

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS DE *Piper grande* Vahl (PIPERACEAE) EN EL MODELO BIOLÓGICO: *Drosophila melanogaster*

Hillmer Granados N.<sup>1</sup>; Jairo Sáez V.<sup>2</sup>; Carolina Robles<sup>3</sup>; Luis F. Vázquez<sup>4</sup>;  
María E. Moreno<sup>5</sup>; José M. Acevedo<sup>6</sup>; Carlos A. Peláez J.<sup>7</sup>; Ricardo Callejas<sup>8</sup>

---

### RESUMEN

*Se evaluó la actividad insecticida de los extractos de n-Hexano (raíces y tallos) y de EtOAc (raíces y hojas) de la especie Piper grande Vahl, sobre el ciclo de vida del modelo biológico Drosophila melanogaster. Los estados larvarios presentaron una actividad significativa reflejada en la reducción de las poblaciones de pupas respecto al control. No se observó inhibición en el paso Pupa a Adulto (P/A), toda vez que el promedio de la relación P/A fue de aproximadamente 1 a lo largo de las concentraciones evaluadas para todos los extractos. Los extractos más activos fueron los de n-Hexano y EtOAc de raíces con CL50 de 698.2 ppm y 1210.7 ppm respectivamente. La actividad de los extractos de n-Hexano (tallos) y EtOAc (hojas), fue mas moderada con una CL50 de 1654.1 ppm y 2376.0 ppm respectivamente.*

- 
- <sup>1</sup> Químico. Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación: Química de Plantas Colombianas. A.A. 1226. Medellín-Colombia.
  - <sup>2</sup> Químico, M.Sc. Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación: Química de Plantas Colombianas. A.A. 1226. Medellín-Colombia.
  - <sup>3</sup> Química. Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación: Química de Plantas Colombianas. A.A. 1226. Medellín-Colombia.
  - <sup>4</sup> Químico. Universidad de Antioquia. Grupo de Investigación: Química de Plantas Colombianas. A.A. 1226. Medellín-Colombia.
  - <sup>5</sup> Bióloga, M.Sc. Universidad de Antioquia. Instituto de Química. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares GIEM, A.A. 1226, Medellín-Colombia.
  - <sup>6</sup> Biólogo. Universidad de Antioquia. Instituto de Química. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares GIEM, A.A. 1226, Medellín-Colombia.
  - <sup>7</sup> Biólogo, M.Sc. Universidad de Antioquia. Instituto de Química. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares GIEM, A.A. 1226, Medellín-Colombia.
  - <sup>8</sup> Biólogo. Universidad de Antioquia. Instituto de Biología. A.A. 1226. Medellín-Colombia.

**Palabras clave.** *Piper grande*, Acción biológica, *Drosophila melanogaster*, insecticida.

---

### ABSTRACT

**Evaluation of the insecticidal activity of the extracts from *Piper grande* Vahl (Piperaceae) using the biological model *Drosophila melanogaster***

In this study, using the life cycle interruption test with the *Drosophila melanogaster* model, under (in-vitro conditions), the n-Hexane (roots and stems) and the EtOAc (roots and leaves) extracts were evaluated as insecticides and the results were promising. The larvae instar showed a significant activity reflected in the reduction of pupae population with respect to the control. The step from Pupae to Adult did not show inhibition because in all cases the average of the relation Pupae/Adult is found in values very near 1. The n-Hexane and the EtOAc extracts from roots were the most active with LC50 of 698.2 ppm and 1210.7 ppm. The n-Hexane (stems) and EtOAc (leaves) extracts showed a moderate activity with LC50 of 1654.1 ppm and 2376.0 ppm.

**Key Words.** *Piper grande*, biological action, *Drosophila melanogaster*, insecticide.

---

### INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios de los fitoinsecticidas actúan como inhibidores de la alimentación, de la quitina, del crecimiento y perturbadores de la reproducción y comportamiento (Webcolombia), que en los últimos años se han convertido en una herramienta alternativa de los insecticidas convencionales, dirigida a un mejor manejo orgánico y ecológico de los actuales sistemas de producción agrícola (CCI, 1999; Rodríguez, 1999).

