

## INVESTIGACIÓN

# EFFECTIVIDAD DE EXTRACTOS BOTÁNICOS DE DIEZ PLANTAS SOBRE LA MORTALIDAD Y REPELENCIA DE LARVAS DE *Rhynchophorus palmarum* L., INSECTO PLAGA DEL PIJUAYO *Bactris gasipaes* KUNTH EN LA AMAZONÍA DEL PERÚ

## Effectiveness of botanical extracts from ten plants on mortality and larval repellency of *Rhynchophorus palmarum* L., an insect pest of the Peach palm *Bactris gasipaes* Kunth in Amazonian Peru

Diana Pérez D.<sup>1</sup> y José Iannacone O.<sup>2</sup> \*

### ABSTRACT

Pest resistance to chemical insecticides has grown in recent years, which is the motive for the search for alternative methods, such as plants with larvicidal activity. The objective of this research was to evaluate mortality and larval repellency of *Rhynchophorus palmarum* L. (Curculionidae), a pest of the Peach palm *Bactris gasipaes* Kunth to ten plants with biocide potential: india heliotrope (*Heliotropium indicum* L., Boraginaceae), angels' trumpets (*Brugmansia* sp., Solanaceae), wandering jew (*Tradescantia zebrina* Hort. ex Bosse, Commelinaceae), nettles-purge (*Jathropa curcas* L., Euphorbiaceae), soapberry (*Paullinia clavifera* Schldt., Sapindaceae), red spurge (*Euphorbia cotinifolia* L., Euphorbiaceae), annato (*Bixa orellana*, Bixaceae), golden shower (*Cassia fistula* L., Fabaceae), birthwort fruit (*Aristolochia pilosa* Kunth, Aristolochiaceae) and pareira (*Chondrodendron tomentosum* Ruiz & Pavon, Menispermaceae). Bioassays with *R. palmarum* were performed at 1, 4, 8, 12 and 24 h exposure, employing 660 larvae under laboratory conditions and aqueous botanical extracts of the plants at a 1:3 (w/v) ratio. At 24 h exposure, the highest mortality percentage of *R. palmarum* was observed with birthwort fruit (73.30%: liquefied leaves and stems), wandering jew (70%: liquefied leaves and stems) and pareira (60%: wood and bark in decoction). In the case of repellency, the highest effects were found in birthwort fruit (80%), pareira (73.30%) and wandering jew (71.70%). In addition, nettles-purge (liquefied seeds) produced only 3.3% mortality but significantly 55% repellency. The possibility of employing these botanical extracts in integrated management of *R. palmarum* is analyzed.

**Key words:** *Aristolochia pilosa*, *Bactris gasipaes*, *Bixa orellana*, botanical insecticides, *Brugmansia*, *Cassia fistula*, *Chondrodendron tomentosum*, *Euphorbia cotinifolia*, *Heliotropium indicum*, *Jathropa curcas*, mortality, *Paullinia clavifera*, Peru, repellency, *Rhynchoporus palmarum*, *Tradescantia zebrina*, ethnobotanical.

### RESUMEN

La resistencia de las plagas a los insecticidas químicos se ha incrementado en los últimos años, motivo por el que se buscan métodos alternativos, como extractos de plantas con actividad larvicida. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto sobre la mortalidad y repelencia de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L. (Curculionidae), plaga del pijuayo *Bactris gasipaes* Kunth, de diez plantas con potencial biocida: ucullucaysacha (*Heliotropium indicum* L., Boraginaceae), floripondio (*Brugmansia* sp., Solanaceae), oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort. ex Bosse, Commelinaceae), piñon blanco (*Jathropa curcas* L., Euphorbiaceae), sachayoco (*Paullinia clavifera* Schldt., Sapindaceae), yuquilla (*Euphorbia cotinifolia* L., Euphorbiaceae), achiote (*Bixa orellana* L., Bixaceae), retama común (*Cassia fistula* L., Fabaceae), huanchahuisacha (*Aristolochia pilosa* Kunth, Aristolochiaceae) y curare (*Chondrodendron tomentosum* Ruiz & Pavon, Menispermaceae). Los bioensayos con *R. palmarum* se realizaron a 1, 4, 8, 12 y 24 h, usando 660 larvas bajo condiciones de laboratorio, empleando extractos botánicos acuosos mayormente a la proporción 1:3 (p/v). A 24 h de exposición, los mayores porcentajes de mortalidad de *R. palmarum* se presentaron con huanchahuisacha (73,30%: hojas y tallo licuados), oreja de tigre (70%: hojas y tallo licuados) y curare (60%: madera y corteza en decocción). En el caso de la repelencia, los mayores efectos se encontraron para huanchahuisacha (80%), curare (73,30%) y oreja de tigre (71, 70%). En adición, piñon blanco (semillas licuadas) produjo sólo 3,3% de mortalidad y significativamente un 55% de repelencia. Se analizan las posibilidades de empleo de estos extractos botánicos en el manejo integrado de *R. palmarum*.

**Palabras clave:** *Aristolochia pilosa*, *Bactris gasipaes*, *Bixa orellana*, *Brugmansia*, *Cassia fistula*, *Chondrodendron tomentosum*, *Euphorbia cotinifolia*, *Heliotropium indicum*, insecticidas botánicos, *Jathropa curcas*, mortalidad, *Paullinia clavifera*, Perú, repelencia, *Rhynchoporus palmarum*, *Tradescantia zebrina*, etnobotánica.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, Ucayali, Jr. Progreso 102, Pucallpa, Ucayali, Perú. E-mail: dperez@iiap.org.pe

<sup>2</sup> Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@yahoo.es \* Autor para correspondencia.

Recibido: 19 de agosto de 2004.

Aceptado: 11 de marzo de 2005.

## INTRODUCCIÓN

El pijuayo *Bactris gasipaes* Kunth (Arecaceae) para palmito es considerado un cultivo agroindustrial que forma parte de la economía de ciertos sectores de la región Ucayali, Perú, cuya producción se comercializa directamente en fábricas locales que procesan la materia prima para su expedición a los mercados competitivos en el ámbito nacional como un producto final o semiprocesado (Villachica, 1996; Schroth *et al.*, 2000; Adin *et al.*, 2004).

