

# Estudios de la potencial actividad insecticida de algunas especies nativas.

## I. Evaluación de los extractos de *Brunfelsia pauciflora* (H.B.K.).

.....

**Bárbara Moreno Murillo**<sup>1</sup>

**Alba I. Arango Bonilla**<sup>2</sup>

**Jaime González González**<sup>3</sup>

**Hermann M. Niemeier**<sup>4</sup>

### Resumen

En Colombia, como en otros países, existen numerosas especies de insectos plagas que afectan los cultivos y las cosechas. La flora tropical, rica y diversa, es un recurso valioso, el cual ofrece una gran cantidad de plantas que producen compuestos útiles, económicamente importantes como aceites, fibras, medicamentos y plaguicidas. La información etnobotánica permite la selección de plantas para investigar su potencial bioactividad, aplicables como agentes de control natural, en las estrategias del Manejo Ecológico de Plagas (MEP). Los metabolitos secundarios, de distribución limitada en grupos taxonómicos específicos, a los cuales se les atribuyen funciones ecológicas y de defensa contra microorganismos y otros depredadores, presentan propiedades activas, selectivas y especializadas. Preparados de origen natural se utilizan desde tiempos muy antiguos debido a sus propiedades insecticidas y repelentes tales como piretroides, rotenoides y limonoides. Los extractos de algunas especies se probaron en diversos bioensayos con el objeto de determinar su potencial actividad. La separación cromatográfica, guiada por bioensayos, condujo a la separación de sustancias con posible acción insecticida o relacionada. Los bioensayos aplicados en este estudio incluyen: ensayo general de toxicidad frente a larvas del crustáceo *Artemia salina* (Leach.), bioensayo de contacto forzado con

larvas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), bioensayo de fototoxicidad y ensayo de acción antiapetente con larvas de *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae). Se presentan los resultados obtenidos con los parámetros de mortalidad, tasa de crecimiento, efectos secundarios y alteraciones morfológicas observadas.

**Palabras clave:** Plantas insecticidas, insecticidas de origen vegetal, *Brunfelsia pauciflora*, aleloquímicos.

### Summary

In Colombia there are several problems in crops caused by pests. The tropical flora, rich and diverse, offers a great amount of economically significant plants that produce bioactive compounds with insecticidal or other interesting applications. The secondary metabolites, of limited distribution in specific taxonomic groups, which functions are not well known and are identified as allelochemical agents against predators and other microorganisms, have active, selective and specialized properties. The available ethnobotanical knowledge helps to select some species and study them from the point of view of their potential capacity to be applied as natural control agents as part of the Pest Ecological Management (PEM). Looking for natural insecticides of vegetal origin is a meaning research field in order to find out methods for protect the environment and the human health. The extracts in different solvents of the selected parts of the plants were treated through designed bioassays to determine their potential activity. The fractionation guided by bioassay have lead to find and isolate the active fractions. Among the bioassays were used: housefly larvae Contact bioassay (Diptera), Antifeedant Activity assay to *Pieris brassicae* larvae (Lepidoptera: Pieridae), Phototoxic and General Lethality Test with *A. salina*. The results are shown in the tables and graphics included. The parameters used were: mean mortality, relative growth rata, morphological and behavior all changes and others.

### Introducción

Los insectos fitófagos, conocidos como plagas, causan severos perjuicios en cultivos y cosechas, generando grandes pérdidas económicas como en los casos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) y el picudo del algodón, *Anthonomus grandis* Boheman. Las plantas superiores producen numerosas sustancias químicas útiles como alimentos industriales, productos terapéuticos y plaguicidas. Los metabolitos secundarios, de distribución limitada en grupos taxonómicos específicos, y a los cuales se les atribuyen funciones ecológicas y de defensa contra microorganismos y otros depredadores, presentan propiedades bioactivas especializadas. Los extractos de plantas se usan desde la antigüedad por sus notables propiedades insecticidas, repelentes y antiapetentes, tales como los piretroides, rotenoides y limonoides. Se estima que sólo entre el 5 y el 10% de las especies vegetales se han investigado en la búsqueda de compuestos bioactivos, y la mayoría se han probado frente a un único ensayo. La flora tropical, rica y diversa (Correa y Bernal 1990; García Barriga 1975), ofrece recursos muy valiosos de sustancias activas potencialmente útiles, y los insecticidas botánicos se incluyen entre las estrategias del Manejo Ecológico de plagas (MEP), el cual busca proteger la salud humana y el medio ambiente. Dentro de este orden de ideas se inició en el Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia un estudio orientado a la búsqueda sistemática de insecticidas de origen vegetal y es objetivo del presente trabajo informar algunos de los resultados obtenidos hasta el momento.

