

Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión

Plant extracts used as biocontrol with emphasis on Piperaceae family. A review

Álvaro Celis¹, Cristina Mendoza¹, Marco Pachón¹, José Cardona¹, Wilman Delgado² y Luis Enrique Cuca³

RESUMEN

El presente trabajo es una recopilación de casos comprobados de actividad biológica de extractos y sustancias de origen vegetal para el control de arvenses, plagas y enfermedades en el sector agrícola. De esta forma, se pone en evidencia que una de las familias con mayor número de reportes en este tipo de actividad biológica es la Piperaceae, esto las convierte en una de las más promisorias para la búsqueda de extractos o compuestos que tengan aplicaciones en la solución de problemas fitosanitarios. Debido a la importancia de Piperaceae y en especial del género *Piper*, los grupos de investigación BioGuavio/AgroUDEC de la Universidad de Cundinamarca y Estudio Químico y de Actividad Biológica de Rutaceae y Myristicaceae Colombianas de la Universidad Nacional de Colombia con el apoyo de Colciencias, desarrollan un proyecto titulado "Bio-prospección participativa de comunidades vegetales asociadas a la familia Piperaceae en la región del Sumapaz medio y bajo occidental" (Código 1101-05-17783) que busca identificar y comprobar en las especies prospectadas aplicaciones de interés en el sector agrícola.

Palabras clave: actividad biológica, bioprospección, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

The present work is a compilation of verified cases of biological activity of extracts and substances of vegetal origin used to control weeds, plagues, and diseases in agricultural sector. It may be evidenced that one of the families with a high number of reports on biological activity is Piperaceae that turns it to be one of most promissory for search extracts or compounds that have applications in the solution of plant health problems. Due to the importance of Piperaceae family and, especially, *Piper* genus, the investigation groups BioGuavio/AgroUDEC of the University of Cundinamarca and Chemical Study and Biological Activity of Colombian Rutaceae and Myristicaceae of National University of Colombia with the support of Colciencias developed the project "Participative bioprospecting of plant communities associated with Piperaceae family in occidental medium and low Sumapaz region (Code 1101-05-17783)" in order to identify and verify, in the prospected species, applications of interest in the agricultural sector.

Key words: biological activity, bioprospecting, secondary metabolites.

Introducción

Las plantas han desempeñado un papel fundamental en la vida del hombre, quien las ha utilizado para suplir necesidades básicas como alimento, medicina, vivienda y vestido, incluso en actos rituales. El uso de las plantas es una práctica que existe desde los inicios de la especie humana. La etnobotánica es la ciencia que investiga la relación entre las plantas y la cultura humana en diferentes ambientes, la cual surge como un instrumento para rescatar tradiciones milenarias sobre los diversos usos que el hombre le ha dado a estas y como alternativa de dar valor agregado a los recursos vegetales (Pino y Valois, 2004). En Colombia, aparentemente, existen muchos trabajos en etnobotánica, pero, dada la gran diversidad florística, estos

son insuficientes. Se pueden citar los de Pérez-Arbeláez (1996) sobre plantas medicinales y venenosas, Schultes (1951) con la flora amazónica y García (1974) con la flora medicinal de Colombia. Las plantas y sus derivados han mostrado efectos controladores contra ácaros, roedores, nematodos, bacterias, virus, hongos e insectos (Grainge y Ahmed, 1988). Especies de plantas como ajo (*Allium sativum*), ají (*Capsicum frutescens*), higuierilla (*Ricinus communis*), nim (*Azadirachta indica*) y paraíso (*Melia azedarach*) son materia prima de varios insecticidas comerciales (Rodríguez y Nieto, 1997).

Dentro de la familia Piperaceae, se destaca que especies del género *Piper* son utilizadas como condimento por sus frutos aromáticos y picantes (*P. nigrum*) y otras se han

Fecha de recepción: octubre 29 de 2007. Aceptado para publicación: abril 9 de 2008

¹ Profesores, Oficina del Sistema de Investigación, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. acelisforero@yahoo.es; cmendozaf@yahoo.com; pachon10@gmail.com; omarcardona2002@yahoo.com

² Profesor asociado, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. wadelgadoa@unal.edu.co

³ Profesor titular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. lecuca@unal.edu.co

empleado por lo general como fuente de insecticidas y en la medicina natural (Keller *et al.*, 1963; Morton, 1981). Debido a sus diversos usos, se considera que esta familia es bien tolerada por el hombre (Arnason *et al.*, 2005). Químicamente los constituyentes más comunes de este género son alcaloides, amidas como isobutilamina, piperidina y pirrolidina, propenilfenoles, lignanos, neolignanos, terpenos, flavonoides, kawalactonas, butenólidos y epóxidos del ciclohexano entre otros (Sengupta y Ray, 1987; Parmar *et al.*, 1997; Delgado *et al.*, 2007).