*Rhynchophorus palmarum* L. (Col.: Curculionidae) conocido como “suri de palmeras”, “picudo” o “casanga”, es una de las principales plagas del pijuayo en la región neotropical (Sánchez-Soto y Nakano, 2002; Guimarães *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2003). Los adultos se encuentran frecuentemente en el área de la corona, y las hembras hacen perforaciones en la zona más blanda de la región internodal, para alimentarse y depositar los huevos. Los adultos de este insecto están señalados como los principales vectores del nemátodo fitoparásito obligado *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) organismo causal de la enfermedad “anillo rojo” (Parra *et al.*, 2003). Las formas larvianas de *R. palmarum* tienen importancia etnozoológica al ser empleadas por los amerindios amazónicos como fuente proteica animal (Cerdeira *et al.*, 2000; Paoletti *et al.*, 2000).

La utilización masiva de insecticidas convencionales, y especialmente plaguicidas de amplio espectro, es costosa y trae consecuencias colaterales secundarias, como desarrollo de la resistencia de las plagas, contaminación ambiental, residuos tóxicos en el producto cosechado, aparición de nuevas plagas, eliminación de la entomofauna benéfica e intoxicación del operador (Briones, 1991; Hoss, 1999; Iannacone y Murrugarra, 2000; Iannacone y Reyes, 2001; Iannacone y Montoro, 2002; Simmonds *et al.*, 2002). La utilización de extractos vegetales para el control de plagas tiene la ventaja de no provocar contaminación, debido a que estas sustancias son degradadas rápidamente en el medio (Benner, 1996; Iannacone y Lamas, 2002). De esta forma plantas con potencial biocida constituyen un componente importante de control, dentro del contexto de manejo integrado de plagas (Estrada y López, 1998; Iannacone y Montoro, 2002; Iannacone y Lamas, 2003).

Para la selección de las especies vegetales con potencial biocida se deben recopilar referencias bibliográficas de importancia local e internacional. Además es útil consultar literatura etnobotánica y de medicina popular (Cáceres *et al.*, 2000; Hellpap, 2000; Khambay, 2000).

Iannacone (2003) ha señalado que para el desarrollo tecnológico de un plaguicida botánico se deben estandarizar sus métodos de extracción y la propagación de las plantas. La selección de la especie de planta es el primer paso; uno de los métodos claves en la investigación de nuevos plaguicidas botánicos son los bioensayos. Estos bioensayos se emplean para estudiar las propiedades biocidas de las diferentes partes de las plantas (raíces, corteza, hojas, frutos, flores, etc.), la eficacia de los diferentes extractos y formulaciones, y el modo de acción de los ingredientes activos. Los bioensayos deben ser altamente sensitivos a las sustancias bioactivas, fáciles de manipular, baratos, de amplio espectro, y dar rápidos resultados (Iannacone, 2000).

Con relación a huanchuisacha (*Aristolochia pilosa* Kunth, Aristolochiaceae), no hay literatura publicada sobre los componentes, y efectos insecticidas y repelentes. Referencias etnobotánicas en Pucallpa, de huanchuisacha, la señalan con propiedades vomitivas (Diana Pérez, observación de la autora). Sólo se encuentra información sobre otras especies congénicas a *A. pilosa*. Hu *et al.* (2004) mostraron ausencia de efectos toxicológicos y patológicos del género *Aristolochia* sobre la vejiga urinaria y el hígado de mamíferos. Sin embargo, numerosos estudios en mamíferos señalan efectos nefrotóxicos del ácido aristolóquico de *Aristolochia* spp. (Liu *et al.*, 2003; Sato *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2004). El extracto crudo de *Aristolochia bracteata* Retz. es usado en medicina tradicional como estimulante gástrico, en el tratamiento del cáncer, para la inflamación pulmonar y en picaduras de serpientes. Además, al igual que *Aristolochia trilobata* L., esta especie presenta propiedades antibacterianas (Camporese *et al.*, 2003; Negi *et al.*, 2003). Wu *et al.* (2002) y Shi *et al.* (2004) registran alcaloides con actividad fisiológica del grupo de las bisbenzilisoquinolinas en las raíces y tallos de *Aristolochia elegans* Mast. Priestap *et al.* (2003) han registrado aceites esenciales de las hojas, tallos aéreos y órganos subterráneos de *Aristolochia argentina* Gris. Fordyce (2001) indica que los alcaloides tóxicos llamados ácidos aristolóquicos son secuestrados de

la planta *Aristolochia californica* Torrey, por las larvas de la mariposa *Battus philenor* L. (Lepidoptera: Papilionidae) con el fin de protegerse de sus depredadores. Nascimento *et al.* (2004) encontraron efectos insecticidas de los extractos acetónicos y etanólicos del tubérculo de *Aristolochia pubescens* (Willd.) sobre larvas de *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera). La cubebina no mostró actividad sobre *A. gemmatalis*. El ácido aristolóquico y el ent-kaur-15-en-17-ol alargan el período larval. La eudesmina y el sesamin reducen la viabilidad de este período, produciendo malformaciones en los adultos.

Con relación a curare (*Chondrodendron tomentosum* Ruiz & Pavon, Menispermaceae) no se tienen referencias publicadas de su uso como insecticida o repelente. Sólo se conoce que *C. tomentosum* es empleada en la preparación del “ampi”, un fuerte veneno utilizado en la caza por las comunidades amazónicas peruanas (Schultes y Raffauf, 1990). Estos efectos tóxicos se deben a su principal alcaloide, la d-tubocurarina (Schultes y Raffauf, 1990; Desmarchelery y Witting, 2000). Este alcaloide actúa bloqueando la transmisión del nervio motor, causando relajación y parálisis flácida del músculo esquelético en el cuerpo (Taylor, 2005). La d-tubocurarina tiene tanta semejanza con la acetilcolina que compite con ella y ocupa su lugar en los receptores de la membrana postsináptica de la placa neuromuscular, bloqueando así la transmisión del impulso nervioso del nervio hacia el músculo. En el Perú esta planta es usada etnobotánicamente como diurético, para edemas, como febrífuga, en orquitis, envenenamiento y cálculos renales (Taylor, 2005).

La oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort. ex Bosse, Commelinaceae), contiene saponinas responsables de su efecto cáustico, debido a un mucílago que ocasiona irritaciones en la piel (Diana Pérez, observación de la autora). Se le considera una planta de importancia ornamental; se le ha usado para la detección de radiaciones y para el biomonitorio de la calidad del aire para detectar metales trazas (Isidoro *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Sumita *et al.*, 2003). Pérez y Iannacone (2004) señalan propiedades insecticidas de esta especie sobre formas larvianas de *Anopheles benarrochi* Gabaldon, Cova García y López 1941 (Diptera).

Ekabo *et al.* (1996) señalan propiedades antifúngicas y molusquicidas del “sacha yoco” (*Paullinia*

*clavigera* Schltdl., Sapindaceae), debido a la concentración de las saponinas. Asimismo, Schultes y Raffauf (1990) indican la presencia de triterpenos,  $\beta$ -sitosterol y de aceites etéreos en una planta de la misma familia, *Serjania* (Jacq.) Willd. (Sapindaceae), determinando que los primeros son responsables de actividad ictiotóxica. En la especie congénica a *P. clavigera*, *Paullinia pinnata* L. se han registrado actividades molusquicidas contra *Biomphalaria glabrata* (Say), hospedero intermedio de *Schistosoma mansoni* (Sambon) (Meléndez y Carriles, 2002), posiblemente debido a flavonas glicosiladas (Abourashed *et al.*, 1999). Pérez y Iannacone (2004) señalan propiedades insecticidas del sacha yoco sobre formas larvianas de *A. benarrochi*.

Se han registrado efectos cáusticos, vesicantes y tóxicos de ciertas especies del género *Euphorbia* (Pascual, 1996). Se considera a *E. cotinifolia* como un excelente ictiocida, en comparación con los géneros *Lonchocarpus* Kunth y *Derris* (Wallich) Benth. Se han citado varias especies de *Euphorbia* con propiedades bactericidas (Cowan, 1999). No se tienen referencias publicadas sobre efectos biocidas de yuquilla (*Euphorbia cotinifolia* L., Euphorbiaceae).

El achiote (*Bixa orellana* L., Bixaceae), es una planta arbustiva, que se encuentra en el ecosistema forestal de los bosques tropicales amazónicos, y ahora es cultivado en el trópico a través de todo el mundo. Su tinte no es tóxico y no altera el sabor del alimento y también tiene varias aplicaciones en los alimentos, cosméticos e industrias farmacéuticas (Glew *et al.*, 1997; Silveira *et al.*, 2002; Lima *et al.*, 2003). Salgado y Campos (2003) han evaluado el efecto fitonematicida de *B. orellana* sobre la eclosión y mortalidad de *Meloidogyne exigua* (Goeldi). Dentro de las plantas repelentes e insecticidas de importancia para Guyana, Surinam y Guyana Francesa se citan *B. orellana* y piñón blanco (*Jathropa curcas* L., Euphorbiaceae). En adición, Ramírez *et al.* (1988) hacen referencia sólo al efecto repelente de *B. orellana*.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la mortalidad y repelencia de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., bajo la acción de diez plantas seleccionadas: ucullucuyasacha (*Heliotropium indicum* L., Boraginaceae), floripondio (*Brugmansia* sp., Solanaceae), oreja de tigre (*T. zebrina*, Commeli-

naceae), piñon blanco (*J. curcas*, Euphorbiaceae), sacha yoco (*P. clavigera*, Sapindaceae), yuquilla (*E. cotinifolia*, Euphorbiaceae), achiote (*B. orellana*, Bixaceae), retama común (*Cassia fistula* L., Fabaceae), huanchahuisacha (*A. pilosa*, Aristolochiaceae) y curare (*C. tomentosum*, Menispermaceae).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó entre los meses de mayo 2001 y abril del 2002, en la ciudad de Pucallpa, Ucayali, Perú. Consistió de tres fases: la primera, incluyó la colecta de *R. palmarum*, en plantaciones de pijuayo para palmito en Pucallpa, Ucayali, Perú (8°22' lat. Sur y 74°34' long. Oeste). En la segunda fase se realizó la colecta del material y germoplasma vegetal, en las localidades de los distritos de Yarinacocha, Callería, Nueva Requena, Campo Verde e Irazola, pertenecientes a las provincias de Coronel Portillo y Padre Abad (7°57' y 9°27' lat. Sur; 74°10' y 75°56' long. Oeste), Ucayali, Perú. La tercera fase, tuvo lugar en el Laboratorio de Entomología de la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Pucallpa (8°22' lat. Sur y 74°34' long. Oeste, 154 msnm), donde se realizó el confinamiento y crianza del insecto plaga, así como la preparación, aplicación y evaluación de los extractos botánicos acuosos.

### *Rhynchophorus palmarum*

Los individuos se colectaron en plantaciones de pijuayo para palmito, en forma manual y utilizando trampas atrayentes, identificando a la especie de acuerdo a Villachica (1996), separándolos por sexo después de la cópula. Las posturas recuperadas se

acondicionaron en placas Petri provistas de una base húmeda, debido a la sensibilidad de los huevos a la desecación. Las larvas se alimentaron individualmente, con sustrato a base de palmito, manteniéndose esta dieta hasta el octavo estadio, cambiándose luego a peciolos de aguaje (*Mauritia flexuosa* L., Arecaceae) para inducir y facilitar el empupamiento.

