1994).

#### *Elección del emulgente*

Para suministrar las fracciones por ingestión a través del agua de bebida fue necesario previamente asegurar una suspensión estable. Para esto, además del disolvente (acetonitrilo) era necesario incorporar un emulgente que no fuera, en sí mismo, tóxico para los insectos. Se eligieron una serie de disolventes disponibles en el mercado como Tween 20, saponinas y Lauril sulfato de sodio. Se suministraron en el agua de bebida al 0,1 y 1,0 % durante todo el experimento *ad libitum* sin renovar las soluciones. Se agregó un control que consistía solamente en la administración de agua.

#### *Toxicidad de fracciones por ingestión*

Las fracciones F12 y F18 fueron formuladas junto con acetonitrilo al 1% y Tween 20 al 0,1%, dado que fue el emulgente menos tóxico. Los tratamientos consistieron en la administración *ad libitum* y en forma permanente, a través del agua de bebida, de los for-

mulados a una concentración de 1000 mg i.a./l. Se agregó un testigo absoluto que contenía solo agua y otro parcial que incluyó acetonitrilo al 1%, Tween 20 al 0,1% y agua.

#### *Toxicidad de fracciones por vía tópica*

Para la aplicación tópica las fracciones fueron disueltas en acetona a una concentración de 1000 mg i.a./l. A cada hembra se le aplicó en el protórax una gota de 0,5 µl mediante un microaplicador manual Arnold (Burkard, UK). Se añadió un control en el cual se aplicó solamente acetona. Una vez tratadas las hembras fueron depositadas en las cajas de plástico descritas previamente para su posterior seguimiento.

#### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos en todos los experimentos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y sus medias fueron comparadas mediante el test estadístico LSD con un nivel de confianza del 95 % (P<0,05) utilizando el programa estadístico Statgraphics (STSC, 1987).

## **RESULTADOS**

Los emulgentes suministrados vía ingestión a hembras de *P. concolor* presentaron reducida toxicidad al tercer día (Cuadro 1), independientemente de la concentración aplicada. En ningún tratamiento se alcanzó el 15% de mortalidad. Todos los emulgentes pudieron ser clasificados en categoría 1 según la OILB. En cambio, al séptimo día de tratamiento la mortalidad acumulada superaba el 70% en todos los casos, con excepción de Tween 20 al 0,1% que no difirió del control (categoría 1 OILB). El suministro de saponinas al 1% y Lauril Sulfato de Sodio en ambas concentraciones ocasionó una mortalidad superior al 95%.

En el cuadro 2 se observa la mortalidad al tercer y séptimo día de las hembras de *P. concolor* cuando se sometieron a la ingestión continua de los limonoides azadirona y 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensina, que en ningún caso superó el 12%. El suministro de limo-

Cuadro 1. Efecto de diferentes emulgentes aplicados por ingestión sobre la mortalidad de hembras de *P. concolor* menores de 24 horas de edad.

Producto	Dosis %	Mortalidad			
		Tercer día		Séptimo día	
		%	OILB <sup>1</sup>	%	OILB <sup>1</sup>
Control		5,0 ± 3,2 ab		18,3 ± 3,2 a	
Saponinas	0,1	1,7 ± 1,7 a	1	71,7 ± 1,7 b	2
	1,0	5,0 ± 3,2 a	1	98,3 ± 1,7 c	3
Tween 20	0,1	3,3 ± 3,3 ab	1	10,0 ± 5,8 a	1
	1,0	13,3 ± 7,2 ab	1	73,3 ± 12,8 b	2
L.S.S.	0,1	13,3 ± 4,7 b	1	95,0 ± 3,2 c	3
	1,0	3,0 ± 1,9 ab	1	100 ± 0,0 c	4

Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren significativamente entre sí, según test LSD ( $P \geq 0,05$ ). L.S.S.: Lauril sulfato de sodio. <sup>1</sup>Escala OILB: 1=inocuo (<30%); 2= ligeramente tóxico (30-79%); 3= moderadamente tóxico (80-99%); 4= tóxico (>99%).

Cuadro 2.- Efecto de la aplicación por ingestión en el agua de bebida de los limonoides azadirona (F12) y 1,7-di-O-acetilhanansina + 3,7-di-O-acetilhanansina en proporción 4:1 (F18) sobre la mortalidad y capacidad benéfica de *P. concolor*. Las hembras tratadas eran menores de 24 horas de edad.