### Revisión de Literatura

Durante la última década se ha despertado un gran interés en la investigación de insecticidas de origen vegetal, lo cual se refleja en las numerosas revisiones publicadas por Grainge y Ahmed (1988), Jacobson (1989), Adityachaudhury et al. (1985), Sukumar et al. (1991), Bowers et al. (1985) y Vallejo y Sánchez (1992). Entre los productos más promisorios figuran, además de las piretrinas (Elliot

<sup>1</sup> Química, Especialista en Productos Naturales. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Apartado Aéreo 43087. Santafé de Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> Estudiante del Programa Magister, Becaria del IPICS, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Apartado Aéreo 23160 Santafé de Bogotá, Colombia

<sup>3</sup> Maestro Universitario, Profesor Titular. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Apartado Aéreo 44190, Santafé de Bogotá.

1977), el árbol del neem (*Azadirachta indica*) y otras Meliáceas cuyas bondades son ampliamente conocidas (Jones et al. 1989) y los cuales se utilizan hoy día a nivel de campo en varios países de Centroamérica y Asia. Estas y otras plantas han mostrado capacidad de afectar el crecimiento y la reproducción de los insectos, como los precocenos de *Ageratum* sp. (Alkofahi et al. 1989), los cuales interfieren distintos estados de desarrollo de los mosquitos, alterando el ciclo biológico y la oviposición, por inhibición de la síntesis de tripsina. Las especies estudiadas se han seleccionado con base en los siguientes criterios: sus propiedades biológicas y medicinales reconocidas en la información etnobotánica y bibliográfica disponible; ser especies análogas de otras usadas con diversos propósitos en forma tradicional; plantas que presenten escasa herbivoría, así como géneros no estudiados desde el punto de vista fitoquímico; las especies seleccionadas en primera instancia se incluyen en la Tabla 1.

## Materialés y Métodos

### Muestras vegetales

*Euphorbia caracasana* es un arbusto de flor blanca pequeña, produce abundante látex blanco, alergénico a la piel y los ojos. Se colectó en Las Guacas, en Timbío (Cauca).

La especie *Brunfelsia pauciflora* (H. B. K.) es un arbusto abundante en la región tropical occidental de la cordillera de los Andes, se conoce como «ayer, hoy y mañana» por el cambio rápido de coloración que presentan sus flores desde blanco a azul violáceo, y pertenece a la familia So-

lanaceae, ricas en derivados alcaloidales y muy utilizadas como ornamentales. Hay evidencias sobre el uso de plantas pertenecientes al género *Brunfelsia* como el primer narcótico utilizado en los altiplanos andinos, según lo reportado por Schultes (1969). Numerosas colecciones en herbarios de Bolivia, Brasil, Colombia y Ecuador indican un amplio espectro de aplicaciones terapéuticas en medicina tradicional, en el tratamiento de dolores reumáticos. La especie *B. hopeana* aparece reportada en la farmacopea brasilera como narcótico. De este género se han aislado varios alcaloides derivados del tropano, cumarinas como la escopoletina, y es probable que en el extracto metanólico estén presentes alucinógenos y otros constituyentes biodinámicos. Esta planta se ha reportado en varios casos como tóxica para mamíferos por ingestión de semillas y frutos (Banton et al. 1989), produciendo alarmantes síntomas de envenenamiento. Al respecto Lloyd et al. (1985) han informado la presencia de un derivado tipo pirrol-3-carbox-amidina que presenta propiedades convulsivas, el cual fue aislado de las especies *B. grandiflora* y *B. bonodora*.

La especie *Solanum mammosum* L. es un arbusto abundante en suelo ácido, es tóxico y sus frutos se usan para eliminar cucarachas y otros insectos de las viviendas rurales. Su flor es morada clara y presenta frutos amarillos en forma de pera.

Las especies *Clusia multiflora* H.B.K. y *Calophyllum brasiliense* Camb. son árboles maderables, de hojas gruesas, que producen un látex amarillo o blanco, usado por los indígenas para tinturas rituales y cuyos frutos se usan en medicina tradicional en el tratamiento de la dermatitis.

En cuanto a las especies *Dalea caerulea* (L.F.) Theillung & Schung, conocida como «chiripique», y *Cassia tomentosa* Mutis ex L.F. fueron seleccionadas con base en reportes etnobotánicos sobre sus propiedades repelentes de pulgas y otras plagas comunes en viviendas rurales.