### Material vegetal

Se seleccionaron diez especies de plantas señaladas con potencial biocida, a partir de un total de 62 especies de importancia etnobotánica en Pucallpa, y se realizó la colecta del material vegetal empleando el mapa de Zonificación Ecológica y Económica de la Cuenca del Aguaytía (IIAP, 1999) y el estudio de prospección etnobotánica realizado por Pérez (2002). La identificación de las especies vegetales siguió la nomenclatura propuesta por Brako y Zarucchi (1993) y Desmarchelier y Witting (2000). Las semillas se extrajeron directamente de frutos secos y se conservaron en bolsas plásticas. Las estacas leñosas se colectaron en segmentos de 20 y 30 cm de longitud. Las diez plantas empleadas fueron: 1) ucullucuyacha (*Heliotropium indicum*, Boraginaceae), 2) floripondio (*Brugmansia* sp., Solanaceae), 3) oreja de tigre (*Tradescantia zebrina*, Commelinaceae), 4) piñon blanco (*Jathropa curcas*, Euphorbiaceae), 5) sacha yoco (*Paullinia clavigera*, Sapindaceae), 6) yuquilla (*Euphorbia cotinifolia*, Euphorbiaceae) 7) achiote (*Bixa orellana*, Bixaceae), 8) retama común (*Cassia fistula*, Fabaceae), 9) huanchahuisacha (*Aristolochia pilosa*, Aristolochiaceae) y 10) curare (*Chondrodendron tomentosum*, Menispermaceae) (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Especies de importancia etnobotánica empleadas para el control de *Rhynchophorus palmarum*.**

**Table 1. Species of ethnobotanical importance employed for the control of *Rhynchophorus palmarum*.**

Nombre común	Especie	Familia	Estructuras de uso	Estado fenológico
Achiote	<i>Bixa orellana</i>	Bixaceae	Semillas	Fructificación
Huanchahuisacha	<i>Aristolochia pilosa</i>	Aristolochiaceae	Hojas y tallos	D.V.
Yuquilla	<i>Euphorbia cotinifolia</i>	Euphorbiaceae	Hojas	Floración
Piñon blanco	<i>Jathropa curcas</i>	Euphorbiaceae	Semillas	Fructificación
Floripondio	<i>Brugmansia</i> sp.	Solanaceae	Hojas	D.V.
Retama común	<i>Cassia fistula</i>	Fabaceae	Hojas	Floración
Oreja de tigre	<i>Tradescantia zebrina</i>	Comelinaceae	Hojas y tallos	Floración
Ucullucuyacha	<i>Heliotropium indicum</i>	Boraginaceae	Hojas	Floración
Curare	<i>Chondrodendron tomentosum</i>	Menispermaceae	Corteza	Floración
Sacha yoco	<i>Paullinia clavigera</i>	Sapindaceae	Corteza y hojas	D.V.

D.V. = Desarrollo vegetativo.

Las diez especies vegetales, seleccionadas de acuerdo a: 1) su disponibilidad de material botánico, y 2) referencias locales de actividad biocida, se conservaron *ex situ* en el Huerto de Plantas Medicinales y Biocidas del Centro Regional de Investigación, IIAP-Ucayali. El material tipo de las especies vegetales se identificó y depositó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (MHN-UNMSM) y en el Herbario de la Facultad de Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (HFF-UNALM), Lima, Perú.

Se recolectó el material vegetal de acuerdo a las estructuras seleccionadas, y se separaron las partes u órganos de las plantas colectadas libres de enfermedades y picaduras de insectos, expulsando los residuos y otros materiales impropios de las plantas. Se pesó el material vegetal en agua destilada en una proporción de 1:3 (p/v). El proceso de decocción se utilizó sólo para las especies de “curare” y “sacha yoco” debido a las referencias etnobotánicas de uso en la localidad; se empleó 300 g de material vegetal en 3 L de agua hasta la obtención de un caldo de 300 mL, mientras que el licuado se aplicó a las ocho especies vegetales restantes. Finalmente, se filtró y se separó la fibra, determinando la cantidad del extracto acuoso obtenido.

### Bioensayos de toxicidad

Se empleó un bioensayo estático, es decir, sin renovación de la solución biocida durante todo el tiempo de exposición. El tiempo de exposición fue de 1, 4, 8, 12 y 24 h siguiendo las recomendaciones de Pérez y Iannacone (2004). Los bioensayos se llevaron a cabo a una temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  y a una HR de  $77 \pm 4\%$ . El agua destilada se ajustó a pH 7. El fotoperíodo fue de 12:12. El área interna total del envase empleado fue de 12 cm<sup>2</sup>. El tiempo de embebición del alimento (base del palmito [5 g]) fue de 10 min. Se usó el tercer estadio de *R. palmarum* para los ensayos de mortalidad y repelencia. El número de larvas por repetición fue de 15 y 60 por tratamiento. El número de larvas total por ensayo fue de 660 y un individuo por envase. El agua usada en el control y en dilución fue agua destilada. El tiempo de observación en los envases descartables fue de 10 s de observación directa. Las respuestas evaluadas fueron mortalidad (inmovilización de las larvas de tercer estadio, es decir, la ausencia de

movimiento coordinado al ser pinchadas con un alfiler entomológico) y repelencia (alejamiento de la larva a un extremo del envase desde la fuente del alimento ubicado en el otro extremo, durante 5 min de observación).

### Diseño experimental y tratamiento estadístico

Las pruebas de toxicidad de los extractos acuosos sobre las larvas de tercer estadio de *R. palmarum* se evaluaron con cada una de las diez plantas más el control, con cuatro repeticiones, en un diseño completamente al azar (DCA) 11 x 4. La eficacia de los tratamientos (porcentaje de mortalidad y de repelencia de 1 a 24 h de exposición) se evaluó a través de un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, con un nivel de significancia de  $p = 0,05$ , previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno, con el fin de asegurar una homogeneidad de varianzas (Zar, 1996). En el caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de Tukey. Los cálculos de la mortalidad corregida se realizaron mediante la fórmula de Abbott en caso de muerte natural en el grupo testigo (Abbott, 1925). El análisis de correlación de Pearson se usó con el fin de relacionar los tiempos de exposición y porcentajes de mortalidad y repelencia de *R. palmarum*. Los datos se analizaron mediante el paquete SPSS versión 12,0 (SPSS, 2004).

## RESULTADOS

El Cuadro 2 presenta el efecto de mortalidad de los diez extractos botánicos sobre el tercer estadio de *R. palmarum* en cinco períodos de exposición (1 a 24 h). El extracto de oreja de tigre tuvo el efecto más rápido, pues de 1 a 12 h de exposición presentó los mayores efectos de mortalidad; sin embargo, a las 24 h de exposición, el huancahuisacha, oreja de tigre y curare produjeron iguales mortalidades, pero mayores en comparación con los otros siete extractos, con bajas mortalidades y, por lo tanto, poco promisorios. Siete de los diez extractos empleados presentaron efectos de mortalidad significativos a las 24 h de exposición. A 24 h de exposición, el orden de mayor a menor efectividad en términos de porcentaje de mortalidad fue: huancahuisacha, oreja de tigre, curare, yuquilla, achiote, sacha yoco, floripondio, uculluysacha, piñón blanco y retama común (Cuadro 2).