Entre estos fitoinsecticidas han sido estudiados ampliamente el barbasco (*Phyllanthus ichthyomethius*), crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), *Quassia amara*, timbó o (*Derris lonchocarpus* sp) que actúan por contacto. Esto sin dejar de lado el nim (*Azadirachta indica*) que ejerce su acción sobre el

ciclo de vida en varios órdenes de insectos y que tiene varias formulaciones comerciales en el mercado de plaguicidas (Marggeniani, 2001; Moreno *et al.*, 2000; Webcolombia, 2002).

No menos importantes son muchas especies de la familia Piperaceae ricas en alcaloides, como son *Piper nigrum*, *P. auritum*, *P. amazonicum*, *P. hispidum*, *P. consanguineum*. Estos principios son responsables de la actividad insecticida sobre gusanos del maíz, gorgojos de arroz y frijol y plagas de granos almacenados, son antibacteriales, antimicrobiales, antifúngicos y potentes antialimentarios (Sáez *et al.*, 1998; Orjala *et al.*, 1993; Orjala *et al.*, 1994), además de que se les atribuye propiedades medicinales como analgésica, antiinflamatoria y

anestésica (Pluke *et al*, 1999; Monge, 1997; Carlini *et al.*, 1988).

*Piper grande* Vahl es una especie neotropical cuyo rango de distribución se extiende desde el sur de Nicaragua hasta el noroccidente de Colombia y Venezuela. La especie es un arbusto de cerca de 3-5 m de altura, generalmente crece en áreas sombreadas donde con frecuencia forma poblaciones abundantes. Es frecuente la proliferación por rebrotes o tallos estoloníferos. Las hojas en tallos no ramificados a menudo despiden un fuerte aroma a zafrol, aroma que desaparece sin embargo en plantas ramificadas. Localmente la especie se conoce con el nombre de cordoncillo. A esta especie se le atribuyen propiedades desinflamatorias (Callejas, 2001).

#### MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** La recolección de la especie *Piper grande* Vahl (raíces, tallos y hojas), se llevó a cabo en Febrero de 2001 en las riveras del río Pescado, Municipio de Tarazá, Departamento de Antioquia, Colombia, a 200 m.s.n.m. El espécimen se encuentra depositado bajo Voucher No. 12582, Herbario de la Facultad CEN (HUA) de la Universidad de Antioquia.

**Obtención de Extractos.** 782 g de raíces secas y molidas se sometieron a extracción por percolación utilizando sucesivamente n-Hexano, Acetato de Etilo y Metanol hasta agotamiento. Igual procedimiento se siguió con 2250 g de hojas y con 2200 g de tallos. De esta manera, se obtuvieron tres extractos de polaridad creciente para cada una de las partes de la planta. Para

detectar la bioactividad de los nueve extractos se les hizo un monitoreo de bioensayos en insecticidas, fungicidas y bactericidas. Los extractos de n-Hexano (raíces), n-Hexano (tallos), Acetato de Etilo (raíces) y Acetato de Etilo (hojas), presentaron una actividad promisorio como insecticidas sobre el modelo biológico *Drosophila melanogaster*, en términos del desarrollo biológico.

**Colonias de *Drosophila melanogaster* (Cepa Canton).** Las poblaciones de moscas se obtuvieron directamente del laboratorio del Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares GIEM del Instituto de Química de la Universidad de Antioquia en donde son mantenidas de acuerdo con las técnicas para el manejo de *Drosophila sp.* (Moreno y Zuleta, 1973): temperatura promedio 20°C, humedad relativa media de 80 % y un fotoperíodo de 12 horas (Granados *et al*, 2001).

**Actividad Insecticida. Bioensayo: Interrupción del ciclo de vida.** Para evaluar la actividad insecticida de los extractos de n-Hexano, de Acetato de Etilo de *Piper grande* Vahl (Piperaceae), sobre el modelo biológico *Drosophila melanogaster*, se seleccionó un intervalo de concentraciones entre 50, 500, 1000, 2000 y 4000 ppm. En viales de vidrio se adicionaron volúmenes de extracto correspondientes a cada concentración y se completó hasta 15 mL con la dieta clásica para *Drosophila sp.*: 250 mL de agua, 1.5 g de agar-gelatina, 25 g de harina de maíz, 7.5 g de levadura, 20 mL de melaza y 1.25 mL de ácido propiónico (Moreno y Zuleta, 1973). El sistema se dejó enfriar y solidificar por