Producto	Dosis mg i.a./l	Mortalidad		Capacidad benéfica		Categoría OILB <sup>3</sup>
		Tercer día %	Séptimo día %	Huéspedes atacados %	Descendencia %	
T. absoluto <sup>1</sup>		1,7 ± 1,7 a	3,3 ± 3,3 a	75,6 ± 11,3 a	44,5 ± 8,0 a	
T. parcial <sup>2</sup>		6,7 ± 2,7 a	11,7 ± 1,7 a	95,7 ± 1,3 b	62,8 ± 2,1 b	1
F12	1000	3,3 ± 3,3 a	5,0 ± 3,2 a	89,1 ± 1,9 ab	50,2 ± 4,5 ab	1
F18	1000	3,3 ± 1,9 a	11,7 ± 3,2 a	85,0 ± 2,6 ab	48,2 ± 5,9 ab	1

<sup>1</sup>Agua. <sup>2</sup>Acetonitrilo (1%) + Tween 20 (0,1%). Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren significativamente entre sí, según test LSD ( $P \geq 0,05$ ). <sup>3</sup>Escala OILB: 1=inocuo (<30%); 2= ligeramente tóxico (30-79%); 3= moderadamente tóxico (80-99%); 4= tóxico (>99%).

noides por ingestión tampoco afectó negativamente la capacidad benéfica del parasitoide al compararla con el tratamiento control (Cuadro 2), obteniéndose un porcentaje de huéspedes atacados superior al 75% y una descendencia del orden del 50%, lo que permite clasificarlos aplicando los coeficientes de reducción de la capacidad benéfica adoptados por la OILB en la categoría 1, es decir sin efecto tóxico.

Las hembras de *P. concolor* tratadas tópicamente con azadirona y 1,7 + 3,7-di-O-acetilhanansina registraron una mortalidad acumulada muy reducida al tercer día de tratamiento. Esta tendencia se mantuvo al séptimo día y no superó el 10% (Cuadro 3). La capacidad benéfica tampoco se vio disminu-

da (Cuadro 3), ya que el porcentaje de huéspedes atacados superó el 70% y la descendencia estuvo en torno al 50%. Dado que los compuestos aplicados de esta forma resultaron inocuos pueden ser clasificados en la categoría 1 de la OILB.

## DISCUSIÓN

### *Toxicidad de los emulgentes*

En este estudio se ha demostrado que Lauril sulfato de sodio y saponinas aplicados vía ingestión al 1% son muy tóxicos, cuando son ingeridos durante una semana por este parasitoide ocasionando mortalidades sobre el 98%. Aun cuando la finalidad de evaluar la toxicidad de los emulgentes era seleccio-

**Cuadro 3.- Efecto de la aplicación tópica de los limonoides azadirona (F12) y 1,7-di-O-acetilhananensina + 3,7-di-O-acetilhananensina en proporción 4:1 (F18) sobre la mortalidad y capacidad benéfica de *P. concolor*. Las hembras tratadas eran menores de 24 horas de edad.**

Producto	Dosis mg i.a./l	Mortalidad		Capacidad benéfica		Categoría OILB <sup>1</sup>
		Tercer día %	Séptimo día %	Huéspedes atacados %	Descendencia %	
Control		3,4 ± 1,9 a	10,0 ± 1,9 a	71,2 ± 10,5 a	35,3 ± 6,2 a	
F12	1000	3,3 ± 3,3 a	10,0 ± 3,3 a	87,0 ± 3,6 a	51,7 ± 3,9 b	1
F18	1000	6,7 ± 2,7 a	8,4 ± 4,2 a	85,5 ± 3,4 a	51,2 ± 4,4 b	1

Letras iguales en la misma columna indican que los valores no difieren significativamente entre sí, según test LSD ( $P \geq 0,05$ ).

<sup>1</sup>Escala OILB: 1=inocuo (<30%); 2= ligeramente tóxico (30-79%); 3= moderadamente tóxico (80-99%); 4= tóxico (>99%).

nar el menos tóxico y emplearlo en la formulación de los limonoides, es interesante establecer la toxicidad de este tipo de compuestos sobre *P. concolor* ya que son ampliamente utilizados en la formulación y aplicación de los pesticidas en la agricultura para mejorar su dispersión, penetración y prolongar la permanencia de numerosos compuestos aplicados sobre las plantas e insectos (HASSALL, 1982). Además, se sabe que algunos de estos compuestos resultan tóxicos para las abejas (GOODWIN & MCBRYDIE, 2000) y otros insectos (PIPER & MAXWELL, 1971).

