

Acción diferencial de dos formulaciones de azadiractina sobre los estados de desarrollo de *Ceratitis Capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)

A. ADÁN, J. SORIA, P. DEL ESTAL, C. SÁNCHEZ-BRUNETE y E. VIÑUELA

Pruebas de toxicidad con dos formulados de azadiractina (Align y Neem-e) sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann) realizadas en laboratorio, mostraron un distinto grado de actividad dependiente del producto y del estado de desarrollo de la mosca tratado. A bajas concentraciones Neem-e no tuvo acción ovicida ni larvicida, mientras que Align inhibió la eclosión del 90% de los huevos tratados a una dosis de 4,2 mg/l y a 1 mg/l no emergieron adultos, cuando las larvas neonatas se criaron en dieta tratada. Por el contrario, Align no tuvo ningún efecto tóxico al ser suministrado en el agua de beber a adultos de la mosca, mientras que Neem-e fue moderadamente activo, obteniéndose una mortalidad del 100% para una dosis de 50 mg/l.

A. ADÁN, P. DEL ESTAL y E. VIÑUELA: Protección de Cultivos, ETSIAgrónomos. 28040 Madrid.

J. SORIA: Laboratorio de Zoología Aplicada. Facultad de Biología. Av. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla.

C. SÁNCHEZ-BRUNETE: CIT-INIA. Departamento de Protección Vegetal. Carretera de La Coruña, km. 7. 28040 Madrid.

Palabras clave: Align, Neem-e, azadiractina, *Ceratitis capitata*, toxicidad, estados de desarrollo, modo de actuación.

INTRODUCCIÓN

El árbol del Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) ha sido usado desde hace siglos para la lucha contra las plagas en el sudeste asiático (SCHMUTTERER, 1990). En las dos últimas décadas su interés se ha generalizado por todo el mundo, habiéndose obtenido hasta la fecha, numerosos preparados elaborados a partir de uno o más principios activos que se encuentran en el Neem. Entre todos estos principios activos, destaca la Azadiractina, un tetranortriterpenoide que se encuentra principalmente en las semillas del árbol (ERMEL y KLEEBERG, 1995; SUNDARAM *et al.*, 1997).

El término Azadiractina engloba a una mezcla isomérica de tetranortriterpenoides, de los que al menos nueve isómeros tienen propiedades insecticidas, siendo el isómero más

abundante, la Azadiractina A (REMBOLD y PUHLMANN, 1995; WILLIAMS y MANSINGH, 1996; SUNDARAM *et al.*, 1997). El modo de acción de la Azadiractina, es el de un Regulador de Crecimiento de los Insectos (RCI), afectando a la producción de ecdisona y de hormona juvenil (SCHMUTTERER, 1990; SCHMUTTERER, 1995). Desde el punto de vista ambiental se trata de una materia activa muy prometedora, por su rápida degradación que minimiza el problema de residuos, su baja toxicidad en mamíferos y por su benignidad en gran parte de los enemigos naturales (SCHMUTTERER, 1990, VIÑUELA *et al.*, 1996; SUNDARAM *et al.*, 1997).

La mayoría de los preparados comerciales elaborados a partir del Neem, utilizan como principio activo la Azadiractina. Sin embargo muchos de estos productos basa-

dos en el mismo principio activo, revelan importantes variaciones en cuanto a su bioeficacia, vida media y calidad de las formulaciones (ERMEL y KLEEGER, 1995). Igualmente los efectos que se observan en los insectos son muy diferentes dependiendo de la especie tratada y de la formulación empleada: inhibidor de la muda, antiapetitivo, repelencia, supresión o reducción de la fecundidad, pérdida de vigor, etc. (REMBOLD y PUHLMAN, 1995).

Ceratitis capitata (Wiedemann) se controla en nuestro país, con insecticidas de síntesis fundamentalmente organofosforados, como Fentión, Malatión, y Triclorfón. Estos productos presentan la problemática de tener un amplio espectro de actividad y baja selectividad en comparación con la mayoría de los insecticidas de nueva generación (ADÁN *et al.*, 1996). Además el uso del insecticida Fentión, tiende a limitarse debido a los problemas de residuos en los frutos que su persistencia origina (CONTI y PUSINO, 1994; ANÓNIMO, 1996).