Una cualidad de las plantas de este género es la presencia de aceites esenciales, que podrían ser característicos de cada especie. Se han efectuado estudios acerca de la composición de varios aceites esenciales del género *Piper*, encontrándose como constituyentes principales fenilpropanoides, mono-terpenoides y sesquiterpenoides (Nigam y Purohit, 1962; Gupta *et al.*, 1985; Ramos *et al.*, 1986). Por ejemplo, se halló un 58% de dilapiol 1 en *P. aduncum* (Smith y Kassim, 1979), un 74,5% en *P. Aduncum* var. *aduncum* y un 88,4% en *P. aduncum* var. *Cordulatum* (Gottlieb *et al.*, 1981); un 70 a 85% de safról 2 en *P. auritum* (Castro y Poveda, 1983; Gupta *et al.*, 1985), 69% en *P. callosum* y 89% en *P. hispidinervum* (Gottlieb *et al.*, 1981); 90,5% de eugenol 3 en *P. betle* (Sharma *et al.*, 1983) y un 80,5% de *trans*-anetol 4 en *P. marginatum* (Hussain *et al.*, 1990).

En 1994, Ciccio obtuvo el aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum*, con un rendimiento de 0,1% en relación con el peso del material fresco. Se analizó la composición del aceite y se identificaron 42 compuestos en forma total o parcial, correspondientes a un 90,2% del aceite como hidrocarburos terpénicos y el alcohol sesquiterpénico *cis*-nerolidol. Estos aceites cumplen funciones ecológicas como la atracción de polinizadores y causar efectos alelopáticos, por lo cual este género tiene un uso potencial para controlar arvenses, plagas y enfermedades (Harborne, 1985). A continuación se describen los usos como biocontroladores de extractos vegetales de diferentes plantas y, adicionalmente, se presentan los estudios en los que se han evaluado extractos de la familia Piperaceae.

Control de arvenses

La interferencia de las malezas con los cultivos es la suma de la competencia por agua, luz, nutrientes y CO₂, lo que produce como resultado pérdidas en calidad y cantidad de los productos agrícolas, y el desperdicio de enormes cantidades de energía. El control de malezas se originó desde el inicio de la agricultura. El hombre ha dedicado grandes esfuerzos para combatir las manualmente y, lue-

go, empleando herramientas y equipos para mejorar la eficiencia en su control. Actualmente existen sofisticados equipos mecánicos para su remoción y sustancias químicas o biológicas para prevenir o retardar su germinación o crecimiento. En las últimas décadas se han logrado significativos avances para obtener sustancias químicas o biológicas que sean menos tóxicas para el ambiente y el hombre y, al mismo tiempo, más selectivas respecto a los cultivos donde se usen. Dentro del control biológico se ha planteado la utilización de compuestos alelopáticos en la formulación de herbicidas (Chiapusio *et al.*, 2004). El término alelopatía se refiere a los efectos detrimentales de una especie de planta superior o donante sobre la germinación, crecimiento y desarrollo de otra especie de planta receptora. Sin embargo, algunos investigadores incluyen efectos estimulantes bajo condiciones alelopáticas, asemejándolos al caso de algunos herbicidas en bajas concentraciones, que activan el crecimiento por efectos hormonales aun cuando continúan siendo clasificados como herbicidas; Chiapusio *et al.*, 2004).

Una manera de examinar las propiedades alelopáticas de una especie es mediante bioensayos en los que se cuantifica la germinación o emergencia de plántulas y se mide la raíz o hipocótilo (Lovett y Ryuntyu, 1992). Una ventaja de los compuestos aleloquímicos en el desarrollo de pesticidas naturales es que son fácilmente biodegradables y muchos de ellos son seguros y limpios desde el punto de vista ambiental (Rizvi *et al.*, 1992). Fajardo *et al.* (2005) sostienen que, debido a la situación existente en la producción agrícola, se han encontrado nuevas vías para obtener una agricultura sostenible basada en recursos naturales y renovables. Una de las soluciones a esta situación ha sido la alelopatía. Estos autores realizaron un ensayo donde evaluaron el efecto de extractos acuosos de girasol (*Helianthus annuum*) al 50% v/v. Se encontraron diferencias significativas en la germinación de las malezas en comparación con el testigo, al mostrar un mayor efecto inhibitorio en la germinación y en el retardo del crecimiento.