*Pimenta racemosa* es un arbusto de agradable e intenso olor a pimienta, sus hojas producen un aceite de reconocida acción larvicida y no hay estudios sobre su composición química.

Las plantas incluidas en este trabajo se colectaron en los lugares indicados en la Tabla 1 y fueron identificadas por los botánicos Alvaro Cogollo del Jardín Botánico de Medellín, Roberto Jaramillo del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia y Francisco Sánchez del Jardín Botánico «José Celestino Mutis» de Santafé de Bogotá.

### Preparación de las Muestras

El procedimiento general aplicado a las muestras se indica en el Diagrama A. Las muestras se sometieron a un tratamiento específico para cada especie así:

*B. pauciflora*: Ramas y tallos de esta planta se colectaron en el Jardín Botánico de Santafé de Bogotá. Una muestra de 358 g, seca y molida, se extrajo con éter de petróleo (EP) (23,5 g) y alcohol metílico en forma sucesiva (12,8 g). El extracto acuoso se preparó en el momento del ensayo por infusión en agua caliente durante 10 minutos de una muestra entera de 50 g y se utilizó directamente.

*P. racemosa*: Se extrajeron 300 g de hojas con éter de petróleo del cual se obtuvo un aceite (3,4 g); el residuo se trató con metanol, obteniéndose 29,4 g de extracto.

**Tabla 1.** Especies de plantas evaluadas en los bioensayos preliminares.

Familia	Género y Especie	Lugar	Parte	Referencia
Solanaceae	<i>Brunfelsia pauciflora</i> (H.B.K.)	Cundinamarca	aérea	Correa y Bernal (1990)
	<i>Solanum mammosum</i> L.	Cauca	frutos	García Barriga (1975)
Clusiaceae	<i>Clusia multiflora</i> H.B.K.	Cauca	frutos	González (1986)
	<i>Calophyllum brasiliense</i> Camb.	Quindío	hojas	Grainge (1988)
Fabaceae	<i>Cassia tomentosa</i> Mutis ex L.f.	Antioquia	hojas	Jacobson (1989)
	<i>Dalea caerulea</i> (L.F.)	Cundinamarca	aérea	Arango (1994)
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia caracasana</i>	Cauca	hojas	Correa y Bernal (1990)
Myrtaceae	<i>Pimenta racemosa</i>	Antioquia	hojas	García Barriga (1975)

*C. multiflora*: 150 g de frutos secos se extrajeron con n-hexano, por concentración a presión reducida se obtuvieron 3,5 g de jarabe rojo.

*C. brasiliense*: Hojas secas y molidas (538 g) se extrajeron con etanol y se obtuvo un extracto alcohólico de 19,7 g.

*D. caerulea*: 110 g de ramas secas se extrajeron con EP, separándose 2,3 g de extracto apolar y del residuo se obtuvieron 12,0 g de extracto metanólico.

*C. tomentosa*: 300 g de hojas secas y molidas se extrajeron con EP y se obtuvo un extracto de 9,4 g. Del residuo tratado con metanol se extrajeron 34,8 g.

*S. mammosum*: 70 g de frutos se extrajeron con alcohol metílico, obteniéndose 3,1 g de extracto.

*E. caracasana*: 70 g de hojas secas se trataron con EP y metanol separándose 2,7 y 6,7 g de extractos etéreo y alcohólico, respectivamente.

## Insectos

Las especies de insectos utilizados se obtuvieron de las siguientes fuentes: las larvas de la mosca casera, *Musca domestica* L., (Diptera: Muscidae), fueron suministradas por los investigadores de la Estación Experimental de la Cruz, del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) V Región, Chile, donde se realiza una crianza masiva bajo condiciones controladas ( $T=28^{\circ}\text{C}$ ;  $H.R=90\%$ ), con dieta a base de harina de maíz (80%), harina de pescado (5%), albumina de huevo (5%) y sacarosa (10%).

Las larvas de la especie *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae), conocidas como «cuncunas», se colectaron en el campo en cultivos de *Tropaeolum majus* L. (capuchina) y se mantuvieron en el laboratorio en plantas de la misma especie hasta el momento del experimento.