un lapso de 12 horas. Luego, en el mismo vial, se cruzaron tres parejas jóvenes de *Drosophila melanogaster* de 4 días de edad (3♂ + 3♀), por un lapso de tiempo de 2 días, luego de los cuales se retiraron los padres para garantizar que el análisis fuese hecho sobre su descendencia, en los estadios pupa-adulto. Para el día 9, luego de la siembra, se realizaron los recuentos de pupas y el de adultos se llevó hasta el día 20. Con el fin de evitar su maduración sexual, los individuos adultos fueron descartados después de cada recuento (Granados *et al*, 2001). Para cada tratamiento se utilizaron 4 réplicas. Los resultados del recuento se analizaron mediante comparación de media Pruebas de Hipótesis la relación adultos de cada tratamiento respecto al control y Análisis de Regresión sobre la reducción de la población promedio de adultos, el cual permitió determinar, para cada extracto, una ecuación y su CL50.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los modos de acción de compuestos que presentan actividad insecticida, los análogos a la hormona juvenil (JHA) y los reguladores de crecimiento de insectos (IGR), se han convertido de cierta forma, en una herramienta poderosa para contrarrestar los daños causados por las plagas, dado que, al desencadenar algunos eventos fisiológicos como reducción en la movilidad, reducción en la capacidad de alimentación e inhibición en la formación de quitina, principalmente en los estados larvarios, se asegura en buena medida la interrupción del ciclo de vida (Belles, 1988)

En este orden de ideas, los extractos de *Piper grande* Vahl, presentaron un comportamiento en los estados larvarios y/o en la oviposición, que si bien no puede asegurarse sea del tipo hormonal antes mencionado, dado que la cuantificación para el presente trabajo no se centró en estos estadios, sí puede inferirse que los extractos no estuvieron comprometidos con la actividad de la ecdisona que se enaltece en el estado pupal, en tanto que la proporción pupa/adulto estuvo cercana a 1, es decir, el principio activo de los extractos, a la vez que está siendo metabolizado por el insecto, no está afectando los patrones hormonales que intervienen en su metamorfosis. En contraste esta acción puede atribuirse a otro tipo de patrones fisiológicos.

A continuación se presenta la respuesta de *Drosophila melanogaster* a 4 extractos de *Piper grande* Vahl, primero en función de la relación pupa-adulto para los tratamientos y segundo, en función de la actividad de los extractos producto de la reducción de las poblaciones promedios de adultos respecto a la población control. De manera práctica, para el análisis, se relacionaron este último estadio por ser el máximo desarrollo del insecto.

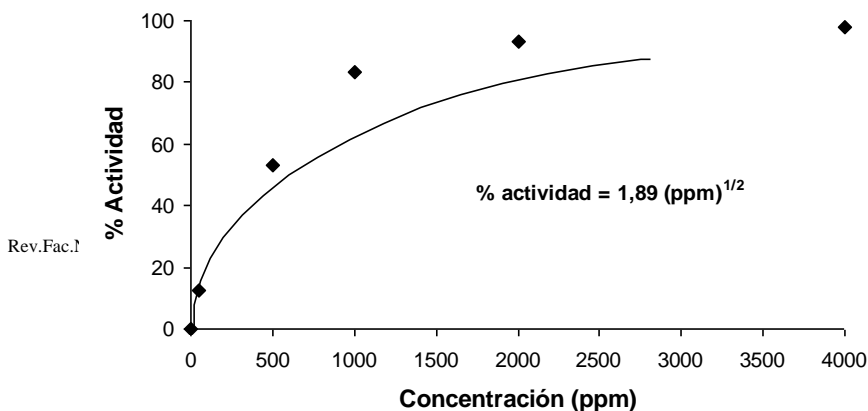
**Extracto n-Hexano de raíces.** En la Tabla 1, se observa que a medida que se incrementan las concentraciones, el número de pupas disminuye notablemente, pero de acuerdo con la relación A/P la emergencia a adultos es prácticamente la máxima.

