

EFFECTO TÓXICO DEL SAÚCO, *Sambucus peruviana* (CAPRIFOLIACEAE), EN *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais* Y *Copidosoma koehleri* EN PERÚ

TOXIC EFFECT OF PERUVIAN ELDERBERRY, *Sambucus peruviana* (CAPRIFOLIACEAE), ON *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais*, AND *Copidosoma koehleri* IN PERU

Amid Román-Farje¹, José Iannacone^{1,2*}, y Lorena Alvarino¹

¹Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCNNM), Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El Agustino, Lima, Perú.

²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma (URP), Santiago de Surco, Lima, Perú

* Autor para correspondencia E-mail: joseiannacone@gmail.com

RESUMEN

El uso de extractos de plantas con propiedades insecticidas es una alternativa al uso de agroquímicos sintéticos. Se evaluó el efecto tóxico del saúco, *Sambucus peruviana* Kuhnt (Caprifoliaceae), en el crustáceo pulga de agua, *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Daphniidae) y la microavispa *Copidosoma koehleri* Blanchard (Hym.: Encyrtidae). La hoja, corteza y raíz de saúco se evaluaron en maceración en agua, cocción, infusión y maceración en alcohol etílico. También se evaluó el efecto del polvo de corteza en el gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Col.: Curculionidae). Los mayores efectos de toxicidad para *D. magna* se produjeron con la infusión de hojas. Los adultos de *C. koehleri* fueron más sensibles a la infusión de raíces. La emergencia de las microavispas adultas disminuyó con la cocción de hojas. Los estados larvarios y pupas no emergidos fueron afectados por la cocción y maceración de hojas. También se observó repelencia, de mayor nivel con la maceración en alcohol etílico de hojas y raíces. El polvo de corteza causó mortalidad en *S. zeamais*. También hubo efectos de la maceración, cocción e infusión de la corteza en el porcentaje de granos dañados, los que perdieron < del 3% de su peso. El efecto insecticida y repelente del polvo y la cocción de la corteza de *S. peruviana* es importante por su efecto en *S. zeamais*, pero no así las hojas y raíces, por sus efectos negativos en el ambiente acuático de *D. magna* y en el control biológico por *C. koehleri*.

Palabras clave: Grano almacenado, efecto insecticida, efecto repelente, insecticida botánico.

ABSTRACT

Some extracts of plants with insecticidal properties are used on pest control as an alternative to synthetic agrochemicals. The objective of this study was to evaluate the toxic effect of Peruvian elderberry, *Sambucus peruviana* Kuhnt (Caprifoliaceae), on the water flea *Daphnia magna* Straus, the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Col.: Curculionidae), and the microhymenopteran *Copidosoma koehleri* Blanchard (Hym.: Encyrtidae). Plant leaves, bark, and roots were treated by maceration in water, boiling, infusion and maceration in ethyl alcohol. The insecticidal activity of root and bark powders against *Sitophilus zeamais* was also evaluated. The highest repellent activity against *D. magna* was observed with the use of leaf infusion. Adults of *C. koehleri* were more sensitive to root infusion. Adult emergence of this parasitoid decreased with leaves macerated in water. Larvae and pupae did not emerge with leaf treatments by maceration and boiling. Higher levels of repellency were observed with leaves and roots treated by maceration in ethyl alcohol.

Bark powder caused mortality of *S. zeamais*. Bark treated by maceration, boiling, and as an infusion also had effects on the percentage of damaged grains, resulting in a < 3% weight loss. It can be concluded that unlike *S. peruviana* leaves and roots, both powder and boiled bark have insecticidal and repellent effects against *S. zeamais*.

Key words: Insecticidal effect, plant insecticide, repellent effect, stored grain.

INTRODUCCIÓN

Algunas plantas con propiedades insecticidas se utilizan en el control de plagas agrícolas como alternativa al uso de agroquímicos, los que tienen consecuencias negativas en el agroecosistema y las personas, aumentan el costo de producción, y pueden causar desequilibrios ecológicos al afectar a los enemigos naturales de las plagas y especialmente los ecosistemas acuáticos (Iannacone et al., 2007; Akob and Ewete, 2007; Iannacone y Alvarino, 2010).

Los plaguicidas botánicos se pueden utilizar en conjunto con la fauna benéfica para regular las plagas. Las plantas con estas propiedades deben fomentarse ya que causan un menor impacto ecotoxicológico acuático y terrestre, por lo que el conocimiento de los efectos tóxicos y repelentes de los extractos botánicos sobre organismos acuáticos y la fauna benéfica es indispensable para su utilización (Iannacone et al., 2015). Por otra parte, la demanda creciente de alimentos orgánicos y el uso de los insecticidas locales de origen botánico ha aumentado globalmente (Juárez-Flores et al., 2010; Nuñez et al., 2010).

Sauco *Sambucus peruviana* HBK (Caprifoliaceae) es una planta andina utilizada por su sombra y valor ornamental, distribuida desde Costa Rica hasta el cono sur, entre 2000 y 4000 msnm. Sus frutos sirven de alimento, su follaje tiene propiedades afrodisíacas y medicinales para el hombre, y su madera es de alta calidad. Los extractos de flores y hojas presentan actividad antimicrobiana (Díaz et al., 2004; Cruz et al., 2011). Los principios activos son taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, alcaloides, mucílagos, catequinas, quinonas, lactosas, cumarinas y antocianinas (Alvarado-Chávez, 2007; Ruiz et al., 2013; Natividad-Bardales et al., 2014; Torres et al., 2015).

El crustáceo *Daphnia magna* Straus se utiliza en ensayos para evaluar la toxicidad de xenobióticos (Díaz et al., 2004; APHA, 2012). Este organismo es fácil de desarrollar en laboratorio, tiene un ciclo vital corto, representa al zooplancton en estudios ecotoxicológicos y permite determinar el riesgo ambiental acuático (Iannacone et al., 2007; Iannacone et al., 2014).

El gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) es una plaga clave del maíz en almacenamiento, donde

causa daño significativo si no se le controla (Rodríguez-Cobos y Iannacone 2012). Se ha evaluado el efecto insecticida de diversas plantas promisorias para el control de este gorgojo (Iannacone y Quispe, 2004; Iannacone et al., 2004; Tapondjou et al., 2005; Nuñez et al., 2010; Fedaku et al., 2012).

Copidosoma koehleri Blanchard es un parasitoide nativo de Sudamérica con poliembrionía, que actúa especialmente sobre los huevecillos del complejo de polillas de la papa (Keasar y Steinberg, 2008; Segoli et al., 2009). Sobre esta microavispa se ha evaluado el efecto tóxico de diversos plaguicidas sintéticos y extractos botánicos (Iannacone y Lamas, 2003; Iannacone et al., 2007).

En este trabajo se evaluó el efecto tóxico de preparados en agua y alcohol etílico de hojas, raíces y corteza de *S. peruviana* en *D. magna*, *S. zeamais* y *C. koehleri*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El Agustino, Lima, Perú.

Material biológico

Sambucus peruviana. La selección de plantas, preparación de las muestras y obtención del polvo seco y extractos botánicos crudos siguieron el protocolo de Iannacone et al. (2014). Las plantas se colectaron en el Distrito de Viques (12°4' S, 75°13' W), Provincia de Huancayo Junín, Perú. Para los tratamientos se utilizaron hojas, corteza y raíces. Para la preparación en seco, las partes de la planta se secaron 96 h en estufa a 37°C. Las hojas secas se pulverizaron en un mortero (Haldenwanger®), y las raíces y corteza en un molinillo. Los polvos se pasaron por dos tamices, de 400 y 500 µm, y se sellaron en frascos de vidrio ámbar para evitar la fotólisis, se rotularon y se mantuvieron en refrigeración hasta los bioensayos (Iannacone et al., 2014).

Los polvos se utilizaron para preparar extractos acuosos de los compuestos hidrosolubles con agua destilada por al menos 7 d con aireación, todos al 20% (concentración referencial máxima), por maceración en agua, cocción e infusión, y un extracto con alcohol etílico. Luego se filtraron con papel Whatman® N° 5. En los bioensayos se utili-

zaron sólo extractos en agua de hasta 72 h desde la preparación, para evitar pérdidas de calidad por microorganismos fúngicos (Iannacone et al., 2014). Todos los tratamientos se hicieron a la temperatura del laboratorio.

***Daphnia magna*.** Los ejemplares se obtuvieron de un acuario en el distrito de San Isidro, Lima, Perú, que se llevaron al laboratorio y pusieron en recipientes de 2 L a $\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$, según el procedimiento de Díaz et al. (2004) mientras duraron los bioensayos. Solo se utilizaron individuos neonatos (< 24 h) (Iannacone et al., 2014).

***Sitophilus zeamais*.** La crianza de laboratorio se inició a partir de una población de adultos que se obtuvo de maíz desde un mercado del distrito de Surquillo, Lima, Perú, los que se llevaron a envases plásticos de 1 L, de 11,5 cm de alto, 10 cm de diámetro de base y 12,5 cm de diámetro superior (Rodríguez-Cobos y Iannacone, 2012), que se mantuvieron en cámara a $\sim 22 \pm 2^\circ\text{C}$ para su reproducción y obtener los adultos para los bioensayos. Los experimentos de 3–7 d se hicieron con adultos no sexados escogidos al azar desde la crianza (Iannacone et al., 2004; Tapondjou et al., 2005).

***Copidosoma koehleri*.** Los ejemplares se obtuvieron del CIP (Centro Internacional de la Papa), Lima, Perú, y se criaron en laboratorio sobre larvas de *Phthorimaea operculella* Zeller a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y fotoperíodo 12:12 (Iannacone et al., 2007).

Bioensayos con polvos secos. De los envases de crianza se escogieron al azar adultos no sexados de *S. zeamais*, sobre 10 g de maíz en envases plásticos de 2,5 cm de alto, 2,3 cm de ancho y 3,3 cm de largo), con cuatro repeticiones del tratamiento a la mayor concentración ($1,6 \text{ g } 10 \text{ g maíz}^{-1}$) y un control con agua destilada. Se agregaron los polvos secos en cada repetición, y se pusieron 10 gorgojos en cada envase. Las evaluaciones se hicieron cada 24 h durante 5 d (= 120 h), para determinar el efecto tóxico de los polvos secos sobre el gorgojo (Iannacone et al., 2004). Se calculó el porcentaje de pérdida de peso (Pp) de granos dañados (Ngd) con respecto al total de granos (Ntg) por envase, mediante la fórmula $Pp = (\text{Ngd}/\text{Ntg}) * 100 * C$, donde C es una constante con valor 0,125 si el maíz está almacenado como grano suelto o mazorca sin chalas, como en los bioensayos, o 0,222 si el maíz está almacenado como mazorca con ellas. El bioensayo de toxicidad de polvos secos no se hizo sobre *D. magna* ni *C. koehleri*.

Maceración. Los extractos en agua destilada se prepararon a 20 g por 100 mL agua (pH = 7,2; CE = 0,86 dS cm^{-1} ; Calcio = 6,17 me L^{-1} ; Magnesio = 1,26

me L^{-1} ; Potasio = 0,10 me L^{-1} ; Sodio = 1,58 me L^{-1} ; Nitratos = 0,10 me L^{-1} ; Carbonatos = 0,00 me L^{-1} ; Bicarbonatos = 3,55 me L^{-1} ; Sulfatos = 2,30 me L^{-1} ; Cloruros = 2,40 me L^{-1} ; RAS = 0,81 me L^{-1} ; Boro = 0,50 me L^{-1} ; Dureza = 362 mg L^{-1}) y la maceración se hizo por espacio 5 d. Luego se filtró en papel Whatman® N° 5).