## Bioensayos

### Bioensayo General de Toxicidad frente a *A. salina*.

Este bioensayo (BGT-As) es el resultado de múltiples experimentos en busca de pruebas simples y rápidas que permitan

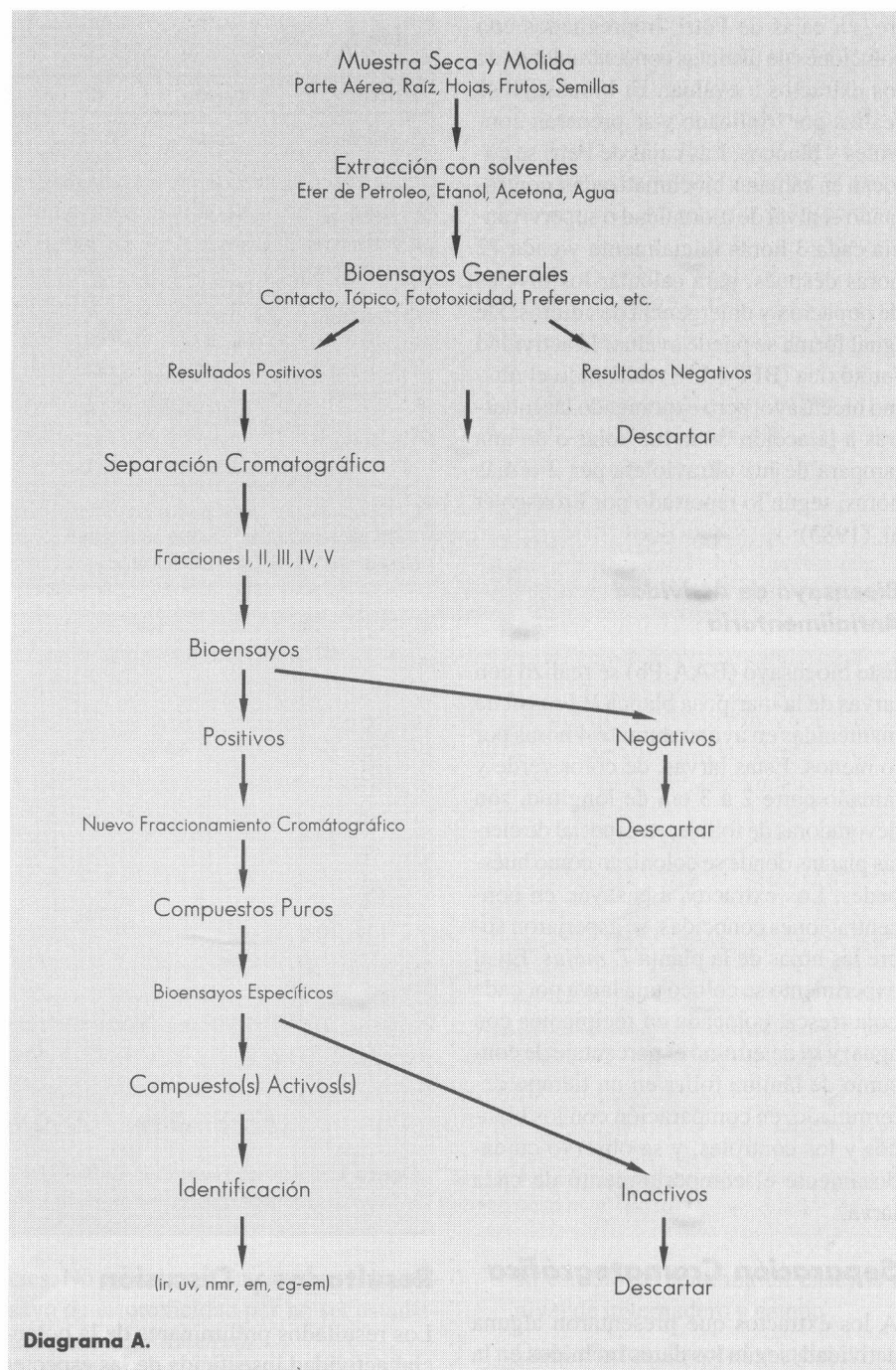


Diagrama A.

detectar actividad farmacológica o tóxica (Meyer et al. 1982). Se seleccionó un diminuto crustáceo conocido como *Artemia salina*, cuyos huevos se adquieren con facilidad como alimento para peces. Cuando los huevos se colocan en solución salina eclosionan a las 48 horas y las larvas nadan hacia la luz. Se evalúan diversas concentraciones de extractos o compuestos por triplicado, controlándose los niveles de mortalidad o supervivencia a las 24 horas. El procesamiento de los datos

permite determinar la  $LC_{50}$  y los intervalos de confianza al 95%. Se ha demostrado que compuestos que presentan actividad tóxica frente a *A. salina*, correlacionan muy bien con actividades detectadas por otros métodos (Alkohafi et al. 1989).