**Tabla 1.** Extracto de n-Hexano de raíces de *Piper grande* Vahl sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

Concentración (ppm)	Pupas (X ± σ)	Adultos (X ± σ)	Relación A/P (X ± σ)	% Actividad sobre adultos
0	133.5 ± 27.2	133.5 ± 27.2	1.0 ± 0.0	-
50	116.8 ± 19.4	116.5 ± 19.6	0.9 ± 0.01	12.7
500	62.8 ± 16.9	62.8 ± 16.9	1.0 ± 0.0	53.0
1000	22.2 ± 15.2	22.2 ± 15.2	1.0 ± 0.0	83.5
2000	9.5 ± 3.9	9.5 ± 3.9	0.9 ± 0.1	93.3
4000	2.8 ± 1.5	2.8 ± 1.5	1.0 ± 0.0	98.0

Aunque en el intervalo de concentraciones 500-4000 ppm, es muy marcada la reducción en las poblaciones promedio de adultos respecto al control, no lo es para 50 ppm, dada la baja diferencia de 17.0 individuos promedio respecto al control. Por lo tanto se realizó Prueba de Hipótesis por comparación de medias, con la cual se obtuvo un valor p de 0.36, y como consecuencia el 12.7% mostrado como “actividad”, no puede ser considerado como una acción insecticida del extracto a la concentración referida. En contraste la actividad promedio de 53.0% observada para la concentración de 500 ppm se perfila como promisorio y esto sugiere que a concentraciones superiores a ésta, puede mantenerse una alta eficacia del extracto.

De otro lado la relación dosis-respuesta, expresada como una actividad que reduce las poblaciones de *D. melanogaster* se muestra en la Figura 1.



**Figura 1.** *Piper grande* Vahl, raíces. Actividad del extracto de n-Hexano, evaluada sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

El anterior análisis se fijó al modelo de regresión con la ecuación arriba sugerida, alcanzándose un alto coeficiente de correlación (0,97).

A partir de la ecuación, se calculó la  $CL_{50}$  y se obtuvo que a una concentración de 698.2 ppm de extracto n-Hexano de raíces, la primera generación filial de *Drosophila melanogaster* se vería reducida en un 50% promedio, respecto a las poblaciones promedio del control.

**Extracto Acetato de Etilo de raíces.** A lo largo del intervalo de las concentraciones evaluadas, el efecto del extracto, en contraste con el anterior, permite realizar varias consideraciones (Tabla 2).

La primera, en el intervalo 50-1000 ppm, el extracto presentó una reducción en las poblaciones promedio de los estadios pupa-adulto bastante discreta, al punto que en 50 ppm se presentó un incremento de aquellas del 8% respecto al control, pero no significativo. Cuando se realizó la comparación de las poblaciones promedio de adultos mediante Pruebas de Hipótesis respecto al control, los valores p fueron superiores o estuvieron en el valor límite de la prueba, por lo tanto actividades de 1.5, 16.8 y 29.4 no deben considerarse actividad insecticida.

**Tabla 2.** Extracto de EtoAc de raíces de *Piper grande* Vahl sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

Concentración (ppm)	Pupas (X ± σ)	Adultos (X ± σ)	Relación A/P (X ± σ)	% Actividad sobre adultos
0	89.8 ± 12.8	87.8 ± 13.7	0.9 ± 0.02	-
50	97.8 ± 22.6	86.5 ± 19.3	0.9 ± 0.04	1.5
500	75.0 ± 23.3	62.0 ± 17.9	0.9 ± 0.05	16.8
1000	66.0 ± 19.7	62.0 ± 17.9	0.9 ± 0.04	29.4
2000	19.8 ± 16.8	19.8 ± 16.8	0.83 ± 0.3	77.4
4000	7.5 ± 3.5	3.5 ± 0.7	0.5 ± 0.09	96.0

Segundo, para 2000 y 4000 ppm, la reducción de las poblaciones promedio de ambos estadios es muy

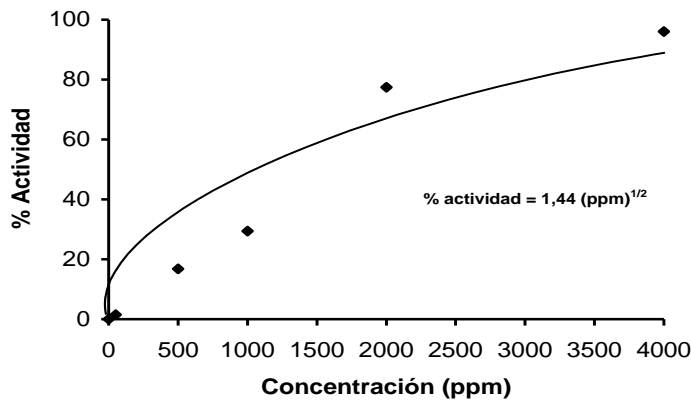
marcada y si bien, como en el anterior es reiterativa la relación A/P cercana a 1, el efecto del extracto comienza a

enaltarse alcanzando 77.4 y 96.0% de actividad, respectivamente.