Para *D. magna* se utilizaron envases con 100 mL de la solución al 20% de concentración. Se utilizaron individuos-neonatos de hasta 24 h de edad (Iannacone et al., 2014). En cada envase se pusieron cinco individuos más un control sólo con agua potable reposada al menos una semana, con cuatro repeticiones. La toxicidad de los tratamientos se evaluó luego de 48 h.

Para *S. zeamais* se pusieron 10 g de maíz remojados previamente 5 seg para cada repetición, sobre papel tissue® para el secado a temperatura ambiente. Luego se agregaron 10 individuos de cada especie en cada envase plástico con cuatro repeticiones más el control sólo con agua destilada. Las evaluaciones de mortalidad se hicieron cada 24 h durante 5 d (= 120 h), para determinar el efecto de los extractos acuoso.

Para *C. koehleri* se utilizaron larvas momificadas de 25 d desde la parasitación, y adultos de ≤ 24 h de edad. Se realizaron dos pruebas de toxicidad, por contacto residual y por inmersión.

Toxicidad por contacto residual para adultos. Los adultos de la microavispa se utilizaron para un bioensayo con frascos de vidrio de 2,2 cm de radio y 4 cm de altura, de 12,5 μL , a los que se agregaron las concentraciones con una pipeta con puntas descartables, y luego se esparcieron homogéneamente con hisopos separados sobre la superficie interna. Los viales se secaron a temperatura ambiente por 2 h o alternativamente en estufa a 35°C durante 1 h con sus respectivos tapones de algodón. Los experimentos con *C. koehleri* se hicieron con adultos < 24 h de edad. Las microavispas se alimentaron hasta 2-3 h antes del tratamiento con solución de sacarosa 1:1. Se utilizaron machos y hembras indistintamente desde los frascos de emergencia de adultos. Estos se consideraron muertos cuando no se posaron sobre el vial y se encontraron en el fondo con las patas hacia arriba, durante 10 s de observación bajo aumento. Tanto el control como los tratamientos utilizaron agua reposada, con cuatro frascos (uno por repetición). Se usaron 20 adultos por cada sustancia evaluada y cinco adultos por repetición más el control. Para los ensayos de toxicidad aguda, los frascos se mantuvieron en condiciones de cría y oscuridad señaladas por Iannacone et al. (2007) y se observó la mortalidad acumulada a varias h desde la exposición. Las lecturas se hicieron siempre cuando la mortalidad en el control fue < 10%.

Toxicidad por inmersión. Las aplicaciones se hicieron sobre larvas momificadas de *P. operculella* parasitadas por *C. koehleri* por inmersión de 5 s en los extractos botánicos en placas Petri de plástico. Luego de la inmersión las larvas parasitadas se pusieron 10 min en papel tissue® para absorber el exceso de solución y se dejaron secar 1 h a temperatura ambiente. Se trataron 10 larvas parasitadas, que se pusieron en frascos de 1 cm de radio y 5 cm de altura (Iannacone et al., 2007). Las lecturas se hicieron hasta la emergencia cercana al 100% de los adultos de *C. koehleri* de las larvas momificadas de *P. operculella* en el control. El porcentaje de emergencia de *C. koehleri* se calculó contando el número de microavispa 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 larvas y pupas de *C. koehleri*) (Iannacone et al., 2007).

Cocción e infusión acuosa. Se prepararon extractos acuosos por cocción de 20 g de muestra por 100 mL de agua destilada, durante 10 min. Las infusiones de los extractos acuosos se prepararon con 20 g de muestra por 100 mL de agua destilada, hirviendo agua reposada a 100°C y una vez a esta temperatura se retiró el calor y se agregó inmediatamente los extractos hasta que enfriaron. El procedimiento de bioensayo fue el mismo que con la maceración.

Maceración con alcohol etílico. La extracción se hizo con alcohol etílico absoluto, desde una solución madre al 20%, con maceración por 5 d. El procedimiento de bioensayo fue el mismo que para la maceración, más un control extra sólo con alcohol etílico al 20% y otro con agua.

Repelencia. Los efectos de repelencia de los bioensayos contra *S. zeamais* se evaluaron usando el método del área preferente (McDonald et al., 1970), con papel filtro Whatman N° 1 de 6,2 cm de radio cortado por la mitad (120,76 cm²). Se prepararon diluciones acuosas al 20% de cada tratamiento por maceración, cocción e infusión, y por maceración en etanol. Cada solución se aplicó uniformemente a la mitad del papel filtro a la dosis mayor, y la otra mitad del papel para el control se trató con agua destilada. Los papeles filtros se airearon 10 min para evaporar el solvente, y se pegaron con cinta adhesiva en placas Petri. Luego se pusieron 20 gorgojos adultos no sexados en el centro de la placa, que se mantuvo en condiciones de cría y oscuridad señaladas por Iannacone et al. (2007), con cuatro repeticiones. Los gorgojos presentes, en el área

control (Nc) y en el área tratada (Nt) se contaron a las 2 h. El porcentaje de repelencia (PR) se determinó según la fórmula $PR = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] * 100$. El porcentaje de repelencia de cada tratamiento se asignó de 0 a V clases de repelencia (Juliana y Su, 1983): clase 0 (PR < 0,1%), clase I (PR < 0,1-20%), clase II (PR < 20,1-40%), clase III (PR < 40,1-60%), clase IV (PR < 60,1-80%) y clase V (PR < 80,1-100%). También se utilizó el Índice de Repelencia (IR), que clasifica al tratamiento como neutro si el índice es = a 1, atrayente si es > a 1 y repelente si es < 1, según la fórmula $IR = 2G / (G+P)$, donde G: porcentaje de insectos en el tratamiento, y P: porcentaje de insectos en el testigo. Se consideraron promisorios los tratamientos que presentaron 40% de mortalidad (Lagunes, 1994).