El potencial alelopático de exudados radicales fue estudiado por Miquilena y Lazo (2005), quienes encontraron que las malezas *Amaranthus dubius*, *Echinochloa colona* y *Trianthema portulacastrum* influían sobre el porcentaje de germinación y la longitud radical de las especies cultivadas cebolla, pepino, lechuga, tomate y arroz. Los resultados permitieron concluir que los extractos metanólicos de las plantas donadoras ejercieron efectos potencialmente alelopáticos, estimulatorios e inhibitorios sobre la longitud radical de las especies indicadoras, según el tratamiento aplicado, el sustrato utilizado y la especie receptora.

La actividad alelopática y tipos de metabolitos presentes en el follaje de *Lantana trifolia* L. fueron estudiados por Valerino *et al.* (2005), con el fin de obtener compuestos puros potencialmente activos, a partir de extractos de plantas con actividad alelopática contra malezas. Se determinó la actividad alelopática en condiciones de laboratorio de extractos de n-hexano y etanol, al evaluarse los índices de vigor y reducción de plántulas de pepino, tomate y trigo frente a dichos extractos. Se observó que ambas fracciones redujeron el crecimiento de la raíz y el coleóptilo, estando más marcado este efecto en el extracto etanólico. En *L. trifolia* se detectó la presencia de triterpenos/esteroides y flavonoides en el extracto clorofórmico y triterpenos/esteroides, flavonoides y glicósidos en el extracto de n-butanol. En ambos extractos se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias frente a las plántulas estudiadas. Blanco *et al.* (2005) evaluaron el efecto de extractos acuosos de malezas sobre el desarrollo radical temprano del plátano (*Musa* AAB). Para ello, se sembraron cormos de 'Plátano Hartón', con eliminación previa de raíces, los cuales fueron tratados cada tres días con extractos acuosos provenientes de tres malezas: *Cyperus rotundus*, *Rottboellia cochinchinensis* y *Commelina diffusa* y agua como testigo. Se midió número, longitud, peso fresco y peso seco de raíces de plátano. Adicionalmente, los extractos fueron aplicados sobre semillas de maíz, frijol y guandul para verificar el poder alelopático de los extractos, al determinarse la longitud radical. Se obtuvieron diferencias significativas a los 21 días después de la siembra, donde las especies *C. rotundus* y *R. cochinchinensis* favorecieron el desarrollo radical del plátano, mientras que la *C. diffusa* ocasionó una reducción del 70, 50 y 61% en el número, longitud total y peso fresco de raíces, respectivamente, comparado con el testigo. También hubo efecto alelopático de los extractos sobre maíz, frijol y guandul, observado en el incremento ocasionado en la longitud total de raíces. Estos resultados indicaron un potencial alelopático de estas malezas sobre el cultivo del plátano.

Mediante análisis fitoquímicos en laboratorio y campo, Alfonso *et al.* (2005) estudiaron el efecto alelopático de extractos acuosos de *Nerium oleander*, *Aleuritis fordii*, *Ocimum sanctum*, *Gliricidia sepium* y *Thevetia peruviana* sobre la germinación de semillas y desarrollo del eje radículo-hipocotilar en cinco especies de malezas. Todos los extractos evidenciaron efectos inhibitorios, los metabolitos secundarios más frecuentes fueron triterpenos, fenoles y flavonoides.

Cuevas (2007) evaluó los extractos etanólicos de *Swinglia glutinosa* Murray y *Lantana camara* en ensayos de pre-emergencia y posemurgencia, con aplicaciones de siete concentraciones (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 y 5,0% V/V) a

cinco especies de arvenses (chilinchil, bleado, lengüevaca, gualola y nabo) y cinco de cultivos comerciales (arroz, maíz, zanahoria, lechuga y tomate). En los ensayos de preemergencia se observó que el extracto de *S. glutinosa* inhibió la germinación y disminuyó la longitud radicular de las arvenses, cuando se aplicó a las semillas con la concentración más baja (0,5%). Para los extractos de *L. camara*, se requirió de una dosis media de 2,0% para observar el efecto de control en las variables evaluadas.