La relación dosis-respuesta para el extracto EtOAc de raíces no es muy eficiente, pues cuando tal relación se fija al modelo de regresión mostrado en la Figura 2 y se calcula la  $CL_{50}$  necesaria para reducir las poblaciones promedio de adultos a un 50% respecto a las poblaciones promedio del control,

es 1.7 veces más (1.210 ppm) que la del extracto n-Hexano de raíces.

**Extracto n-Hexano de tallos.** Como en los extractos anteriores no se compromete el paso pupa-adulto y la actividad es relativamente pobre cuando se observa la reducción promedio de adultos respecto a la población control (Tabla 3).



**Figura 2.** *Piper grande* Vahl, raíces. Actividad del extracto de EtOAc, evaluada sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

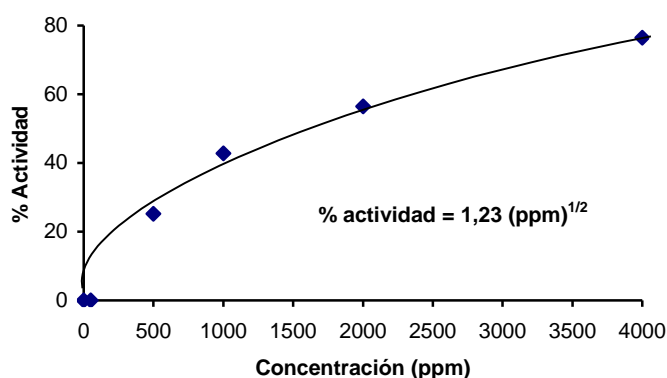
**Tabla 3.** Extracto de n-Hexano de tallos de *Piper grande* Vahl sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

Concentración (ppm)	Pupas ( $X \pm \sigma$ )	Adultos ( $X \pm \sigma$ )	Relación A/P ( $X \pm \sigma$ )	% Actividad sobre adultos
0	132.5 $\pm$ 22.0	130.0 $\pm$ 20.8	0.9 $\pm$ 0.02	-
50	141.2 $\pm$ 26.9	136.0 $\pm$ 31.5	0.9 $\pm$ 0.02	0
500	102.0 $\pm$ 16.7	97.2 $\pm$ 12.1	0.9 $\pm$ 0.02	25.2
1000	75.0 $\pm$ 9.6	74.3 $\pm$ 4.9	0.9 $\pm$ 0.03	42.8
2000	58.2 $\pm$ 22.6	56.5 $\pm$ 35.1	1.0 $\pm$ 0.0	56.5
4000	30.2 $\pm$ 15.1	30.5 $\pm$ 19.4	0.5 $\pm$ 0.1	76.5

En la concentración más baja, 50 ppm se presentó un incremento del 6.5% del estadio pupas (no significativo), pero aún no puede abordarse como un efecto antagónico que comprometa la reproducción y/o oviposición. Cuando se realizó Prueba de Hipótesis mediante comparación de medias respecto al control, para las concentraciones de 500 y 1000 ppm, se obtuvieron un valores p no significativos o probablemente significa-

tivos (0.03) respectivamente, que como antes no deben considerarse como actividad insecticida. De otro lado, las concentraciones de 2000 y 4000 ppm, presentaron reducciones en las poblaciones promedio de adultos respecto al control de 56.5 y 76.5% respectivamente, pero a la luz de una mayor eficacia tendrían que considerarse concentraciones superiores.





**Figura 3.** *Piper grande* Vahal, tallos. Actividad del extracto de n-Hexano, evaluada sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

El modelo de regresión fijado para la relación dosis-respuesta del extracto n-Hexano de tallos, permitió calcular la CL<sub>50</sub>, con la cual se requieren 1645.1 ppm para alcanzar la reducción del 50% de las poblaciones promedio de adultos respecto al control.