Con el fin de evaluar el potencial de la Azadiractina para el control de esta importante plaga de los frutales, se han realizado pruebas de toxicidad en laboratorio de dos formulados con este principio activo, sobre los distintos estados de desarrollo de *C. capitata*, basándonos en las posibles alternativas al control de esta plaga (ADÁN *et al.*, 1996). Align se ha registrado recientemente en nuestro país para su uso en viveros y ornamentales, y está pendiente su ampliación a cultivos comestibles (RUIZ *et al.*, 1996). Neem-e en el momento de la realización de los ensayos, se encontraba en un periodo de prueba, pero ensayos preliminares apuntaban a una buena actividad sobre diversas especies plaga en general, y sobre *C. capitata* en particular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Las moscas empleadas en los ensayos proceden de una cría de laboratorio, que se

realiza desde hace años en condiciones constantes de temperatura (25 ± 2 °C), humedad relativa ($75 \pm 5\%$) y fotoperiodo (16:8 horas luz:oscuridad).

Insecticidas

Neem-e distribuido por Biagro S.L. es un concentrado emulsionable acuoso con un 0,3% de Azadiractina extraída de la semilla de *A. indica*, así como aceite de neem en una proporción no especificada.

Align® es un concentrado emulsionable con un 3% en Azadiractina obtenido a partir de la semilla de *A. indica*. Distribuido por Sipcarn Inagra S.A.

Ensayos

Para todos los ensayos las soluciones de insecticida se disolvieron en agua destilada y se expresaron en mg de materia activa por litro. El número de repeticiones varió de tres a cinco, y el número de individuos tratados por repetición entre 10 y 50. Todos los ensayos se repitieron al menos dos veces, con el fin de reproducir los resultados. El seguimiento de los ensayos se prolongó hasta descartar posibles retrasos en el desarrollo como consecuencia del tratamiento con Azadiractina.

Actividad ovicida: Se trataron siempre huevos de menos de 5 horas de edad de la mosca, aplicándoles directamente 1 ml de las soluciones insecticidas, o de agua en el caso del control, a cada unidad muestral (50 huevos), sobre cajas de plástico ($9 \times 2,5$ cm) con la base forrada en papel del filtro. Una vez tratados se dejaron secar durante media hora a temperatura ambiente. Después las cajas se cerraron con tapas no ventiladas y se guardaron en la cámara de cría a las condiciones ambientales constantes ya descritas.

El rango de concentraciones empleado fue inicialmente el mismo para los dos productos, variando de 1 a 1.000 mg/l i.a., para después incrementar o reducir estas dosis en

función de la actividad observada. Se inició el recuento de larvas eclosadas a partir de las 48 horas de realizar el tratamiento.

Actividad larvívora en neonatas: En este caso se trató la dieta según el método descrito por VIÑUELA *et al.* (1993) y posteriormente se sembró con larvas neonatas (de menos de 10 horas de edad; 50 larvas por unidad muestral, 3 repeticiones). El rango de dosis varió entre 0,1 y 50 mg/l i.a. Para el seguimiento de los efectos de estos productos a lo largo del ciclo, en el momento próximo a la pupación (día 6 de tratamiento), se facilitó el abandono de las cajas por parte de las larvas que se disponían a pupar (retirando las tapas, y elevando su base). A estas larvas que puparon fuera de la dieta las llamamos **larvas saltadas** para distinguirlas de las que puparon en el medio larvario. De esta forma, calculando el cociente entre el porcentaje medio de pupas saltadas dividido por el total de pupas formadas, pudimos obtener una medida de la **movilidad larvaria**. Una vez realizado el recuento de las pupas, se las trasladó a cajas no tratadas y ventiladas, para evaluar también la emergencia de adultos.