Los estudios sobre el efecto de extractos de Piperaceae sobre semillas y plántulas de arvenses y cultivos indicadores de fitotoxicidad son escasos. Robayo y Rodríguez (2006) evaluaron el efecto alelopático de extractos etanólicos de *Swinglia glutinosa* y *Piper aduncum*, en tres dosis diferentes, sobre semillas de cinco arvenses asociadas a cultivos de clima cálido. Se presentó inhibición de germinación para todas las especies estudiadas en las diferentes concentraciones. Así mismo, al evaluar el efecto de los extractos sobre plántulas germinadas de las mismas especies de arvenses, se observó fitotoxicidad en un alto grado.

Chávez y Pérez (2008) evaluaron el efecto de seis extractos: fruto y madera de *Piper aduncum*, hojas y raíz de *Piper hispidium*, parte aérea de *Piper holtonii* y madera de *Piper eriopodon*, sobre germinación y desarrollo de plántulas de caminadora (*Rotboellia cochichinensis*), sorguillo (*Sorghum halepense*), nabo (*Brassica rapa*), frijolillo (*Phaseolus lathyroides*), bleado (*Amaranthus dubius*) y lengüevaca (*Rumex crispus*). También se evaluaron estos extractos en semillas de cultivos que pueden indicar fitotoxicidad como maíz, arroz, lechuga, tomate y zanahoria.

Los principales resultados indican que los diferentes extractos en las diferentes concentraciones inhiben germinación en las arvenses y en los cultivos indicadores de fitotoxicidad sobresalen los extractos de madera de *P. aduncum* y raíz *P. hispidium*. Igualmente, los extractos mencionados produjeron reducciones fuertes en el desarrollo radicular y en la parte aérea de las arvenses y las plantas de cultivo. Estos resultados se atribuyeron a la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de *Piper sp.*, los cuales contienen terpenos (Delgado *et al.*, 2007), compuestos precursores del ácido abscísico (ABA). Sin embargo, de acuerdo con estudios realizados por Zamorano y Fuentes (2005), en los que evalúan el potencial alelopático de extractos de nabo silvestre y raigrás sobre las arvenses de la sabana de Bogotá, cenizo, malva blanca y bleado, se determinó que no se puede generalizar el efecto herbicida de los extractos, debido a una posible selectividad. Por esta razón se sugiere realizar estudios específicos con extractos vegetales para cada especie de arvense a controlar.

Control de insectos plagas

Las plagas constituyen la principal limitante de la producción agrícola. Cada año, una tercera parte de la producción de alimentos debe destruirse, por plagas de cultivos y de productos almacenados, por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas vías para su control (Medina, 2001). Este se ha basado, tradicionalmente, en el uso de productos químicos sintéticos, muchos de los cuales han producido, como efecto secundario, problemas de desequilibrio ambiental, salud humana y el surgimiento de poblaciones de plagas más agresivas (FAO, 2002). Son responsables además de resistencia a insecticidas por parte de los insectos (Bourguet *et al.*, 2000) y la pérdida de predadores naturales y polinizadores (Freemark, 1995), que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos.

En humanos, existe referencia de una alta incidencia de enfermedades y diversos cuadros clínicos por intoxicación, al encontrarse elevados niveles de pesticidas en la población (Waterhouse, 1996; Ramírez, 2001). Estos problemas han llevado a la búsqueda de alternativas de control incluidas en el desarrollo de agrosistemas sostenibles, basados en un manejo integrado del cultivo sin alterar el equilibrio del sistema (Bunch, 1997). Una de estas alternativas es el uso de extractos vegetales que actúan como biocontroladores, debido a la presencia de metabolitos secundarios (Cuttler y Schmutters, 1999; Ducrot, 2005). Las plantas producen sustancias de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios. Estos son normalmente no esenciales para el proceso metabólico básico de la planta. Entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, esteroides y ácidos grasos. Esta diversidad química es consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano o la predación de insectos y animales (Dixon, 2001; Ducrot, 2005).

Actualmente se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas (Jacobson, 1989); por tanto, en los últimos años, se está retornando al uso de las plantas como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana (Mansaray, 2000; Ottaway, 2001). Los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales constituyen una interesante alternativa de control de insectos, además que solo se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta, por lo que las perspectivas futuras en investigación, son aún mayores. A partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos, aparecen los insecticidas botánicos que ofrecen seguridad

para el ambiente y son una eficiente opción agronómica (Céspedes *et al.*, 2000; Medina, 2001).