El Cuadro 3 presenta el efecto de repelencia de los diez extractos botánicos sobre el tercer estadio de *R. palmarum* a cinco períodos de exposición (1 a 24 h). Todos los extractos botánicos empleados a 1 h de exposición produjeron efectos de repelencia diferentes al testigo. El piñón blanco, la oreja de tigre y la yuquilla de 1 a 8 h de exposición presentaron los mayores efectos de repelencia. Sin embargo, a 24 h de exposición, el huanchahuisacha, el curare y la oreja de tigre presentaron las mayores repelencias en comparación con los otros siete extractos. Nueve de los diez extractos empleados presentaron efectos de

repelencia a las 24 h de exposición diferentes al testigo. A 24 h de exposición, el orden de mayor a menor efectividad, en términos de porcentaje de repelencia fue: huanchahuisacha, curare, oreja de tigre, piñón blanco, yuquilla, achiote, sachá yoco, floripondio, uculluysacha y retama común (Cuadro 3).

Una evaluación del efecto integral de los diez extractos botánicos acuosos con relación al tiempo de exposición, mostró para la mortalidad, en general, un aumento con el tiempo de exposición ( $r = 0,90$ ;  $P = 0,03$ ); en contraste la repelencia en general no

**Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de larvas de tercer estadio de *Rhynchophorus palmarum* a 1, 4, 8, 12 y 24 h de exposición a diez extractos botánicos acuosos de importancia etnobotánica en la Región Ucayali, Perú.**

**Table 2. Mortality percentage of third instar larvae of *Rhynchophorus palmarum* at 1, 4, 8, 12 and 24 h exposure to ten aqueous botanical extracts of ethnobotanical importance in the Ucayali Region, Peru.**

Tratamientos	1 h	4 h	8 h	12 h	24 h
Testigo	0 ± 0 a	0 ± a	0 ± a	0 ± a	0 ± a
Uculluysacha	0 ± 0 a	8,3 ± 3,4 a	16,7 ± 3,9 ab	16,7 ± 3,9 ab	16,7 ± 3,9 ab
Floripondio	0 ± 0 a	25 ± 8,4 b	26,7 ± 5,4 b	26,7 ± 5,4 B	26,7 ± 5,4 b
Oreja de tigre	36,7 ± 8,6 b	61,7 ± 3,3 c	70 ± 8,6 c	70 ± 8,6 D	70 ± 8,6 d
Piñón blanco	0 ± 0 a	0 ± 0 a	3,3 ± 6,6 a	3,3 ± 6,6 A	3,3 ± 6,6 a
Sachá yoco	0 ± 0 a	31,7 ± 6,4 b	31,7 ± 6,4 b	31,7 ± 6,4 b	31,7 ± 6,4 b
Yuquilla	0 ± 0 a	15 ± 6,4 ab	25 ± 6,4 b	36,7 ± 6,7 b	43,3 ± 6,7 bc
Achiote	0 ± 0 a	11,7 ± 6,4 a	26,7 ± 5,4 b	33,3 ± 5,5 b	33,3 ± 5,5 b
Retama común	0 ± 0 a	1,7 ± 3,3 a	1,7 ± 3,3 a	1,7 ± 3,3 a	1,7 ± 3,3 a
Huanchahuisacha	0 ± 0 a	0 ± 0 a	5 ± 10 a	38,3 ± 14,8 bc	73,3 ± 10,9 d
Curaré	0 ± 0 a	1,7 ± 3,3 a	30 ± 6,7 b	50 ± 3,9 c	60 ± 5,4 cd

Promedios seguidos por la misma letra en la columna no presentan diferencias estadísticas según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Cuadro 3. Porcentaje de repelencia de larvas de tercer estadio de *Rhynchophorus palmarum* a 1, 4, 8, 12 y 24 h de exposición a diez extractos botánicos acuosos de importancia etnobotánica en la Región Ucayali, Perú.**

**Table 3. Repellency percentages of third instar larvae of *Rhynchophorus palmarum* at 1, 4, 8, 12 and 24 h exposure to ten aqueous botanical extracts of ethnobotanical importance in the Ucayali Region, Peru.**

Tratamientos	1 h	4 h	8 h	12 h	24 h
Testigo	13,3(0) <sup>1</sup> ± 5,5 a	1,7(0) <sup>1</sup> ± 3,3 a	0 ± 0 a	0 ± 0 a	0 ± 0 a
Uculluysacha	85 (82,7) ± 8,2 c	45 (44,0) ± 6,7 c	25 ± 5,9 b	21,7 ± 5,9 b	16,7 ± 4,9 b
Floripondio	50 (42,3) ± 8,4 b	41,7(40,6) ± 6,4 c	31,7 ± 5,4 b	26,7 ± 5,9 b	26,7 ± 5,9 b
Oreja de tigre	70 (65,4) ± 7,6 bc	73,4(72,9) ± 6,7 e	78,3 ± 9,7 d	76,7 ± 9,6 c	71,7 ± 9,6 d
Piñón blanco	100 (100) ± 0,0 d	83,3(83,0) ± 7,4 e	78,3 ± 9,4 d	61,6 ± 8,7 c	55 ± 6,9 c
Sachá yoco	91,7(90,4) ± 8,4 cd	55 (54,2) ± 6,9 cd	46,7 ± 4,9 bc	36,7 ± 9,4 b	31,7 ± 10,1 b
Yuquilla	88,3(86,5) ± 7,6 c	63,3(62,6) ± 6,6 de	65 ± 6,9 cd	58,4 ± 9,9 c	48,3 ± 5,4 c
Achiote	86,7(84,6) ± 7,4 c	53,4(52,6) ± 6,7 cd	38,4 ± 6,7 b	33,3 ± 12,4 b	33,3 ± 12,4 b
Retama común	78,3(74,9) ± 12,9 bc	16,7(15,3) ± 5,4 b	3,4 ± 3,3 a	1,7 ± 3,3 a	1,7 ± 3,3 a
Huanchahuisacha	95 (94,2) ± 10,9 cd	38,3(37,2) ± 5,4 c	36,7 ± 6,9 b	61,6 ± 8,7 c	80 ± 9,6 d
Curaré	80 (76,9) ± 9,4 c	56,7(55,9) ± 6,4 cd	58,3 ± 6,6 cd	68,3 ± 8,9 c	73,3 ± 9,4 d