La mortalidad larvaria se calculó como el número de larvas muertas hasta la pupación respecto del número inicial de larva tratadas, y la mortalidad de pupas como el número de pupas muertas hasta la emergencia respecto del número total de pupas formadas.

Ensayos en larvas de tercer estadio: para este tratamiento se emplearon siempre larvas que habían saltado de la dieta y estaban a punto de pupar. La forma de aplicación fue por inmersión, bañando las larvas en las soluciones durante diez minutos. El número de larvas por unidad muestral fue de 10 y el número de repeticiones de cuatro. Las dosis variaron de 10 a 100 mg/l i.a. Se evaluó la pupación y la emergencia de adultos.

Ensayos de actividad adultívora: Se trataron adultos de menos de 24 horas de edad, en una proporción de 5 hembras y 5 machos por repetición (4 repeticiones). El insecticida se suministró en los bebederos según el procedimiento descrito por BUDIA

y VIÑUELA (1996), y se comprobó que las moscas acudían con normalidad a los bebederos durante las primeras 8 horas de tratamiento. También dispusieron de comida no tratada. La mortalidad se evaluó durante los primeros siete días de tratamiento. El rango de concentraciones empleado varió de 1 a 100 mg/l i.a.

Análisis cromatográfico de los formulados

Una vez obtenidos los resultados que indicaban una bioeficacia diferente para las dos formulaciones, se calculó el contenido en azadiractina de éstas, realizando una cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Debido a la ausencia de un método estándar, se puso a punto el siguiente procedimiento: se realizó una detección ultravioleta de onda fija a 214 nanómetros, con una fase móvil H₂O:acetonitrilo (80:20), con un flujo de 1,2 ml/minuto, empleando una columna Spherisorb ODS-2 (C18),

Análisis estadístico

Los datos se procesaron con el Análisis de la Varianza Unifactorial (Anova) y el test LSD para establecer las diferencias significativas entre las medias ($P = 0,05$) (STATGRAPHICS, 1987). En los casos que los datos se ajustaron a la regresión probit, se calcularon las dosis letales con el paquete informático POLO-PC (1987). Los límites fiduciales para las dosis letales DL_{50} y DL_{95} corresponden a una probabilidad del 95%.

RESULTADOS

Actividad ovívora

El comportamiento de los dos formulados en este tratamiento fue muy distinto. En el Cuadro 1, se dan los valores de las dosis letales obtenidas mediante análisis probit. Mientras Align tuvo una buena acción ovi-

Cuadro 1.—Tratamiento ovicida

Formulado	Neem-e	Align
DL ₅₀ (a) (límites fiduciales)	760,2 (667,4; 867,6)	1,4 (0,8; 1,9)
DL ₅₀ (a) (límites fiduciales)	1.790,3 (1.397,9; 2.916,3)	4,2 (3,2; 54,8)
Pendiente ± e.s.	3,5 ± 0,3	2,7 ± 0,2
Potencia relativa (límites fiduciales)	—	514,5 (407,3; 693,2)

(a) Dosis en mg i.a./l.

Análisis Probit (límites fiduciales con un intervalo de confianza del 95%).

cida, con una DL₅₀ de 1,4 mg/l ($\chi^2 = 7,6$; 4 g.l.) Neem-e sólo fue activo a concentraciones muy elevadas (DL₅₀ de 760,6 mg/l ($\chi^2 = 10,0$; 5 g.l.)). Los datos de los dos tratamientos pudieron ajustarse al test de paralelismo para compararlos ($\chi^2 = 22,1$; 10 g.l.; pendiente común = 3,0). Como resultado de este test la potencia de Align respecto de Neem-e fue más de 500 veces superior.

También se observó en los dos tratamientos un desfase en la eclosión proporcional a

la dosis empleada. En el caso del control, las larvas eclosionaron con normalidad a los 2 días del tratamiento, mientras que a las mayores concentraciones la poca eclosión que tuvo lugar, se retrasó hasta el día 6.