### Bioensayo de Contacto Forzado

Para estos experimentos (BCF-Md) se utilizaron larvas neonatas de la mosca casera colocadas sobre discos de papel de fil-



tro, en cajas de Petri, impregnados con soluciones de distintas concentraciones de los extractos a evaluar. El bioensayo se realiza por triplicado y se preparan controles y blancos. Las cajas de Petri se colocan en cámaras bioclimatizadas, controlando el nivel de mortalidad o supervivencia cada 3 horas inicialmente y cada 12 horas después, para calcular los niveles de pupación y emergencia de adultos. De igual forma se puede evaluar la actividad fototóxica (BFF-Md), realizando el mismo bioensayo, pero exponiendo las muestras a la acción de la luz solar o de una lámpara de luz ultravioleta por 2 o más horas, según lo reportado por Proksch et al. (1983).

**Bioensayo de Actividad Antialimentaria**

Este bioensayo (BAA-Pb) se realizó con larvas de la mariposa blanca *P. brassicae* mantenidas en ayuno durante 4 horas por lo menos. Estas larvas, de color verde y tamaño entre 2 a 3 cm de longitud, son devoradoras de follaje, en especial de ciertas plantas donde se colonizan como huéspedes. Los extractos a ensayar, en concentraciones conocidas, se asperjaron sobre las hojas de la planta *T. majus*. En el experimento se colocó una larva por cada hoja fresca, colocada en recipientes con agua; y se determinó el porcentaje de consumo de lámina foliar en un tiempo determinado, en comparación con los blancos y los controles, y se observó cuidadosamente el comportamiento de cada larva.

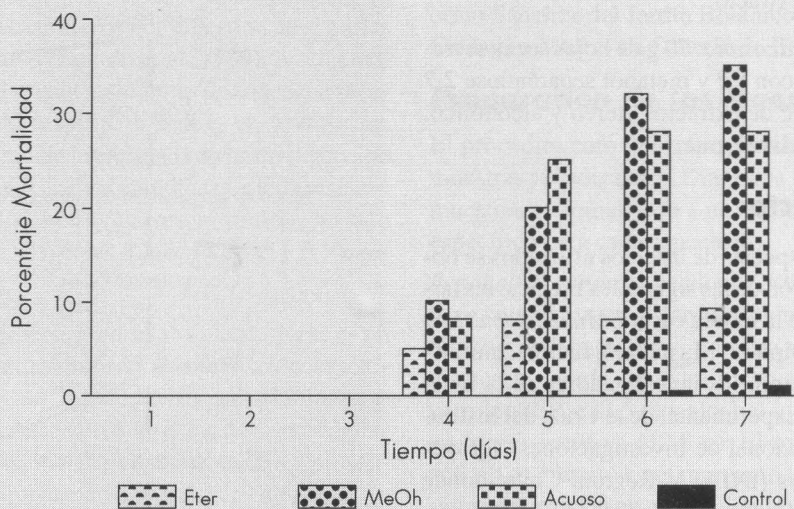
**Separación Cromatográfica**

A los extractos que presentaron alguna actividad, según los datos incluidos en la Tabla 2, se les realizó un fraccionamiento por métodos cromatográficos en Capa Delgada (C.C.D.) y en Columna (C.C.), con el objeto de separar fracciones y componentes cuya potencial actividad se evaluó según el Diagrama A. Se utilizó gel de Silice de Merck, con tamaño de partícula de 60 o 70-230 mesh según el caso. Las fracciones apolares oleosas, homogéneas en C.C.D. se analizaron por Cromatografía de Gases (C.G.) y Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM) (Smith et al. 1991).

**Tabla 2.** Actividades observadas para los extractos analizados.

Especie	Solvente	C	BCF-Md	BFF-Md	BAA-Pb	BGT-As
<i>B. pauciflora</i>	EP	0,1%	+	-	-	+
	MeOH	0,1%	++	-	-	++
	H2O	1096	++	-	++	+++
<i>C. multiflora</i>	n-hexano	250ppm	+++	*	*	+
<i>S. mammosum</i>	MeOH	100ppm	-	-	*	-
<i>E. caracasana</i>	EP	1%	+	-	*	-
	MeOH	1%	-	+	-	++
<i>C. tomentosa</i>	EP	1%	-	*	*	-
	MeOH	1%	+	*	*	++
<i>C. brasiliensis</i>	EtOH	2%	-	-	-	-
<i>D. caerulea</i>	EP	1%	+++	++	-	+++
	MeOH	1%	++++	+	+	++
<i>P. racemosa</i>	EP	1%	+	-	*	+++
	MeOH	1%	+++	-	*	++++

C= Concentración, ppm= partes por millón; + < 20% de Mortalidad; ++ entre 21 y 50% +++ > de 51%; ++++ 100% de mortalidad; \* prueba no realizada; - resultado negativo. EP = éter de petróleo; MeOH = alcohol metílico; E+OH = alcohol etílico.