Diseño experimental y tratamiento estadístico. Para *D. magna*, las pruebas de toxicidad se evaluaron en cinco concentraciones (1,25; 2,5; 5; 10 y 20% de extractos de hojas, corteza y raíces en cuatro tratamientos: maceración, cocción e infusión en agua, y maceración en alcohol etílico, más el control, con cuatro repeticiones, en un diseño de 6 tratamiento en 4 bloques completamente aleatorizados. Las concentraciones letales medias (CL₅₀s) se calcularon con el software Probit versión 1,5 (USEPA, 1993).

Para *S. zeamais* y *C. koehleri*, las pruebas de toxicidad se hicieron a una sola concentración del 20% de extractos de hoja, corteza y raíces y cuatro tratamientos: maceración, cocción e infusión en agua, y maceración en alcohol etílico, más el control, con cuatro repeticiones. En el bioensayo con *C. koehleri* se evaluaron 13 tratamientos x 4 repeticiones en un diseño de bloques completamente aleatorizados. Para *S. zeamais* solamente se incluyó un tratamiento con polvos secos de hojas, corteza y raíces, con 16 tratamientos x 4 repeticiones. Para el ensayo por inmersión de adultos emergidos, no emergidos y formas larvarias y pupas no emergidas de *C. koehleri* se utilizó un ANDEVA completamente aleatorizado de 13 tratamientos x 10 repeticiones. Para estabilizar el error de la varianza, la eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un modelo aditivo lineal, previa transformación por log(x+1) de los resultados de mortalidad de adultos (%) de *S. zeamais*, de granos dañados (%) y pérdida de peso (%) del grano de maíz por *S. zeamais*, de la mortalidad de adultos (%) de *C. koehleri*, de adultos emergidos, no emergidos y de larvas y pupas de *C. koehleri*). Los promedios de los tratamientos se separaron con la prueba de Tukey. Los análisis se hicieron con programa estadístico SPSS 21.0 para Windows XP (IBM, 2011).

RESULTADOS

***Daphnia magna*.** A 48 h de la exposición los CL_{50} para *D. magna* en $g L^{-1}$ indican que los cuatro tratamientos con mayor toxicidad fueron la infusión en agua de hojas, la cocción en agua de raíces, la cocción en agua de hojas y la maceración en agua de hojas (Tabla 1).

***Sitophilus zeamais*.** No se encontraron diferencias significativas en la mortalidad de *S. zeamais* entre los 15 tratamientos en base a *S. peruviana* y el control a las 24 y 48 h desde la exposición (Tabla 2). A las 72 h de la exposición solo se encontraron diferencias en la mortalidad de *S. zeamais* entre la cocción de la corteza y el control. A las 96 y 120 h de la exposición, solo el polvo de

Tabla 1. Valores de CL_{50} de los extractos de hoja, corteza y raíz de *Sambucus peruviana* sobre la pulga de agua *Daphnia magna* a 48 h de exposición.

Table 1. LC_{50} values of leaf, bark and root extracts of *Sambucus peruviana* on the water flea *Daphnia magna* at 48 h of exposure.

Tratamientos	CL_{50} $g-L^{-1}$
Hojas maceradas en agua	6,00
Hojas cocidas	5,15
Hojas en infusión	0,44
Hojas maceradas en alcohol	11,00
Corteza macerada en agua	13,40
Corteza cocida	22,80
Corteza en infusión	11,00
Corteza macerada en alcohol	8,00
Raíz macerada en agua	12,11
Raíz cocida	3,00
Raíz en infusión	8,94
Raíz macerada en alcohol	8,00

Tabla 2. Efecto tóxico de diferentes tratamientos de hoja, corteza y raíz de *Sambucus peruviana* sobre la mortalidad del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) hasta 120 h de exposición.

Table 2. Toxic effect of different treatments of leaf, bark and root of *Sambucus peruviana* on the mortality of maize weevil (*Sitophilus zeamais*) up to 120 h of exposure.

Tratamientos	Mortalidad (%)				
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Blanco con agua	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Hojas secas en polvo	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Hojas maceradas en agua	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,50 a
Hojas cocidas	0,00 ± 0,00 a	2,50 ± 0,25 a	5,00 ± 0,28 ab	5,00 ± 0,28 a	17,5 ± 0,47 a
Hojas en infusión	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	2,50 ± 0,25 ab	2,50 ± 0,25 a	2,50 ± 0,25 a
Hojas maceradas en alcohol	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,50 a	5,00 ± 0,50 ab	7,50 ± 0,75 a	7,50 ± 0,75 a
Corteza seca en polvo	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,28 ab	27,50 ± 0,63 b	27,50 ± 0,63 b
Corteza macerada en agua	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,28 a	7,50 ± 0,48 ab	10,00 ± 0,70 a	10,00 ± 0,70 a
Corteza cocidas	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	12,50 ± 0,25 b	15,00 ± 0,28 ab	15,00 ± 0,28 ab
Corteza en infusión	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Corteza macerada en alcohol	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,50 a
Raíz seca en polvo	0,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,50 a	7,50 ± 0,48 ab	7,50 ± 0,48 a	12,50 ± 0,95 a
Raíz maceradas en agua	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Raíz cocidas	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Raíz en infusión	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Raíz maceradas en alcohol	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a

Promedio ± error estándar.

Promedios en la misma fila con la misma letra no difieren significativamente ($P \leq 0,05$), según test de Tukey.

corteza presentó diferencias significativas con el control. Todos los tratamientos con raíces y hojas no tuvieron efecto en la mortalidad de *S. zeamais*. Los porcentajes de granos dañados de los tratamientos por maceración, cocción e infusión en agua de la corteza, presentaron los mayores porcentajes de granos dañados, con diferencias significativas con el control (Tabla 3). No se encontraron pérdidas significativas de peso del grano por *S. zeamais* entre todos los tratamientos en comparación con el control. Las pérdidas de grano de maíz fueron < al 3% de peso. Ninguno de los tratamientos tuvo una repelencia hacia *S. zeamais* mayor al nivel II (PR < 20,1-40%), clase que sólo se observó en la maceración en etanol de hojas y raíces (Tabla 4). Tres tratamientos fueron atrayentes (25%) y nueve repelentes (75%). El tratamiento más repelente fue el de maceración en etanol de raíces.