**Extracto Acetato de etilo de hojas.** Para destacar, como en los extractos n-Hexano raíces y n-Hexano tallos, a 50 ppm se presentó un incremento poblacional de pupa-adultos del 13.6% respecto al control (Tabla 4).

**Tabla 4.** Extracto EtoAc de hojas de *Piper grande* Vahl sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

Concentración (ppm)	Pupas (X ± σ)	Adultos (X ± σ)	Relación A/P (X ± σ)	% Actividad sobre adultos
0	140.0 ± 19.6	134.0 ± 23.0	0.9 ± 0.06	-
50	159.0 ± 12.0	148.0 ± 11.0	0.9 ± 0.05	-
500	105.0 ± 16.5	93.7 ± 22.5	0.9 ± 0.09	30.1

1000	82.3 ± 22.5	79.0 ± 17.1	0.9 ± 0.04	41.0
2000	74.7 ± 7.2	69.7 ± 9.5	0.9 ± 0.07	48.0
4000	19.7 ± 6.0	19.7 ± 6.0	1.0 ± 0.0	84.8

Tal incremento no fue estadísticamente significativo, de manera que pudiera especularse que el extracto estuviese ejerciendo un efecto en la fisiología del insecto que enalteciera la producción de huevos.

De otro lado cuando se realizó la comparación de medias mediante Prueba de Hipótesis respecto a la población promedio del control se obtuvieron unos valores p de 0.03,  $7.0 \times 10^{-3}$  y  $2.0 \times 10^{-3}$  para 500, 1000 y 2000 ppm respectivamente. No obstante las diferencias estadísticas y para efectos prácticos, pueden considerarse concentraciones superio-

res a 2000 ppm para alcanzar una reducción en las poblaciones de adultos, más promisorias.

La relación dosis-respuesta se fijó al modelo de regresión de la Figura 4, el cual permitió calcular que las poblaciones promedio de adultos respecto a la población control se reducirían en un 50% a una concentración de 1585.9 del extracto de EtoAc de hojas.

En la Figura 5 se sintetiza la actividad de los extractos de *Piper grande* Vahl en función de la reducción de las poblaciones pupa-adulto.

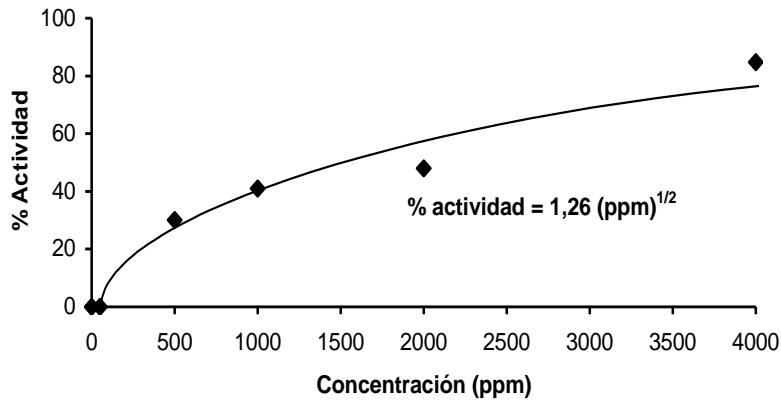


Figura 4. *Piper grande vahl*, hojas. Actividad del extracto de EtOAc, evaluada sobre el ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*.

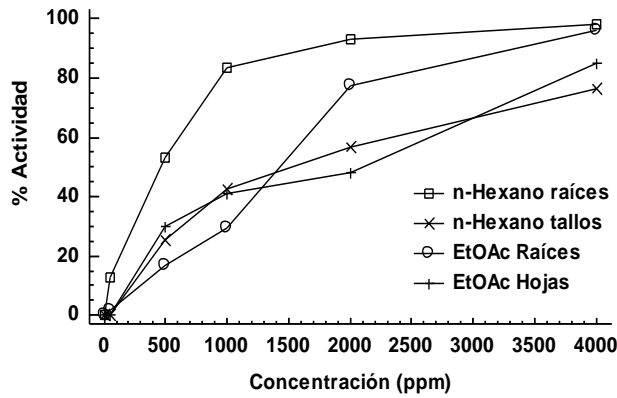


Figura 5. *Piper grande Vahl*, actividad comparativa de los extractos en *Drosophila melanogaster*.