Promedios seguidos por la misma letra en la columna no presentan diferencias estadísticas según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup> : Los valores entre paréntesis fueron ajustados con la fórmula de Abbott.

mostró ninguna tendencia con el tiempo de exposición ( $r = -0,67$ ;  $P = 0,21$ ). A 24 h de exposición, la mortalidad y la repelencia estuvieron relacionadas negativamente entre sí ( $r = -0,90$ ;  $p = 0,03$ ).

## DISCUSIÓN

Los presentes resultados muestran efectividad en términos de mortalidad y repelencia de los extractos botánicos acuosos sobre las formas larvianas de *R. palmarum* (Cuadros 2 y 3). Las diferencias en la efectividad encontrada es dependiente de algunos factores, tales como la especie y variedad de planta, época de recolección, parte cosechada y forma de preparación, extracción y aplicación (Pérez y Iannacone, 2004).

El ácido aristolóquico y los terpenoides presentes en el género *Aristolochia* presentan alta actividad biológica (Abe *et al.*, 2002; Poonam *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2004). Efectos insecticidas de los extractos de especies congénéricas a huanchuisacha como *A. pubescens* y *A. argentina* han sido encontrados sobre *A. gemmatalis* y *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera), respectivamente (Broussalis *et al.*, 1999; Nascimento *et al.*, 2004). Efectos repelentes de las raíces de *Aristolochia aff. orbicularis* Durch se han encontrado sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera) (Rauscher *et al.*, 2001).

El extracto acuoso de oreja de tigre ocasionó una mortalidad de 58,82% diferente al control, a una concentración acuosa de 2,5 % sobre *A. benarrochi* a 24 h de exposición (Pérez y Iannacone, 2004). En el presente estudio, una concentración de 33,3% ocasionó una mortalidad de 70% sobre *R. palmarum* a 24 h de exposición (Cuadro 2).

Para el caso del curare, Duke (1992) atribuye los efectos insecticidas solamente a la curina de sus hojas a partir de un total de 14 ingredientes activos aislados. Es posible que esta sustancia sea la que actúe sobre la mortalidad y repelencia de *R. palmarum* (Cuadro 2 y 3), aunque en el presente estudio se obtuvo el material de la corteza de la planta del curare y no de hoja (Cuadro 1). No se tienen datos en la literatura de efectos insecticidas o repelentes del curare en otras plagas insectiles (Lee, 2005).

La actividad tóxica de los principios activos de las plantas empleadas sobre *R. palmarum* por el tipo de bioensayo evaluado serían de ingesta y de contacto (Pérez y Iannacone, 2004). Se requiere una mayor dilucidación de los grupos funcionales de las sustancias químicas presentes en los extractos acuosos que favorezcan la explicación de los resultados obtenidos.

Finalmente, los resultados muestran que en general a las concentraciones empleadas, por lo menos en siete de los diez extractos acuosos botánicos, son adecuados y promisorios para ser usados con otras herramientas en el Manejo Integrado de Plagas (MIP) para el control de *R. palmarum*.

## CONCLUSIONES

Los mayores porcentajes de mortalidad de *Rhynchosporus palmarum* a 24 h de exposición se presentaron con huanchuisacha (*Aristolochia pilosa*, 73,30%: hojas y tallo licuados), oreja de tigre (*Tradescantia zebrina*, Commelinaceae, 70%: hojas y tallo licuados) y curare (*Chondrodendron tomentosum*, Menispermaceae, 60%: madera y corteza en decocción).

Los mayores porcentajes de la repelencia sobre *R. palmarum* a 24 h de exposición se encontraron en huanchuisacha (80%), curare (73,30%) y oreja de tigre (71,70%).

El piñón blanco (*Jathropa curcas*, Euphorbiaceae, semillas licuadas) presentó sólo 3,3% de mortalidad y significativamente un 55% de repelencia.

## RECONOCIMIENTOS

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) por el financiamiento de la presente investigación. Al Ing. Claudio Vela Panduro, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) por su apoyo en la crianza de *Rhynchosporus palmarum*. Este trabajo fue expuesto en el III Encuentro Científico Internacional de invierno (ECI<sub>i</sub>), 30 de julio al 2 de agosto del 2004, Lima, Perú.