**Figura 1.** Actividad insecticida de *Brunfelsia pauciflora*. Porcentaje de mortalidad de larvas de *M. domestica* en el bioensayo de Contacto Forzado (BCF-Md), en tres solventes.

**Resultados y Discusión**

Los resultados preliminares de la potencial actividad insecticida de las especies analizadas se resumen en la Tabla 2. Como se observa, los valores más promisorios en cuanto a niveles de mortalidad se presentan en los extractos metanólicos de *D. caerulea*, *P. racemosa*, el extracto en hexano de *C. multiflora* y los extractos acuoso y alcohólico de *B. pauciflora*.

En razón a lo anterior se continuó con el estudio de las fracciones activas separadas de cada uno de estos extractos, con el objeto de determinar los componentes bioactivos. En el extracto etéreo de *C.*

*multiflora* se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos derivados de benzofenonas, a los cuales se les adelantan otros bioensayos específicos (González 1986)

Los extractos de *B. pauciflora* (Bp) presentaron los datos de las Figuras 1 y 2. En la primera se muestran las tasas de mortalidad observadas con los extractos etéreo (Bp-EP, 5%), metanólico (BpMeOH, 5%) y acuoso (Bp-H2O, 1%) a las concentraciones indicadas, en el bioensayo de Contacto Forzado con larvas de *M. domestica* (BCF-Md). No se observa acción larvicida en ninguno de los extractos durante los primeros 3 días del

ensayo. Al continuar el experimento y permitir a las larvas completar su desarrollo, los niveles de mortalidad crecen y se observan algunas alteraciones durante el proceso de la emergencia de los adultos, tales como alas vestigiales, alas pegadas al pupario o muerte durante el proceso (Ineztrosa et al. 1987). Los extractos metanólico y acuoso, a las concentraciones ensayadas, presentaron los mayores efectos. En el bioensayo BAA-Pb se observó clara actividad repelente del extracto acuoso, pues las larvas evitaban el contacto y la proximidad de las hojas asperjadas con este extracto, y como la mortalidad en el BCF-Md es alrededor del 30%, es de interés determinar si existe alguna relación entre la concentración y la respuesta de las larvas, como lo indican las alteraciones morfológicas observadas, las cuales disminuyen notablemente el porcentaje de individuos emergentes. La *D. caerulea* presenta acción pupicida total (Arango 1994).

La Figura 2 muestra la relación entre concentración y mortalidad en el Bioensayo General de Toxicidad (BGT-As) con *Artemia salina*, para los extractos etéreos y alcohólicos de las plantas bajo estudio.

La Figura 3 presenta las tasas relativas de pupación en los extractos etéreos de las plantas indicadas, donde se observa la alteración del ciclo biológico de la *M. domestica* acelerando o retardando el proceso de muda, lo cual se conoce como efecto xenobiótico.

La Tabla 3 incluye los valores de mortalidad, pupación y emergencia de la *M. domestica* obtenidos en el bioensayo BCF-Md con los extractos de *B. pauciflora*, para tres concentraciones y a diferentes tiempos. Un elevado porcentaje de adultos emergentes (45%) presenta serias alteraciones morfológicas, tales como presencia de alas vestigiales, abdómenes modificados y cambios de comportamiento social (reproducción y oviposición), disminuyendo de esta manera los niveles poblacionales según los objetivos. Estos datos fueron evaluados por análisis de varianza, Probits y prueba múltiple de Duncan, la cual clasifica estos extractos en grupo A con *D. coerulea* diferente al grupo donde se incluyen las demás espe-