Actividad larvicida en neonatas

De nuevo Align fue más activo que Neem-e (Cuadro 2), pero esta vez las dife-

Cuadro 2.—Tratamiento de larvas neonatas. Porcentajes medios ± error estándar

Dosis mg/l	ALIGN			
	ML	MP	MOV	AE
0	20,7 ± 3,6 a	1,3 ± 1,4 a	93,1 ± 2,0 a	78,0 ± 4,7 a
0,1	24,7 ± 6,8 a	4,0 ± 2,0 ab	91,9 ± 0,8 a	70,7 ± 4,5 a
1	86,7 ± 4,1 b	13,3 ± 4,1 b	11,4 ± 6,0 b	0 b
Dosis mg/l	NEEM-E			
	ML	MP	MOV	AE
0	5,3 ± 3,0 ab	1,3 ± 0,7 a	98,6 ± 0,7 a	93,3 ± 2,4 a
0,1	0,7 ± 0,4 a	1,3 ± 0,7 a	100 ± 0,0 a	97,3 ± 1,8 a
1	8,7 ± 2,4 ab	2,7 ± 2,7 a	91,1 ± 3,6 ab	88,7 ± 4,8 ab
10	14,7 ± 2,5 b	8,7 ± 3,0 a	83,7 ± 2,4 b	76,7 ± 3,6 b
50	76,0 ± 10,5 c	6,0 ± 2,0 a	73,9 ± 14,0 b	18,0 ± 8,5 c

ML: mortalidad larvaria (porcentaje de larvas muertas respecto del total de larvas sembradas); MP: mortalidad pupal (porcentaje de pupas muertas respecto del total de pupas formadas); MOV: movilidad larvaria (porcentaje de larvas saltadas respecto del total de larvas sembradas); AE: adultos emergidos (porcentaje de adultos formados respecto del número de larvas sembradas).

Dentro de la misma columna y para cada producto, los datos seguidos de la misma letra no difieren significativamente (AOVA y LSD, P = 0,05).

rencias entre los dos productos fueron de menor magnitud. Align produjo una mortalidad larvaria del 86,7% a 1 mg/l y a esta misma dosis no emergió ningún adulto. Para el caso de Neem-e la mortalidad larvaria fue del 76% a la mayor dosis aplicada, 50 mg/l, y no se inhibió por completo la emergencia de las moscas.

Otros efectos observados en este tratamiento, fueron un retraso en el crecimiento larvario (las larvas puparon 6 días más tarde a partir de 1 mg/l para los dos productos) y una pérdida de movilidad larvaria (Cuadro 2), mucho más acusada en el tratamiento con Align.

Actividad larvicida en tercer estadio

En esta etapa de desarrollo de la mosca de la fruta, los dos productos fueron mucho menos activos en comparación con el tratamiento a neonatas (Figura 1). Sin embargo de nuevo Align redujo la emergencia de

adultos de forma mucho más eficaz que Neem-e. Ninguno de los productos afectaron a la pupación. Para el caso de Align, los resultados pudieron ajustarse a la recta de regresión ponderada probit, y calcularse las dosis letales (χ^2 1,2; 3 g.l.). Estos valores fueron DL_{50} de 56,4 mg/l (42,6; 71,5) y DL_{90} de 170,8 mg/l (122,3; 324,7).

Actividad en adultos

Align a una dosis máxima de 100 mg/l no tuvo un efecto tóxico directo sobre los adultos de la mosca (Figura 2). Por el contrario, Neem-e sí lo manifestó, siendo incluso más activo que cuando se aplicó sobre larvas neonatas. Para este producto se calcularon las dosis letales a los siete días de iniciarse el tratamiento (χ^2 3,1; 4 g.l.) obteniéndose una DL_{50} de 21,4 mg/l (16,6; 24,7) y DL_{90} de 39,1 mg/l (34,1; 49,0). La mortalidad fue equivalente para machos y hembras.