## LITERATURA CITADA

- Abe, F., S. Nagafuji, T. Yamauchi, H. Okabe, J. Maki, H. Higo, *et al.* 2002. Trypanocidal constituents in plants I. Evaluation of some mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in guaco, roots of *Aristolochia taliscana*. Biol. Pharm. Bull. 25:1188-1191.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:265-266.
- Abourashed, E.A., N.J. Toyang, J. Jr. Choinski, and I.A. Khan. 1999. Two new flavone glycosides from *Paullinia pinnata*. J. Nat. Prod. 62:1179-1181.
- Adin, A., J.C. Weber, C. Sotelo Montes, H. Vidaurre, B. Vosman, and M.J. Smulders. 2004. Genetic differentiation and trade among populations of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) in the Peruvian amazon. Implications for genetic resource management. Theor. Appl. Genet. 108:1564-1573.
- Benner, J.P. 1996. Crop protection agents from higher plants. An overview. p. 217-229. Chapter 6, Part 1. In Copping, L.G. (ed.). Crop protection agents from nature: natural products and analogues. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, England.
- Brako, L., and J.L. Zarucchi. 1993. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 45:1-1286.
- Briones, R.A. 1991. Conocimiento campesino del uso de plantas insecticidas en el área del proyecto piloto de ecosistemas andinos. Rev. Agronomía (Perú) 39:63-72.
- Broussalis, A.M., G.E. Ferraro, V.S. Martino, R. Pinzon, J.D. Coussio, and J.C. Alvarez. 1999. Argentine plants as potential source of insecticidal compounds. J. Ethnopharmacol. 67:219-223.
- Cáceres, H.F., V.A. García, y E. Ponce. 2000. Plantas biocidas de la Provincia de Arequipa. p. 91. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de Botánica, Arequipa. Abril 24-28, 2000. Universidad Nacional San Agustín, Arequipa, Perú.
- Camporese, A., M.J. Balick, R. Arvigo, R.G. Eposito, N. Morsellino, F. De Simona, and A. Tubazo. 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). J. Ethnopharmacol. 87:103-107.
- Cerda, H., R. Martinez, N. Briceño, L. Pizsoferrato, P. Manzi, M. Tommaso Ponzeta, *et al.* 2000. Palm worm (Insecta, Coleoptera, Curculionidae: *Rhynchophorus palmarum*) traditional food in amazonas: nutritional composition, small scale production and tourist palatability. Ecol. Food Nutr. 40:13-32.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12:564-582.
- Desmarchelier, C., y F. Witting. 2000. Sesenta plantas medicinales de la Amazonía peruana, ecología, etnomedicina y bioactividad. 270 p. Turbera Inc. S.A., Lima, Perú.
- Duke, J.A. 1992. Handbook of biologically active phytochemicals and their activities. 183 p. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Ekabo, O., N. Farnsworth, T. Henderson, G. Mao, R. Mukherjee, *et al.* 1996. Antifungal and molluscicidal saponins from *Serjania salzmanniana*. J. Nat. Prod. 59:431-435.
- Estrada, J., y M. López. 1998. Los bioplaguicidas, tecnología para la agricultura sostenible. 39 p. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Fordyce, J.A. 2001. The lethal defense paradox remains: inducible host-plant aristolochic acids and the growth and defense of the pipevine swallowtail. Entomol. Exp. Appl. 100:339-346.
- Glew, R.H., D.J. VanderJagt, C. Lockett, L.E. Grivetti, G.C. Smith, A. Pastuszyn, and M. Millson. 1997. Amino acid, fatty acid, and mineral composition of 24 indigenous plants of Burkina Faso. J. Food Comp. Anal. 10:205-217.
- Guimarães, A.D., I.S. Lima, D.M.A. Ferraz, e A.E. Goulart. 2003. Captura de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) em armadilhas iscadas con o feromônio de agregação e compostos voláteis de furtos do abacaxi. Rev. Bras. Fructif. 25:81-84.
- Hellpap, C. 2000. El desarrollo de un plaguicida botánico. Pasos necesarios. p. 75-82. In Arning, I. y H. Velásquez (eds.). Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Hoss, R. 1999. Recursos botánicos con potencial biocida: Conceptos básicos y métodos de análisis. 80 p. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.
- Hu, S.L., H.Q. Zhang, K. Chan, and Q.X. Mei. 2004. Studies on the toxicity of *Aristolochia manshuriensis* (Guanmuton). Toxicol. 198:195-201.
- Iannacone, J. 2000. La pulga del agua *Moina macrocopa* y el nemátode *Panagrellus redivivus* como modelos alternativos de bioensayos para la detección de sustancias biocidas fisiológicamente activas. p. 13-26. In Arning, I. y H. Velásquez (eds.). Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú.

- Iannacone, J. 2003. Uso y perspectivas de plaguicidas botánicos en el Perú: reviviendo y modernizando una práctica antigua con insecticidas etnobotánicos. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA). Boletín RAAA 45:14-17.
- Iannacone, J., y G. Lamas. 2002. Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 65:92-101.
- Iannacone, J., y G. Lamas. 2003. Efecto toxicológico de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. Agric. Téc. (Chile) 63:347-360.
- Iannacone, J., e Y. Montoro. 2002. Impacto de dos productos botánicos bioinsecticidas (azadiractina y rotenona) sobre la artropofauna capturada con trampas de suelo en el tomate en Ica, Perú. Rev. Col. Entomol. 28:191-198.
- Iannacone J., e Y. Murrugarra. 2000. Fluctuación poblacional del predador *Metacanthus tenellus* Stal (Heteroptera: Berytidae) por los insecticidas botánicos Rotenona y Neem en el cultivo de tomate en el Perú. Rev. Col. Entomol. 26:89-97.
- Iannacone, J., y M. Reyes. 2001. Efecto en las poblaciones de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) y *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) por los insecticidas botánicos Rotenona y Neem en el cultivo de tomate en el Perú. Rev. Col. Entomol. 27:147-152.
- IIAP. 1999. Zonificación Ecológica-Económica de la Cuenca del río Aguaytía. 37 p. Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana (IIAP), Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI), Consejo Transitorio de Administración Regional (CTAR). Loreto, Pucallpa, Perú.
- Isidoro, M., M. Ferrara, M. Lavorgna, A. Nardelli, and A. Parrilla. 2003. *In situ* monitoring of urban air in Southern Italy with the *Tradescantia* micronucleus bioassay and semipermeable membrane devices (SPMDs). Chemosphere 52:121-126.
- Khambay, B.P.S. 2000. Botanical insecticides: acceptability of established practices and challenges in developing new ones. Book of Abstracts I. XXI International Congress of Entomology. XVIII Brazilian Congress of Entomology. Foz do Iguassu, Brazil. 20-26 August. Sociedade Entomologica do Brasil and Embrapa/Soja, Londrina, Brazil.
- Kim, J.K., H.S. Shin, J.H. Lee, J.J. Lee, and J.H. Lee. 2003. Genotoxic effects of volatile organic compounds in a chemical factory as evaluated by the *Tradescantia* micronucleus assay and by chemical analysis. Mutat. Res. 541:55-61.
- Lee, M.R. 2005. Curare: the South American arrow poison. J.R. Coll. Physicians Edinb. 35:83-92.
- Lima, L.R.P., T.T. de Oliveira, and T.J. Nagem. 2003. Effects of the flavonoid quercetin and the natural dyes bixin and norbixin on blood parameters of rabbits. Rev. Nutr. Campinas 16:305-314.
- Liu, M.C., S. Maruyama, M. Mizuno, Y. Morita, S. Hanaki, Y. Yuzawa, and S. Matsuo. 2003. The nephrotoxicity of *Aristolochia manshuriensis* in rats is attributable to its aristolochic acids. Clin. Exp. Nephrol. 7:186-194.
- Melendez, P.A., and V.A. Carriles. 2002. Molluscicidal activity of plants from Puerto Rico. Ann. Trop. Med. Parasitol. 96:209-218.
- Nascimento, I.R., A.T. Murata, S.A. Bortoli, and L.M. Lopes. 2004. Insecticidal activity of chemical constituents from *Aristolochia pubescens* against *Anticarsia gemmatalis* larvae. Pest Manage. Sci. 60:413-416.
- Negi, P.S., C. Anandharamkrishnan, and G.K. Jayaprakasha. 2003. Antibacterial activity of *Aristolochia bracteata* root extracts. J. Med. Food 6:401-403.
- Paoletti, M.G., D.L. Dufour, H. Cerda, F. Torres, L. Pizzoferrato, and D. Pimentel. 2000. The importance of leaf and litter feeding invertebrates as source of animal protein for the Amazonian Amerindians. Proc. R. Soc. London B 267:2247-2252.
- Parra, D., F. Morillo, P. Sánchez, J. Pineda, y J. Guerra. 2003. Presencia de *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn en el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* Linneo (Coleoptera: Curculionidae). Entomotropica 18:49-55.
- Pascual, V.M.J. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. 25 p. Instituto de la Nutrición, de la Alimentación y de las Tecnologías Agroalimentarias (INATAA), Madrid, España.
- Pérez, D. 2002. Etnobotánica medicinal y biocidas para malaria en la región Ucayali. Folia Amazónica 13:85-106.
- Pérez, D., y J. Iannacone. 2004. Efecto insecticida de sacha yoco (*Paullinia clavigera* var. *bullata* Simpson) (Sapindaceae) y oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort ex Bosse) (Commelinaceae) en el control de *Anopheles benarrochi* Gabaldon, Cova García y López, 1941, principal vector de malaria en Ucayali, Perú. Ecol. Applic. 3:64-72.
- Poonam, V.K., A.K. Prasad, and V.S. Parmar. 2003. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities. Nat. Prod. Rep. 20:565-583.