Entre los emulgentes evaluados, las saponinas han demostrado tener por sí solas propiedades insecticidas al 0,1% contra el díptero *Aedes aegypti*, siendo consideradas larvicidas naturales (PELAH *et al.*, 2002). Lauril sulfato de sodio también ha resultado efectivo contra *Culex pipiens* (PIPER & MAXWELL, 1971). Estos antecedentes concuerdan con la toxicidad que han manifestado en este estudio.

#### *Toxicidad de las fracciones*

En los experimentos efectuados, los limonoides azadirona y 1,7 + 3,7-di-O-acetilhananensina resultaron ser inocuos para el parasitoide *P. concolor*, sin importar cómo fueron suministrados; no incrementaron la mortalidad ni afectaron a su capacidad benéfica. En otros estudios desarrollados con el fin de evaluar sus efectos secundarios tampoco han mostrado toxicidad, como se ha observado en adultos del depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens) cuando fueron

aplicados por vía tópica e ingestión (HUERTA *et al.*, 2003; 2004). De igual modo no se observó ningún efecto negativo en ninfas del chinche depredador *Podisus maculiventris* (Say) pasadas 72 horas de iniciado el tratamiento por ingestión (datos no publicados).

La ausencia de toxicidad que presentaron los limonoides aquí estudiados contrasta con resultados encontrados para este mismo parasitoide con la azadiractina, otro limonoide que al ser suministrado en dosis de 48 mg i.a./l por ingestión y en condiciones de laboratorio afectó negativamente su capacidad benéfica y su longevidad (GONZÁLEZ & VIÑUELA, 1997; VIÑUELA *et al.* 2000; 2001), aunque resultó inocuo cuando se aplicó en condiciones de semicampo (GONZÁLEZ, 1998).

Los resultados aquí obtenidos permiten señalar que los limonoides azadirona y la mezcla de 1,7 + 3,7-di-O-acetilhananensina (4:1) son inocuos para el parasitoide *P. concolor*, no siendo necesario realizar ensayos de semicampo según la recomendación OILB para el estudio de los efectos secundarios de los plaguicidas.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CAYCIT-AGL 2001-1652-CO2-02. Nelson Zapata San Martín agradece a MIDEPLAN CHILE y a la Fundación FORD por beca predoctoral concedida.

## ABSTRACT

ZAPATA N., P. MEDINA, M. GONZÁLEZ, F. BUDIA, B. RODRÍGUEZ, E. VIÑUELA. 2004. Toxicity of azadirone and 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensin (4:1) on *Psytalia concolor* (Szèpligeti) adults (Hym.: Braconidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 783-789.

The toxicity of the limonoids azadirone (F12) and 1,7 + 3,7-di-*O*-acetilhavanensin in proportion 4:1 (F18) was evaluated on *P. concolor* females. They were tested by both, topical and ingestion exposure, at 1000 mg i.a/l. In order to dissolve limonoids in water correctly, it was precise to select previously a non toxic surfactant. Of the three evaluated by ingestion: saponins, Tween 20 and sodium lauryl sulphate at 0.1 and 1%, Tween 20 at 0.1% was the most appropriate. Neither mortality nor beneficial capacity were significantly affected by the two limonoids assessed.