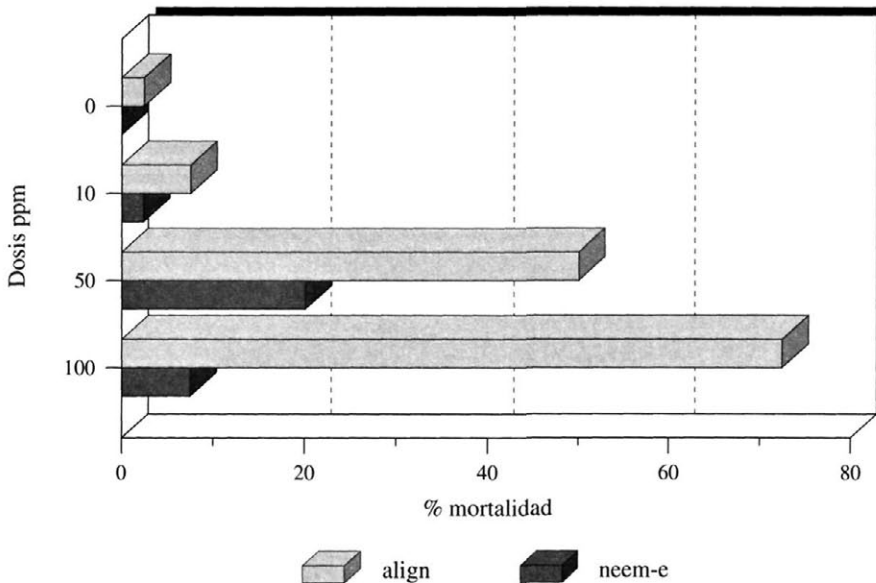
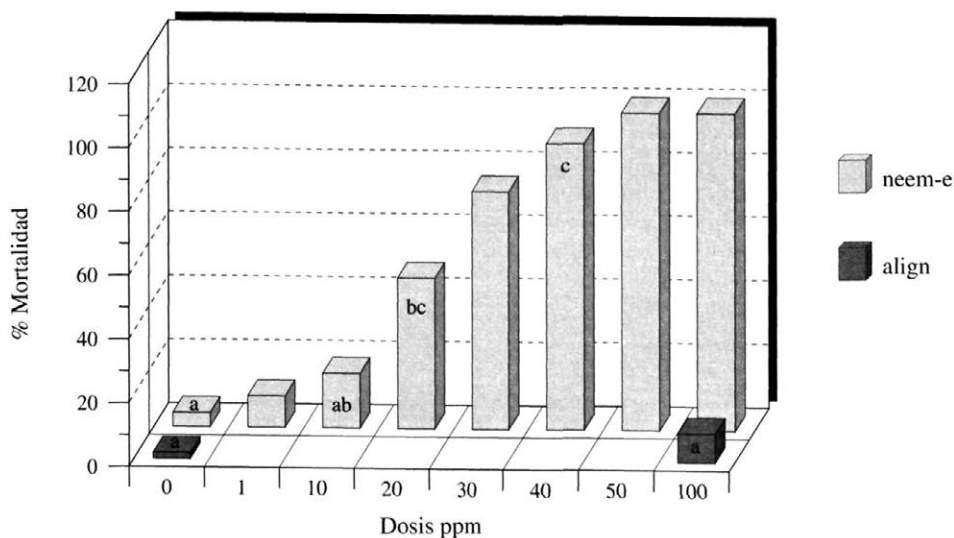


Fig. 1.—Porcentajes medios de mortalidad en el tratamiento de las larvas de tercer estadio.



— Para cada compuesto, las dosis con distinta letra indican significación estadística al 5% (ANOVA y LSD).

Fig. 2.—Porcentajes medios de mortalidad en el tratamiento de adultos recién emergidos. Para cada compuesto, las dosis con distinta letra indican significación estadística al 5% (ANOVA y LSD).

Análisis cromatográfico

Con el método empleado, la proporción de Azadiractina en Align fue del 3%, coincidiendo con la información con la que contábamos, pero para Neem-e fue 10 veces inferior a la que en principio suponíamos.