De acuerdo con la  $CL_{50}$  calculada para cada uno de los extractos, se determinó que extractos de n-Hexano de raíces, promueven una alta actividad sobre *Drosophila melanogaster*, reduciendo las poblaciones de esta y que de manera comparativa para los extractos de EtoAc de raíces, EtoAc de hojas y n-Hexano de tallos se requieren unas  $CL_{50}$  relativas de 1.6, 2.3 y 2.4 veces más.

## CONCLUSIONES

- Los extractos de *Piper grande* Vahl presentan una actividad insecticida en la interrupción del ciclo de vida del modelo biológico *Drosophila melanogaster*, en los estados larvarios y/o en la oviposición, dada las importantes reducciones en las poblaciones promedio de pupas.
- Los extractos no ejercen una acción pupicida, ni adulticida, toda vez que la relación en esta transición es cercana a 1, alcanzándose una emergencia promedio de adultos, para todos los extractos de 93.9%. Adicionalmente los individuos adultos tuvieron un desarrollo normal en función de su tiempo promedio de vida.
- El extracto n-Hexano de raíces fue, estadísticamente el más promisorio con una actividad promedio de 53.0% a partir de la concentración de 500 ppm y una  $CL_{50}$  de 698.2 ppm.
- El incremento de las poblaciones promedio de pupas que se presentó en los extractos EtoAc de raíces, n-

Hexano de tallos y EtoAc de hojas a la concentración de 50 ppm, si bien no fue significativo estadísticamente, sugiere profundizar en el efecto que estos tres extractos pueden generar si se evalúan a concentraciones inferiores.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, por el apoyo financiero prestado para la realización de este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

BELLES, Xavier. Insecticidas biorracionales. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Colección Nuevas Tendencias. No. 9. (1988); p.12.

GRANADOS, H. *et al.* *In vitro* insecticidal activity of the *Annona aff. Spraguei* seeds (Annonaceae) on two biological model of Díptera order: *Drosophila melanogaster* and *Aedes aegypti*. *En* : Afinidad. Vol. 58 (2001); p. 44-48.

MONGE, R. (1997). Plantas medicinales: cura o folklores. ACG Rothschildia. Vol. 4, No. 2 (1997). (citado en 2002-04-01). Disponible en Internet. <<http://www.acguanacaste.ac.cr/rothschildia/v4n2/textos/plantas.htm>>.

MORENO, Jaime y ZULETA, Margrita. Técnicas empleadas en el manejo de la *Drosophila* y estudio de su ciclo biológico. *En*: Actualidades biológicas. Vol. 2 (Abr.-Jun., 1973); p. 46-49.

MORENO, María Eugenia *et al.* Neem: desarrollo, estado actual e impacto ambiental de un bioplaguicida. *En*: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

(27: Medellín: 2000). Memorias XXVII Congreso. Medellín: Socolen, 2000.p.119-129.

ORJALA, J. *et al.* Aduncamide, a citotoxic and antibacterial  $\beta$ -phenylethylamine-derived amide from *Piper aduncum*. *En: Natural Products Letter*. No.2 (1993); p. 231-236.

\_\_\_\_\_. *et al.* Citotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper Aduncum*. *En: Journal of Natural Products*. Vol.57 (1994); p.18-26.

PLANTAS ALELOPÁTICAS. (en línea). (citado en 2002-04-02). Disponible en Internet: <[http:// www.web. colombia. com/alelopatia/index.htm](http://www.web.colombia.com/alelopatia/index.htm)>

PLUKE, A. *et al.* (1999). Integrated pest management and the use of botanicals in Guyana. s.l.: IICA, 1999.

RODRÍGUEZ, H. Perspectivas en el uso de plantas con propiedades insecticidas. *En: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE SUSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EN EL COMBATE DE PLAGAS (2: Oaxaca: 1990)*. Memorias del II Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Oaxaca, México: El Simposio, 1990. p.176-187.

SÁEZ, J. *et al.* Modelo matricial *in vitro* para la evaluación de la actividad insecticida de hojas de *Piper auritum* (Piperaceae). *En: Afinidad*. Vol. 55 (1998); p.363-368.

STEVENS, W.D. *et al.*, eds. Flora de Nicaragua. *En: Monographs in Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden. Vol. 85, No.3 (2001); p. 1911-2666.

Aprobado para su publicación:

Mayo 2 de 2002