Copidosoma koehleri. El ensayo por contacto residual en adultos de *C. koehleri* presentó diferencias entre la infusión de raíces y el control entre 3 y 48 h desde la exposición (Tabla 5). También a las 48 h de exposición, los extractos de maceración en etanol de la corteza y en agua de raíces causaron mortalidades de *C. koehleri* mayores al control.

También se encontraron diferencias entre los tratamientos de los adultos emergidos con maceración en agua de la corteza, infusión en agua de raíces, maceración en agua de raíces y maceración en agua de hojas y el control (Tabla 6).

DISCUSIÓN

Daphnia magna. El rango de CL₅₀ observado para *D. magna* con los extractos de *S. peruviana* en el presente trabajo fue amplio (0,44 - 22,8 g L⁻¹). El CL₅₀ menor a las 48 h se obtuvo con la infusión de hojas. Este crustáceo se ha utilizado para evaluar muchas sustancias en ambientes acuáticos en Perú (Núñez y Hurtado, 2005; Iannacone et al., 2008). La actividad en estos ambientes de los extractos vegetales se relaciona con algunos factores intrínsecos y extrínsecos, tales como la especie y variedad de la planta, período de recolección, parte cosechada y forma de preparación, extracción y uso en el campo y calidad físico-química del recurso acuático (Iannacone et al., 2007; 2008).

Sitophilus zeamais. A 96 y 120 h desde la exposición, sólo el polvo de corteza presentó diferencias significativas en la mortalidad de *S. zeamais*

Tabla 3. Granos dañados y pérdida de peso del grano de maíz por gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) con tratamientos de hoja, corteza y raíz de *Sambucus peruviana* hasta 120 h de exposición.

Table 3. Damaged grains and weight loss of corn grain by maize weevil (*Sitophilus zeamais*) under different treatments of leaf, bark and root of *Sambucus peruviana* up to 120 h of exposure.

Tratamientos	Granos dañados	Pérdida de peso del grano	
		%	
Blanco con agua	0,78 ± 0,07 a	1,56 ± 0,17 a	
Hojas secas en polvo	0,42 ± 0,08 a	0,95 ± 0,66 a	
Hojas maceradas en agua	0,49 ± 0,15 a	0,95 ± 0,02 a	
Hojas cocidas	0,42 ± 0,10 a	2,32 ± 1,04 a	
Hojas en infusión	0,38 ± 0,06 a	0,85 ± 0,58 a	
Hojas maceradas en alcohol	0,41 ± 0,06 a	0,75 ± 0,25 a	
Corteza seca en polvo	0,74 ± 0,21 a	0,50 ± 0,28 a	
Corteza macerada en agua	2,32 ± 0,34 bc	2,43 ± 0,87 a	
Corteza cocida	2,51 ± 0,40 c	2,75 ± 0,27 a	
Corteza en infusión	2,61 ± 0,23 c	1,25 ± 0,24 a	
Corteza macerada en alcohol	0,49 ± 0,15 a	0,98 ± 0,01 a	
Raíz seca en polvo	0,81 ± 0,15 a	1,17 ± 0,53 a	
Raíz macerada en agua	1,32 ± 0,21 abc	1,39 ± 0,53 a	
Raíz cocida	0,58 ± 0,09 a	0,88 ± 0,03 a	
Raíz en infusión	0,57 ± 0,09 a	0,88 ± 0,03 a	
Raíz macerada en alcohol	1,13 ± 0,49ab	2,13 ± 2,13 a	

Promedio ± error estándar.

Promedios en la misma fila con la misma letra no difieren significativamente (P ≤ 0,05), según test de Tukey.

Tabla 4. Índice, porcentaje y clase de repelencia de los tratamientos en base a *Sambucus peruviana* sobre el gorgojo del maíz.**Table 4. Index, percentage, and repellence class of the treatments with *Sambucus peruviana* on the maize weevil.**

Tratamientos	Índice de repelencia	Repelencia (%)	Clase de repelencia
Hojas maceradas en agua	0,92 R	7,73	I
Hojas cocidas	1,18 A	- 17,70	0
Hojas en infusión	1,10 A	- 10,00	0
Hojas maceradas en alcohol	0,80 R	30,00	II
Corteza maceradas en agua	0,80 R	19,20	I
Corteza cocida	0,95 R	5,13	0
Corteza en infusión	0,92 R	2,74	0
Corteza macerada en alcohol	0,92 R	7,73	I
Raíz macerada en agua	1,15 A	- 15,00	0
Raíz cocida	0,95 R	5,00	0
Raíz en infusión	0,95 R	4,10	0
Raíz macerada en alcohol	0,65 R	35,00	II

IR = Índice de Repelencia: 1 = neutro; IR > 1 atrayente; IR < 1 repelente.

Tabla 5. Efectos tóxicos por contacto residual de los extractos de hoja, corteza y raíz de *Sambucus peruviana* sobre adultos de *Copidosoma koehleri* de 3 h a 48 h de exposición.**Table 5. Residual toxic effects by contact of leaf, bark and root extracts of *Sambucus peruviana* on adults of *Copidosoma koehleri* from 3 h to 48 h exposure.**