**Key words:** *Psytalia concolor*, *Trichilia havanensis*, surfactants, limonoids, side-effects.

## REFERENCIAS

- CAÑARATE, E. 2002. Oportunidad de los insecticidas vegetales e el manejo racional de cultivos rentables. En: Memoria de Simposio Internacional de Insecticidas. (G. Silva y R. Hepp eds.). Chillán, Chile. pp. 24-47.
- CROFT, B.A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. John Wiley & Sons Inc. USA. 273 pp.
- GONZÁLEZ, M. 1998. Uso conjunto de plaguicidas y enemigos naturales en el olivar. Optimización del manejo de *Opius concolor* Szèpligeti, parasitoide de la mosca del olivo, *Bactrocera oleae* (Gmelin). Tesis doctoral. E.T.S.I. Agrónomos. U.P. Madrid.
- GONZÁLEZ, M., JACAS, J., JIMÉNEZ, A., VIÑUELA, E. 1996. Optimización de la cría de *Opius concolor* Szèpl. Mediante la utilización de bajas temperaturas durante su desarrollo pre-imaginal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **22**: 107-114.
- GONZÁLEZ, M., VIÑUELA, E. 1997. Effects of two modern pesticides: azadirachtin and tebufenozide on the parasitoid *Opius concolor* (Szèpligeti). *IOBC/WPRS Bull.* **20**: 233-240.
- GOODWIN, R., MCBRYDIE, H. 2000. Effect of surfactants on honey bee survival. *New Zealand Plant Protection*, **53**: 230-234.
- HASSALL, K. 1982. The chemistry of pesticides: their metabolism, mode of action and uses in crop protection. Verlag Chemie. Florida. USA. 371 pp.
- HASSAN, S. 1994. Activities of the IOBC/WPRS working group "Pesticides and Beneficial Organisms". *IOBC/WPRS Bull.*, **17**: 1-5.
- HUERTA, A., MEDINA, P., CASTAÑEDA, P., VIÑUELA, E. 2003. Lab studies with *Trichilia havanensis* Jacq., a botanical pesticide, and adults of *Chrysoperla carnea* (Stephens). *IOBC/WPRS Bull.* **26**: 25-32.
- HUERTA, A., MEDINA, P., CASTAÑEDA, P., VIÑUELA, E. 2004. Topical toxicity of two acetone fractions of *Trichilia havanensis* Jacq., and four insecticides to larvae and adults of *Chrysoperla carnea* (Stephens). *Comm. Appl. Biol. Sci.* **68**: 277-286.
- JIMÉNEZ, A. 1989. La utilización de *Opius concolor* en la lucha contra la mosca de la aceituna, *Dacus oleae*. Tesis Doctoral, E.T.S.I. Agrónomos, U.P.M. Madrid. 289 pp.
- JACAS, J., VIÑUELA, E. 1994. Analysis of a laboratory method to test the effects of pesticides on adults females of *Opius concolor*, a parasitoid of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) Dip., Tephritidae). *Biocontrol Sci. Technol.* **4**: 147-154.
- LÓPEZ-OLGUÍN, J. 1998. Actividad y modo de acción de productos de *Trichilia havanensis* Jacq. y *Scutellaria alpina* subsp. Javalambrensis (Pau), sobre *Leptohinotarsa decemlineata* (Say) y *Spodoptera exigua* (Hübner). Tesis Doctoral, U P Madrid. 137 pp.
- LÓPEZ-OLGUÍN, J., DE LA TORRE, M., VIÑUELA, E., CASTAÑEDA, P. 1998. Actividad de extractos de semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. sobre larvas de *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**: 629-636.
- ORTEGO, F., LÓPEZ-OLGUÍN, J., RUIZ, M., CASTAÑEDA, P. 1998. Effects of toxic and deterrent terpenoids on digestive protease and detoxification enzyme activities of colorado potato beetle larvae. *Pestic. Biochem. Physiol.* **63**: 76-84.
- PELAH, D., ABRAMOVICH, Z., MARKUS, A., WIESMAN, Z. 2002. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *J. Ethnopharmac.* **81**: 407-409.
- PIPER, W., MAXWELL, K. 1971. Mode of action of surfactants on mosquito pupae. *J. Econ. Entomol.* **64**: 601-606.
- SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the Neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* **35**: 271-297.
- SILVA, A., LAGUNES, A., RODRÍGUEZ, J., RODRÍGUEZ, D. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, **66**: 4-12.
- STSC. 1987. *User's Guide Statgraphics*. Graphic software system STSC Inc., Rockville, MD, USA.
- VIÑUELA, E., MEDINA, P., SCHNEIDER, M., GONZÁLEZ, M., BUDIA, F., ADÁN A., DEL ESTAL, P. 2001. Comparison of side-effects of spinosad, tebufenozide and

azadirachtin on the predators *Chrysoperla carnea* and *Podisus maculiventris* and the parasitoids *Opius concolor* and *Hyposoter didymator* under laboratory conditions. *IOBC/WPRS Bull.* **24**: 25-34.

VINUELA, E., ADÁN, A., SMAGGHE, G., GONZÁLEZ, M., MEDINA, P., VOGT, H., DEL ESTAL, P. 2000. Laboratory effects of ingestion of azadirachtin by two pests

(*Ceratitis capitata* and *Spodoptera exigua*) and three natural enemies (*Chrysoperla carnea*, *Opius concolor* and *Podisus maculiventris*). *Biocontrol Sci. Technol.* **10**: 165-177.

(Recepción: 18 febrero 2004)  
(Aceptación: 3 junio 2004)