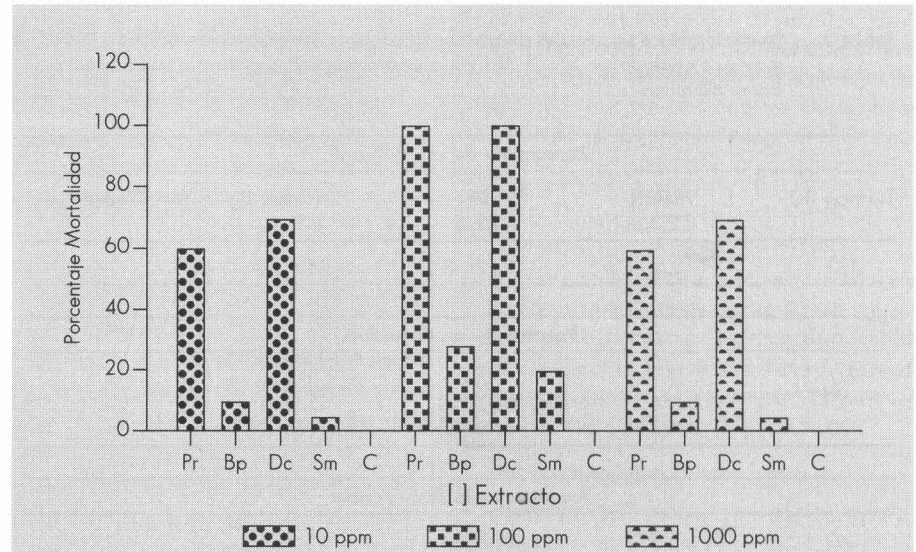


Figura 2. Actividad tóxica de especies nativas. Mortalidad de *Artemia salina* con extractos de plantas nativas en tres concentraciones.

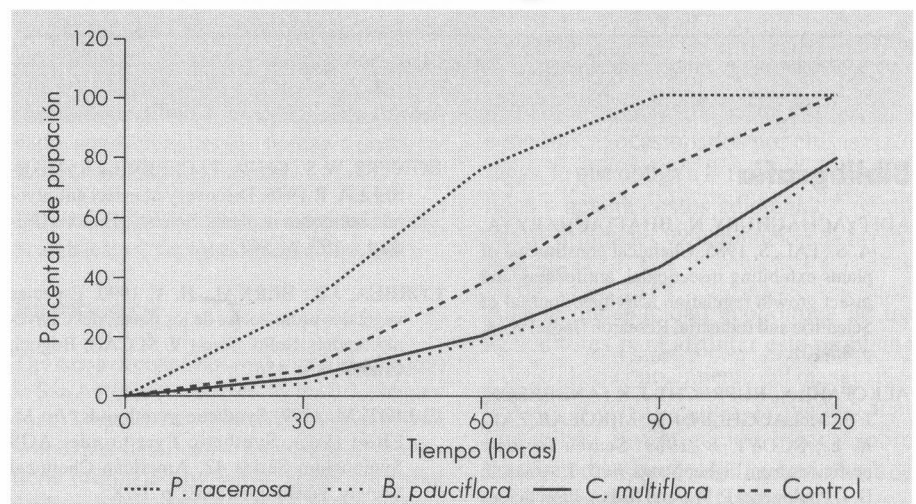


Figura 3. Efectos xenobióticos. Bioensayo de Contacto Forzado. Tasa relativa de pupación de la *M. domestica* frente a los extractos de tres plantas en el BOF-Md.

cies. No se incluyen datos sobre el bioensayo de fototoxicidad por no ser estadísticamente significativos.

### Conclusiones

- El análisis de los resultados preliminares muestra la presencia de bioactividad en algunos de los extractos de las plantas estudiadas.
- Para la especie *B. pauciflora*, una revisión de sus efectos sobre vertebrados sugiere no recomendar su uso como insecticida.
- Para la especie *D. coerulea* se observa acción pupicida (Arango 1994) y

su estudio se continua en ensayos a nivel de invernadero y campo

- Otros efectos observados incluyen acción repelente e inhibitoria del crecimiento como las más relevantes, lo cual sugiere continuar, por medio de separaciones cromatográficas guiadas por bioensayos, la búsqueda sistemática de los componentes activos, cuya existencia se infiere de los datos reportados.

### Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero del IPICS de Uppsala (Suecia), de Colciencias 008-94 y del Cindec (UN-803209).

**Tabla 3.** Resultados de los porcentajes de mortalidad, pupación, emergencia de adultos e individuos afectados en el BCF-Md, con los extractos de *B. pauciflora* a tres concentraciones diferentes.

Porcentaje de mortalidad				
Tiempo (h)	MeOH 1,2,3 a	EP 1,2,3	Acuoso 1, 2, 3	Control
120	8,6,9	32,26,18	5,5,2	-
Porcentaje de Pupación				
60	1,0,1a	1,6,0	1,0,0	0
90	60,56,72	43,28,40	18,15,10	12
120	89,88,86	98,89,86	45,40,42	60
Porcentaje de Emergencia				
240	61,70,77	78,75,84	85,83,91	96
Porcentaje de Individuos Afectados				
240	45,39,19	5,2,7	0,2,0	0

a) =Concentración en ppm; 1 = 1000ppm; 2 = 500 ppm; 3 = 100 ppm

**Bibliografía**

ADITYACHAUHURY, N.; BHATTACHARYYA, A. S.; PAL, S. 1985. Chemical constituents of plants exhibiting insecticidal, antifeeding and insect growth regulation activities. *Journal of Scientific and Industrial Research (India)* v. 44, p. 85-101.