Tratamientos	Mortalidad			
	3 h	12 h	24 h	48 h
	----- % -----			
Blanco con agua	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Hojas maceradas en agua	0,00 a	5,00 a	7,50 ab	7,50 ab
Hojas cocidas	0,00 a	0,00 a	2,50 ab	2,50 ab
Hojas en infusión	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,50 ab
Hojas maceradas en alcohol	0,00 a	0,00 a	2,50 ab	2,50 ab
Corteza macerada en agua	0,00 a	2,50 a	10,00 abc	10,00 abc
Corteza cocida	0,00 a	15,00 ab	15,00 abc	15,00 abc
Corteza en infusión	2,50 a	15,00 ab	15,00 abc	15,00 abc
Corteza macerada en alcohol	0,00 a	0,00 a	2,50 ab	2,50 ab
Raíz macerada en agua	0,00 a	12,50 ab	17,50 bc	17,50 bc
Raíz cocida	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Raíz en infusión	20,00 b	25,00 b	25,00 c	25,00 c
Raíz macerada en alcohol	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Promedios en la misma fila con la misma letra no difieren significativamente ($P \leq 0,05$), según test de Tukey.

en comparación con el control, aunque no sobrepasó el 30%. Para que una planta con propiedades insecticidas sea promisoría para el control de plagas de granos almacenados la mortalidad debe ser > al 40% (Lagunes, 1994; Akob y Ewete, 2007). Aunque en todos los tratamientos, la mortalidad de *S. zeamais* aumentó con el tiempo de exposición, al igual que en Silva et al. (2003)

y Tapondjou et al. (2005), los resultados para el control de plagas no se consideran auspiciosos para el uso de esta planta como un insecticida botánico contra plagas de granos almacenados.

Aunque la mayoría de los bioensayos con *S. zeamais* se hacen con hojas pues éstas concentran los compuestos activos (Torres et al., 2015), muchos insecticidas de origen vegetal se obtie-

Tabla 6. Efecto tóxico de tratamientos en base a *Sambucus peruviana* por inmersión de estados de desarrollo de *Copidosoma koehleri*.**Table 6. Toxic effect of different treatments with *Sambucus peruviana* by immersion of *Phthorimaea operculella* mummified larvae on *Copidosoma koehleri*.**

Tratamientos	Adultos emergidos	Adultos no emergidos	Larvas y pupas no emergidas
	N°		
Blanco con agua	100,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
Hoja maceradas en agua	30,39 ± 5,84 a	2,89 ± 1,61 a	66,76 ± 6,69 d
Hojas cocidas	15,74 ± 10,63 a	31,77 ± 12,72 b	52,47 ± 13,78 bcd
Hoja en infusión	44,43 ± 13,78 abc	25,27 ± 10,38 ab	30,28 ± 13,45 abcd
Hoja maceradas en alcohol	89,01 ± 4,83 cd	5,74 ± 2,52 ab	5,24 ± 3,29 ab
Corteza macerada en agua	37,11 ± 8,42 ab	0,72 ± 0,37 a	62,16 ± 8,61 d
Corteza cocida	32,06 ± 13,71 a	5,20 ± 2,49 a	62,72 ± 14,85 d
Corteza en infusión	54,81 ± 12,67 abcd	14,18 ± 6,57 ab	30,99 ± 14,32 abcd
Corteza maceradas en alcohol	91,33 ± 3,75 d	4,72 ± 1,96 a	3,94 ± 2,31 ab
Raíz macerada en agua	32,07 ± 4,26 a	2,50 ± 2,50 a	65,41 ± 2,56 d
Raíz cocida	33,58 ± 13,69 a	7,88 ± 3,54 ab	58,53 ± 15,77 cd
Raíz en infusión	29,90 ± 12,60 a	9,96 ± 4,91 ab	60,12 ± 14,58 d
Raíz maceradas en alcohol	81,76 ± 7,12 bcd	8,2 ± 3,44 ab	10,01 ± 3,87 abc

Promedio ± error estándar.

Promedios en la misma fila con la misma letra no difieren significativamente ($P \leq 0,05$), según test de Tukey.

nen también de tallos, raíces, flores y semillas (Issakul et al., 2011; Fedaku et al., 2012). En el presente estudio el tratamiento de corteza en polvo causó la mayor mortalidad de *S. zeamais*, incluso después del tiempo establecido para los bioensayos (55% a las 196 h), resultado que indica que recién después de ese período desde la exposición se obtendrían resultados que armonizarían con la propuesta de Lagunes (1994) de mortalidad > de 40% para ser considerado un tratamiento botánico promisorio. Se ha observado mortalidad significativa de *S. zeamais* por acción de polvos secos de diversas plantas a bajas concentraciones (Silva et al., 2003; 2005; Salvadores et al., 2007). El polvo de la corteza del saúco pudiera estar actuando sobre *S. zeamais* como veneno estomacal y barrera física (Fedaku et al., 2012). Así, según los criterios de Nuñez et al. (2010), para proteger 100 kg de semillas de cereal se requerirían 16 kg de polvo y cerca de 20 kg de corteza de *S. peruviana*. Esta concentración parecería impráctica, si no se mezcla con otros compuestos químicos en polvo como el carbonato de calcio (Nuñez et al., 2010).

En otro trabajo con polvo de hojas de *S. peruviana*, Iannacone et al. (2005) no obtuvieron mortalidad de *S. zeamais* hasta con una concentración máxima de 20%. Luego, Iannacone et al. (2006) hicieron ensayos con extractos etanólicos de frutos maduro y verdes de *S. peruviana*, y tampoco obtuvieron mortalidad de *S. zeamais*, aunque las

hojas y los frutos de saúcos evaluados se obtuvieron en el distrito de Pueblo Libre, Lima, Perú (entre 85 y 90 msnm), mientras que *S. peruviana* es una especie de zonas altoandinas (entre 2 000 y 4 000 msnm), y el cambio de ambiente puede producir menos metabolitos que aquellas plantas que se encuentran en su hábitat natural. Nuñez et al. (2010) y Pinto et al. (2016) indican que la variabilidad natural de los principios activos o metabolitos secundarios principales con propiedades insecticidas de las plantas dependen de la zona geográfica, estado fenológico y época del año. Otras plantas evaluadas sí han resultado tóxicas o repelentes (Iannacone et al., 2015).