DISCUSIÓN

En nuestros ensayos Align ha demostrado una buena acción ovicida sobre la mosca de la fruta. Sin embargo, otros autores (RUIZ *et al.*, 1996), tras ensayar sobre un amplio espectro de especies de diversos órdenes de insectos, (hemíptera, lepidóptera, díptera, etc.), señalan que Align no actúa sobre los huevos de insectos fitófagos. La eficacia de Align ha sido equivalente a la de Fentión (a partir de 1 mg/l, la eclosión fue inferior al 50% y desde 4 mg/l del 10%), para igual tipo de tratamiento y sobre la misma población de *C. capitata* (ADÁN *et al.*, 1996).

En cuanto a la acción de otros extractos de Azadiractina en tratamientos de contacto sobre huevos, mencionando sólo las citas que hemos encontrado en especies de dípteros, se han observado reducciones significativas de la eclosión en las moscas *Phormia terraenovae* Robineau-Desvoidy, y *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus) (WILPS, 1995), y en *Liriomyza sativae* Blanchard y *L. trifolii* (Burgess) (WILLIAMS y MANSINGH, 1996).

También en el caso del tratamiento de larvas neonatas, la actividad de Align fue equivalente a la observada para Fentión, que a una concentración máxima de 0,8 mg/l produjo una mortalidad larvaria cercana al 90% (ADÁN *et al.*, 1996). Las referencias a una buena actividad larvicida de diversos extractos de Azadiractina son numerosas, tanto en especies de dípteros como en otros órdenes de insectos. STEFFENS y SCHMUTTERER (1982) trataron con un extracto de Azadiractina de la semilla en metanol, el mismo estadio larvario de la mosca de la fruta, y comprobaron también que una importante mortali-

dad tuvo lugar en el momento de la metamorfosis, aunque para la mayor dosis con que trataron, 20 ppm, se produjo una emergencia de adultos en torno al 5%.

Respecto al retraso en el crecimiento y la pérdida de movilidad en el tratamiento de larvas neonatas, debido al método empleado, que consiste en incluir las larvas recién eclosadas en la dieta artificial ya tratada, no podemos establecer si estos síntomas aparecieron porque las larvas apenas se alimentaran, o porque la ingestión de las sustancias tóxicas las debilitaron. En otras especies de moscas en las que las larvas crecieron en dieta tratada se han observado los mismos síntomas (WILPS, 1995).

El tratamiento de larvas de tercer estadio no afectó en ningún caso a la pupación, pero Align sí redujo de forma significativa la emergencia de adultos. Aunque aparentemente, este producto ha sido más activo en larvas neonatas, no podemos comparar su actividad en los dos estadios larvarios, al tratarse de dos tipos de ensayos muy diferentes. Las larvas neonatas estuvieron en contacto con la dieta tratada durante todo el desarrollo larvario, mientras que las de tercer estadio sólo se sumergieron en las soluciones con insecticida durante 10 minutos. STARK *et al.* (1990) aplicaron un extracto de azadiractina en etanol sobre el medio de pupación de larvas maduras de tercer estadio de tres especies de tefritidos, *C. capitata*, *Dacus cucurbitae* Coquillet y *D. dorsalis* Hendel, obteniendo en todas ellas mayor eficacia que en nuestro caso. Aunque tampoco observaron ningún efecto en la pupación, la emergencia de adultos se suprimió totalmente para dosis menores o iguales a 14 ppm. Tal vez parte de esta mayor actividad, en comparación con nuestros resultados, se deba a que las larvas estuvieron en contacto con la arena tratada durante siete días.

En general son pocas las citas que mencionan efectos tóxicos de la azadiractina en tratamientos directos sobre adultos de insectos. Los resultados de Align en *C. capitata* coinciden con los de RUIZ *et al.* (1996) que señalan la no toxicidad del producto sobre

un gran número de especies de insectos en estado adulto. También la mortalidad que causó Neem-e coincide con los resultados de Bioagro (datos no publicados), que señalan una toxicidad sobre adultos de *C. capitata*. Esta toxicidad es menor que la producida por fentión en ensayos de iguales características, ya que para este producto se obtuvo una DL₅₀ de 1,2 mg/l a los 8 días de tratamiento (ADÁN *et al.*, 1996).