- Priestap, H.A., C.M. van Baren, P. Di Leo Lira, J.D. Coussio, and A.L. Bandoni. 2003. Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. *Phytochemistry* 63:221-225.
- Ramírez, V., L. Mostacera, A. García, C. Mejía, P. Peláez, C. Medicina, y C. Miranda. 1988. Vegetales empleados en la medicina norperuana. p. 54. Banco Agrario del Perú y Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Rauscher, J., R.M. Guillen, M. Albores-Velasco, G. Gonzales, O. Vostrowsky, and L.L. Bestmann. 2001. The repellence of *Aristolochia aff. orbicularis* roots againsts the corn borer *Sitophilus zeamais*. *Z. Naturforsch* 56:575-580.
- Salgado, S. M.L., e V.P. Campos. 2003. Ecloração e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. *Fitopatol. Bras.* 28:166-170.
- Sánchez-Soto, S., y O. Nakano. 2002. Registro de *Rhynchoporus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no Estado de Mato Grosso do Sul. *Neotropical Entomol.* 31:659-660.
- Sato, N., D. Takahashi, S.M. Chen, R. Tsuchiya, T. Mukoyama, S. Yamagata *et al.* 2004. Acute nephrotoxicity of aristolochic acids in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 56:221-229.
- Schroth, G., W.G. Texeira, R. Seixas, L. F. da Silva, M. Schaller, and W. Zech. 2000. Effect of five tree crops and a cover crop in multi-strata agroforestry at two fertilization levels on soil fertility and soil solution chemistry in Central Amazonia. *Plant Soil* 221:143-156.
- Schultes, R.E., and R.F. Raffauf. 1990. The healing forest: Medicinal and toxic plant of the Northwest Amazonia (Historical, Ethno & Economic Botany, Vol. 2). 484 p. Discorides Press, Portland, Oregon, USA.
- Shi, L.S., P.C. Kuo, Y.L. Tsai, A.G. Damu, and T.S. Wu. 2004. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorg. Med. Chem.* 12:439-446.
- Silveira, A.E.V., A.R. Sao José, S.N. Matsumoto, and S.G. Sales Jr. 2002. Estimation of optimum plot sizes field experiments with annatto. *Bragantia* 61:181-185.
- Simmonds, M.S.J., J.D. Manlove, and B.P.S. Khambay. 2002. Effects of selected botanical insecticides on the behaviour and mortality of the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and the parasitoid *Encarsia Formosa*. *Entomol. Exp. Appl.* 102:39-47.
- SPSS. 2004. Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). SPSS Base 12.0 User's Guide for Windows. SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA. Available at <http://www.spss.com/spss> Accessed 8 December 2004.
- Sumita, N.M., M.E. Mendes, M. Macchione, E.T. Guimaraes, A.J. de Lichtenfels, D.J. de Lobo *et al.* 2003. *Tradescantia pallida* cv. *purpurea* boom in the characterization of air pollution by accumulation of trace elements. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 53:574-579.
- Taylor, L.N.D. 2005. The healing power of rainforest herbs, a guide to understanding and using herbal medicinals. 535 p. Square One Publishers, Inc., New York, USA.
- Villachica, H. 1996. Cultivo del Pijuayo (*Bactris gasipaes* Kunth) para palmito en la Amazonía Peruana. 152 p. Tratado de Cooperación Amazónica (TCA), Lima, Perú.
- Wu, T.S., Y.L. Tsai, A.G. Damu, P.C. Kuo, and P.L. Wu. 2002. Constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *J. Nat. Prod.* 65:1522-1525.
- Wu, T.S., A.G. Damu, C.R. Su, and P.C. 2004. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. *Nat. Prod. Rep.* 21:594-624.
- Zar, J.H. 1996. Bioestatistical analysis. 662 p. 3<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall. Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA.
- Zhou, S., H.L. Koh, Y. Gao, Z.Y. Gong, and E.J. Lee. 2004. Herbal bioactivation: the good, the bad and the ugly. *Life Sci.* 74:935-968.