El porcentaje de granos dañados de los tratamientos de maceración y cocción en agua, e infusión en agua de la corteza fue mayor que en el testigo, resultados que indican una ligera atracción de *S. zeamais* al grano de maíz con estos tres extractos, los que así no serían utilizables como repelentes. Al evaluar los resultados obtenidos con papel filtro, los tratamientos que fueron atrayentes para *S. zeamais* fueron la cocción e infusión de hojas y la maceración de raíces de *S. peruviana*. Los resultados de repelencia de *S. zeamais* frente a los extractos fueron diferentes entre los granos almacenados de maíz y el papel filtro.

La pérdida de peso del grano por acción de *S. zeamais* fue muy escasa (3%) y sin diferencias entre los tratamientos y el control. Los efectos tóxicos o repelentes de los fitoquímicos hacia *S.*

zeamais dependen de numerosos factores, entre los que se encuentran la composición química y la susceptibilidad del insecto (Cruz et al., 2011). Según la escala de Juliana y Su (1983), el poder repelente del saúco es muy bajo, no mayor al nivel II (Tapondjou et al., 2005). En general, en nuestro estudio los extractos no tuvieron efectos repelentes significativos contra el gorgojo del maíz, a pesar que el 75% de los tratamientos en Pinto et al. (2016) presentó un índice de repelencia < 1.

Silva et al. (2003) recomiendan voltear una vez al mes los envases de almacenamiento para homogeneizar el polvo entre los granos de maíz y favorecer el control del gorgojo del maíz. El uso de extractos y polvos del saúco, una planta endémica de la zona andina, sería una alternativa de prevención cara y poco sostenible como insecticida y repelente para el Perú, debido a que las cantidades necesarias para su uso masivo podrían afectar a esta especie en su ambiente natural.

Copidosoma koehleri. La infusión y maceración en agua de raíces de *S. peruviana* produjeron efectos residuales por contacto en adultos de *C. koehleri* a 48 h de la exposición. Según Iannacone et al. (2015), los resultados obtenidos en bioensayos ecotoxicológicos con plaguicidas en laboratorio sobre enemigos naturales que no son el objetivo del control químico sirven como referencia para orientar la selección de ellos en programas de manejo integrado de plagas. Aunque los tratamientos no superaron el 25% de mortalidad de la microavispa *C. koehleri*, el uso en control de plagas de los extractos en infusión y maceración en agua de raíces no sería muy compatible con el control biológico en caso de ser éste utilizado en MIP, a pesar que los componentes fitoquímicos del saúco no dañarían muy pronunciadamente a los adultos de este parasitoide. En comparación, extractos hexánicos de *Schinus molle* L. y *Lantana camara* L. han causado una mortalidad de *C. koehleri* > 50% a las 48 h de la exposición (Iannacone y Lamas, 2003).

Sin embargo, al evaluar los efectos subletales como la emergencia de adultos y en las larvas y pupas no emergidas de *C. koehleri* con hoja, los tratamientos en base a extractos de saúco podrían causar un efecto dañino. Aunque las larvas y pupas del parasitoide se encuentran protegidas por el cuerpo momificado de la larva hospedera, algunos principios activos pueden penetrar en su interior y causar la muerte del parasitoide en sus fases larvarias y de pupa de desarrollo, que tienen una cutícula relativamente aún no endurecida (Longley, 1999).

Los resultados con 12 preparados en base al

saúco sobre *D. magna* y el parasitoide *C. koehleri* pueden ser ventajosos para las evaluaciones regulatorias en un posible registro de *S. peruviana* como plaguicida botánico en el Perú y para la selección de formulaciones con efectos plaguicidas para su integración holística en el MIP (Iannacone et al., 2006). Sin embargo, se requiere más investigación para evaluar los efectos secundarios contra las fases del ciclo biológico de ambos invertebrados, así como determinar el efecto de estos preparados de *S. peruviana* en la germinación de granos almacenados.

CONCLUSIONES

El polvo de corteza y la cocción en agua de corteza de *S. peruviana* debido a su efecto insecticida y repelente fueron los tratamientos más efectivos contra *S. zeamais*, y los extractos de hojas y raíces presentaron los mayores efectos en el ámbito acuático representado por *D. magna* y en el control biológico por *C. koehleri*.

LITERATURA CITADA

- Akob, C.A., and F.K. Ewete. 2007. The efficacy of ashes of four locally used plant materials against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Cameroon. *International Journal of Tropical Insect Science* 27:21-26.
- Alvarado-Chávez, B. 2007. Plantas medicinales de la Cordillera Negra. *Revista de la Academia Peruana de Salud* 14:53-63.
- APHA. 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th ed. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF), Washington D.C., USA.
- Cruz, A., C. Rodríguez, y C. Ortiz. 2011. Efecto insecticida *in vitro* del extracto etanólico de algunas plantas sobre la mosca adulta *Haematobia irritans*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 16:216-226. (en línea)
- Díaz, M.C., Y. Pica, y A. Ronco. 2004. Bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia magna*. En G. Castillo (ed.). p. 52. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa, Canadá.
- Fekadu, G., S. Waktole, and D.R. Santiago. 2012. Evaluation of plant powders and cooking oils against maize weevil, *Sitophilus zeamais* M. (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. *Molecular Entomology* 3:4-14.