Un tratamiento tópico de aceite de Neem y azadiractina de semilla sobre las moscas tsetse *Glossina morsitans morsitans* Westwood, *G. m. centralis* Machado y *G. pallidipes* Austen, produjo una significativa mortalidad (WILPS, 1995). WILLIAMS y MANSINGH (1996), en una recopilación sobre la actividad de distintos extractos del Neem en insectos, señalan toxicidad en adultos en un pequeño número de especies de distintos órdenes. Pero lo más curioso de estos datos es que en la mayoría de los casos el extracto aplicado fue en parte o totalmente aceite de Neem. Recordemos que la materia activa de Neem-e es, en parte, aceite de Neem.

Es frecuente encontrar resultados de gran variabilidad en la actividad de la azadiractina y otros derivados del Neem. Para ERMEL y KLEEGERG (1995), uno de los problemas pendientes de resolución en la tecnología de la extracción de la azadiractina, es la aceptación de un método estándar que permita estimar su proporción en la formulación. Así estos autores han comprobado que al medir las concentraciones de un extracto con distintos métodos, los valores en azadiractina pueden ser muy distintos, y que a menudo no hay una correlación entre la concentración de azadiractina mencionada y su bioeficacia. En nuestro caso, tras el análisis cromatográfico la concentración de Neem-e fue 10 veces inferior a la que figuraba en la información técnica proporcionada por Bioagro.

Una estimación incorrecta de la proporción de materia activa puede explicar en parte las diferencias en la actividad insecticida entre Align y Neem-e, pero cuando al tratar adultos, los resultados son los opuestos, y Neem-e pasa a ser más tóxico que

Align, ha de haber además otros factores que expliquen este comportamiento tan distinto para dos productos con el mismo principio activo. La información técnica de los dos formulados sólo habla de azadiractina, sin entrar a describir la proporción de los distintos isómeros que pueden extraerse de la semilla del neem. Sin embargo WILLIAMS y MANSINGH (1996), hablan de una fuerte correlación entre la estructura y la actividad de las azadiractinas. Pero esta correlación a la que aluden, tal vez no deba entenderse como un grado de bioeficacia distinto para el mismo estadio de desarrollo del insecto, sino para diferentes estados de desarrollo. Al menos el primer caso, parece estar descartado por los resultado del trabajo de REMBOLD y PUHLMANN (1995), que al tratar la dieta con nueve isómeros de azadiractina sobre el último estadio larvario de *Epi-*

lachna varivestis (Mulsant), para todos los casos se obtuvieron DL_{50} dentro de un rango de 0,3-2,8 ppm.

En cualquier caso, aun quedan muchos aspectos por aclarar de las muchas posibilidades que ofrecen los principios activos del Neem, y la azadiractina en particular, para el control de plagas. Por el momento, como hemos podido comprobar en este trabajo, es difícil obtener conclusiones generales sobre los modos de actuación de distintos extractos de azadiractina incluso para aplicarlo sobre la misma especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Sipcam Inagra S.A. la entrega de la muestra de Align para la realización de los ensayos.

ABSTRACT

ADÁN, A.; SORIA, J., DEL ESTAL, P.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C. y VIÑUELA, E., 1998: Differential action of two azadirachtin formulations on the developmental stages of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Bol. San. Veg. Plagas*, 24(Adenda al n.º 4): 1009-1018.

The toxicity of Align and Neem-e, two azadirachtin formulations, has been evaluated in laboratory in the different developmental stages of the fruit fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann). Results were very different depending on the formulation and developmental stage tested. Neem-e, at low concentrations, did not exhibit ovicidal or larvicidal effects, but Align, at a dose of 4.2 mg/l inhibited the eclosion of 90% of the treated eggs and a dose of 1 mg/l prevented adult emergence in neonate larval treatments via treated diet. Contrary to these results, adults of the fruit fly did not show any toxic effect when treated via ingestion with Align, but when Neem-e was applied to them, a 100% mortality was scored at a dose of 50 mg/l.