ALKOFAHI, A., RUPRECHT, J. K.; ANDERSON, J. E.; McLAUGHLIN, J. L.; MIKOLAJCZAK, K. L.; SCOTT, B. 1989. Search for new pesticides from higher plants. *In: J. T. Arnason; B. J. Phylogene; P. Morand (Eds.). Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387. American Chemical Society, Washington D.C., p. 25-43.*

ARANGO, A. I. 1994. Evaluación de la actividad insecticida y estudio químico de metabolitos presentes en extractos de *Dalea coerulea* (L. f.) Theillung & Schung.

BANTON, M. I.; JOWETT, P. L. H.; RENEGAR, K.; NICHOLSON S. S. 1989. *Brunfelsia pauciflora* poisoning in a dog. *Veterinarian and Human Toxicology (Estados Unidos)* v. 31, p. 496.

BOWERS, W. S.; OHTA, T.; CLEERE, J. S.; MARSELLA, P. 1976. Discovery of insect antijuvénile hormones in plants. *Science (Estados Unidos)* v. 193, p. 542.

CORREA, J.E.; BERNAL, H. Y. 1990. Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello. Tomo V. SECAB, Bogotá, Colombia. p. 456.

ELLIOT, M. 1977. Synthetic pyrethroids. *In: M. Elliot (Ed.). Synthetic Pyrethroids. ACS Symposium Series 42, American Chemical Society, Washington D.C., p. 1-28.*

GARCIA-BARRIGA, H. 1975. Flora Medicinal de Colombia. Tomo II. Universidad Nacional de Colombia I. C. N. Ed. Guadalupe, Bogotá, Colombia.

GRAINGE, M.; AHMED, S. 1988. Handbook of Plants with Peat Control Properties. Resource Systems Institute East-West Center Honolulu-Hawai. Wiley Int. Pub. New York.

GONZALEZ, G. J. 1986. Aspectos químicos de la familia Guttiferae. *En: Congreso Latinoamericano de Botánica, Medellín, Colombia.*

INESTROZA, N. C.; SUNKEL C.; ARRIAGADA J. 1987. The sensory projections of *Drosophila* mutants which show abnormal wing formation of flying behavior. *Brain Research (Holanda)* v. 416, p. 248.

JONES, P. S.; LEY, S.; MORGAN, E.D.; SANTAFIANOS, D. 1989. The chemistry of the neem tree. *In: M. Jacobson (Ed.). Phytochemical Pesticides. The Neem Tree, Vol I. CRC Press Inc., US. p. 19-46*

JACOBSON, M. 1989. Botanical Pesticides; Past, Present and Future. *In: J. T. Arnason; B. J. Philogene; P. Morand (Eds.). Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387. American Chemical Society, Washington D.C., p. 1-10.*

LLOYD, H. A.; FALES, H. M.; GOLDMAN, M.; JERINA, D.; PLOWMAN, T.; SCHULTES, R. E. 1986. Brunfelsamidine: A novel convulsant from the medicinal plant *Brunfelsia arandiflora*. *Tetrahedron Letters (Estados Unidos)* v. 45, p. 2623.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; McLAUGHLIN, J. L. 1982. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. *Planta Medica (Alemania)* v. 45, p. 31-34.

PROKSCH, P.; PROKSCH, M.; TOWERS, G. H. N.; RODRIGUEZ, E. 1983. Phototoxic and insecticidal activities of chromenes and benzofurans from *Encelia*. *Journal of Natural Products (Estados Unidos)* v. 46, p. 331-334.

SCHULTES, R.E. 1969. Hallucinogens of plant origin. *Science (Estados Unidos)* v. 163, p. 245-251.

SMITH, D. L.; LIU, Y.; WOOD, K. V. 1991. Structure elucidation of natural products by mass spectrometry. *In: N. H. Fischer; M. B. Isman; H. A. Stafford (Eds.). Modern Phytochemical Methods. Recent Advances in Phytochemistry. Plenum Press, New York, p. 251.*

SUKUMAR, K.; PERICH, M.; BOOBAR, L. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the America Mosquito Control Association (Estados Unidos)* v. 7, p. 210-235.

VALLEJO, M.C.; SANCHEZ, N. Y. 1992. Cinética y toxicidad de los plaguicidas y su impacto en salud y medio ambiente. *Revisión Bibliográfica. Facultad de Ciencias, Postgrado en Farmacología, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá.*