- Iannacone, J., y L. Alvariano. 2010. Toxicidad en *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) a cuatro controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú. *Acta Zoológica Mexicana* 26:603-615.
- Iannacone, J., L. Alvariano, H. Ayala, y N. Salazar. 2008. Toxicidad de nueve plantas y de la cipermetrina en gorgojos de productos almacenados y en la pulga del agua *Daphnia magna* en el Perú. *Biotempo* 8:26-34.
- Iannacone, J., L. Alvariano, M.I. La Torre, A. Guabloche, K. Ventura, J. Chero, et al. 2015. Toxicidad aguda y crónica de *Tagetes elliptica* (Asteraceae) y dimetoato sobre depredadores y parasitoides de plagas de importancia agrícola en Perú. *The Biologist (Lima)* 13:329-347.
- Iannacone, J., L. Alvariano, J.C. Soto, y C. Salcedo. 2007. Efecto toxicológico del "Sachayoco", *Paullinia clavifera* (Sapindaceae) sobre *Daphnia magna* y sobre dos controladores biológicos de plagas agrícolas. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology* 2:15-25.
- Iannacone, J., H. Ayala, L. Alvariano, E.C. Paredes, W. Villegas, J. Alomia, et al. 2014. Riesgo ecotoxicológico acuático y terrestre del bioplaguicida catahua, *Hura crepitans* (Euphorbiaceae). *Revista de Toxicología* 30:50-62.
- Iannacone, J.A., H. Ayala, A. Román, R. Carrillo, J.C. Soto, C. Salcedo, et al. 2006. Efecto insecticida de cinco plantas sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855. *Scientia* 8:197-206.
- Iannacone, J., H. Ayala, J. Álvarez, O. Leyva, y E. Bajalque. 2004. Cuatro plantas biocidas sobre *Sitophilus zeamais* y *Stegobium paniceum* en el Perú. *Wiñay Yachay (Perú)* 8:16-27.
- Iannacone, J., H. Ayala, y A. Román. 2005. Efectos toxicológicos de cuatro plantas sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Curculionidae) y sobre el gorgojo de las galletas *Stegobium paniceum* (Linnaeus 1761) (Coleoptera: Anobiidae) en Perú. *Gayana* 69:234-240.
- Iannacone, J., y G. Lamas. 2003. Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. *Agricultura Técnica (Chile)* 63:347-360.
- Iannacone, J., y C. Quispe. 2004. Efecto insecticida de dos extractos vegetales sobre el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), en el Perú. *Revista Peruana de Entomología* 44:81-87.
- IBM. 2011. Corp. Released IBM SPSS Statistics for Windows. Version 20.0. IBM Corp., Armonk, New York, USA.
- Issakul, K., J. Araya, E. Pawelzik, and C. Jatisatienr. 2011. Potential of *Mammea siamensis* as a botanical insecticide: Its efficiency on diamondback moth and side effects on non-target organisms. *Journal of Medicinal Plants Research* 5:2149-2156.
- Juárez-Flores, B.I., Y. Jasso-Pineda, J.R. Aguirre-Rivera, y I. Jasso-Pineda. 2010. Efecto de polvos de asteráceas sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch). *Polibotánica* 30:123-135.
- Juliana, G., and H.C.F. Su. 1983. Laboratory studies on several plant materials as insects repellents for protection of cereal grains. *Journal of Economic Entomology* 76:154-157.
- Keasar, T., and S. Steinberg. 2008. Evaluation of the parasitoid *Copidosoma koehleri* for biological control of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, in Israeli potato fields. *Biocontrol Science and Technology* 18:325-336.
- Lagunes, T.A. 1994. Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. 35 p. Memorias del Colegio de Postgraduados USAID-CONACYT-BORU-CONSA, Montecillo, Texcoco, México.
- Longley, M. 1999. A review of pesticide effects upon immature parasitoids within mummified hosts. *International Journal of Pest Management* 45:139-145.
- McDonald, L.L., R.H. Guy, and R.D. Speirs. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored products insects. Marketing Research Report N° 882. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture (USDA-ARS), Washington DC, USA.
- Natividad-Bardales, A.D., R.M. Rojas-Portal, y R.L. Huaman-Leandro. 2014. Extracción de antocianinas del sauco (*Sambucus peruviana* H.B. & K.) cultivado en Huánuco para uso agroindustrial. *Revista de Investigación Agroindustrial* 1:37-53.
- Núñez, M., y J. Hurtado. 2005. Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado. *Revista Peruana de Biología* 12:165-170.
- Núñez, O.P., G. Silva, V.M. Tapia, R.G. Hepp, J.C. Rodríguez-Maciél, y A. Lagunes-Tejada. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y boldo (*Peumus boldus* Mol.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Agro-Ciencia* 26:71-80.

- Pinto, J.J., G. Silva, I. Figueroa, M. Tapia, A. Urbina, J.C. Rodríguez, and A. Lagunes. 2016. Insecticidal activity of powder and essential oil of *Cryptocarya alba* (Molina) Looser against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Chilean Journal of Agricultural Research 76:48-54.
- Rodríguez-Cobos, A.C., y J. Iannacone. 2012. Resistencia de granos de variedades de maíz amarillo duro a *Sitophilus zeamais* Mostchulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) en el Perú. Revista Peruana Entomología 47:1-6.
- Ruiz, R.S.G., C.E. Venegas, R.D. Ruidías, A.L. Horna, y C.C.W. Wilfredo. 2013. Capacidad antioxidante *in vitro* de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (saúco) proveniente de la ciudad de Huamachuco. Revista Farmaciencia 1:57-64.
- Salvadores, Y., G. Silva, M. Tapia, y R. Hepp. 2007. Polvos de especias aromáticas para el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en trigo almacenado. Agricultura Técnica (Chile) 67:147-154.
- Segoli, M., A. Bouskila, A.R. Harari, and T. Keasar. 2009. Developmental patterns in the polyembryonic parasitoid wasp *Copidosoma koehleri*. Arthropod Structure & Development 38:84-90.
- Silva A., G.I., R. Kiger-Melivilu, R. Hepp-Gallo, y M. Tapia-Vargas. 2005. Control de *Sitophilus zeamais* con polvos vegetales de tres especies del género *Chenopodium*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40:953-960.
- Silva, G., D. Pizarro, P. Casals, y M. Berti. 2003. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. Revista Brasileira de Agrociencia 9:383-388.
- Tapondjou, A.L., C. Adler, D.A. Fontem, H. Bouda, and C. Reichmuth. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervivens* and *Eucaliptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Product Research 41:91-102.
- Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, et al. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 14:48-59.
- USEPA. 1993. Probit analysis program. Version 1.5. U.S. Environmental Protection Agency. Washington DC, USA.