Key words: Align, Neem-e, azadirachtin, toxicity, *Ceratitis capitata*, developmental stages, mode of action.

REFERENCIAS

- ADÁN, A.; DEL ESTAL, P.; BUDIA, F.; GONZÁLEZ, M. y VIÑUELA, E., 1996: Laboratory Evaluation of the Novel Naturally Derived Compound Spinosad against *Ceratitis capitata*, *Pesticide Science* 48: 261-268.
- ANÓNIMO, 1996: Breves agrícolas. *Phytoma España* 80: 2.
- BUDIA, F. y VIÑUELA, E., 1996: Effects of Cyromazine on Adult *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) on Mortality and Reproduction. *Journal of Economic Entomology* 89(4): 826-831.
- CONTI, B. y PUSINO, A., 1994: Fenthion and dimethoate residues in oil, vegetation waters and husks derived from pressing of drupes harvested in larvicide and adulticide treated olive groves. *Agricoltura Mediterranea* 124(4): 267-276.
- ERMEL, K. y KLEEBERG, H., 1995: Commercial Products, Their Standardization and Problems of Quality Control en *The Neem Tree*. H. Schmutterer (ed). 375-384.
- POLO-PC, 1987: User's guide to probit of logit analysis. *LeOra Software Inc., Berkeley, CA*.

- REMBOLD, H. y PUHLMANN, I., 1995: Azadirachtins: Structure and Activity Relations in Case of *Epilachna varivestis* en *The Neem Tree*. H. Schmutterer (ed). 222-230.
- RUIZ, A.; PRADES, J.; CANO, F. J. y ABRIL, E., 1996: Align un bioinsecticida de origen vegetal, biodegradable, compatible con el medio ambiente y los enemigos naturales de las plagas. *Actas II Congreso SEAE. Pamplona*. Septiembre 1996. (en prensa).
- SCHMUTTERER, H., 1990: Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* **35**: 271-97.
- SCHMUTTERER, H., 1995: «Biological Effects of Neem and Their Modes of Action» en *The Neem Tree*. H. Schmutterer (ed.) 167- 170.
- STATGRAPHICS, 1987: User's Guide Statgraphics. *Graphic Sostware System STSC Inc., Rockville, MD*.
- STEFFENS, R. J. y SCHMUTTERER, H., 1982: The effect of a crude methanolic neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extract on metamorphosis and quality of adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae). *Z. ang. Ent.* **94**: 98-103.
- STARK, J. D.; VARGAS, R. Y. y THALMAN, R. K., 1990: Azadirachtin: Effects on Metamorphosis, Longevity, and Reproduction of Three Tephritid Fruit Fly Species (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology* **83** (6): 2168-2174.
- SUNDARAM, K. M. S.; SUNDARAM, A.; CURRY, J. y SLOANE, L., 1997: Formulation Selection, and Investigation of Azadirachtin-A Persistence in Some Terrestrial and Aquatic Components of a Forest Environment. *Pesticide Science* **51**: 74-90.
- VIÑUELA, E.; BUDIA, F.; JACAS, J.; ADÁN, A.; MARCO, V. y DEL ESTAL, P., 1993: Differential larval age susceptibility of the Medfly, *Ceratitis capitata* Wied. (Dip., Tephritidae) to cyromazine. *Journal of Applied Entomology* **115**: 355-362.
- VIÑUELA, E.; HANDEL, U. y VOGT, H., 1996: Evaluación en campo de los efectos secundarios de dos plaguicidas de origen botánico, una piretrina natural y un extracto de neem, sobre *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. **22**: 97-106.
- WILLIAMS, L. A. D. y MANSINGH, A., 1996: The insecticidal and acaricidal actions of compounds from *Azadirachta indica* (A. Juss.) and their use in tropical pest management. *Integrated Pest Management Reviews* **1**: 133- 45.
- WILPS, H., 1995: Diptera: Mosquitoes and Flies en *The Neem Tree*. H. Schmutterer (ed.); 318-325.

(Recepción: 15 enero 1998)

(Aceptación: 11 marzo 1998)