Como alternativa, los productos naturales provenientes de una gran variedad de plantas actúan inhibiendo, repeliendo, disuadiendo o eliminando insectos plagas de distinto tipo (rastrosos, voladores, chupadores, defoliadores, etc.) y también estimulando procesos vitales de los cultivos para fortalecerlos y así protegerse de los ataques de las distintas plagas. Algunas de estas plantas han sido estudiadas científicamente y otras siguen vigentes por leyenda popular (Duke, 1990). La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal exhiben un efecto insectistático más que insecticida, es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Esto lo pueden hacer de varias maneras:

Reguladores de crecimiento. Efecto que se manifiesta de diversas formas. Por un lado, se presentan moléculas que inhiben la metamorfosis, al evitar que esta se produzca en el momento preciso. Otros compuestos hacen que el insecto tenga una metamorfosis precoz y se desarrolle así en una época poco favorable. También se ha observado que determinadas moléculas pueden alterar la función de las hormonas que regulan estos mecanismos, de modo que se producen insectos con malformaciones, estériles o muertos (Silva *et al.*, 2002).

Inhibidores de la alimentación. Es el modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. Un inhibidor de alimentación es un compuesto que, luego de una pequeña prueba, hace que el insecto se deje de alimentar y muera por inanición. Muchos de los compuestos que muestran esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África y la India (Cuttler y Schmutters, 1999).

Repelentes. El uso de plantas como repelentes es muy antiguo, pero no se le ha brindado la atención necesaria para su desarrollo (Tripathi *et al.*, 2000). Esta práctica se realiza con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes, como el ají y el ajo. Un ejemplo se observa en las prácticas realizadas por indígenas de Costa Rica, que espolvorean con ají los recipientes en los que almacenan maíz y frijol para que no se infesten de plagas (Silva *et al.*, 2002).

Numerosos compuestos químicos se producen naturalmente y funcionan en algún grado como insecticidas (Molina, 2001). El rango de su efecto protector va desde repelencia, disuasión de la alimentación y oviposición, hasta toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento

y desarrollo de los insectos. Los insecticidas vegetales presentan la ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos, como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, lo que aumenta enormemente sus posibilidades de integración a un programa de Manejo Integrado de Plagas (Molina, 2001).

Entre los compuestos aislados de plantas usadas para fines insecticidas se encuentra la rotenona extraída de *Derris elliptica* y *Lonchocarpus utilis* y es un flavonoide que se extrae, respectivamente, en un 13% y un 5% de las raíces de estas plantas. Este compuesto es un insecticida de contacto e ingestión y repelente. Su modo de acción implica una inhibición del transporte de electrones a nivel de mitocondrias, bloqueando de esta forma la fosforilación del ADP a ATP. Por esto actúa inhibiendo el metabolismo del insecto. Los síntomas que presentan los insectos intoxicados con rotenona son disminución del consumo de oxígeno, depresión en la respiración y ataxia que provocan convulsiones y conducen finalmente a la parálisis y muerte del insecto por paro respiratorio (Silva *et al.*, 2002).

Otro grupo de compuestos con propiedades insecticidas son las piretrinas, obtenidas de flores del piretro (*Chrysanthemum cinaerifolium*). Los componentes de esta planta con actividad insecticida reconocida son ésteres, formados por la combinación de los ácidos crisantémico y pirétrico y los alcoholes piretrolona, cinerolona y jasmolona. Estos compuestos atacan el sistema nervioso central y periférico, lo que ocasiona descargas repetidas, seguidas de convulsiones. Estos compuestos taponan las entradas de los iones de sodio a los canales, lo que genera que dichos canales sean afectados al alterarse la conductividad del ión en tránsito. La característica más importante de estos compuestos es su efecto *knock down* que hace que el insecto, al entrar en contacto con la superficie tratada, deje de alimentarse y muera. Las piretrinas son el mejor ejemplo de la copia y modificación de moléculas en laboratorio, porque dieron origen a la familia de los piretroides (Silva *et al.*, 2002).

La nicotina es un alcaloide derivado especialmente de tabaco (*Nicotiana tabacum*). Sus propiedades insecticidas fueron reconocidas en la primera mitad del siglo XVI. La nicotina es básicamente un insecticida de contacto no persistente y su modo de acción consiste en mimetizar la acetilcolina al combinarse con su receptor en la membrana postsináptica de la unión neuromuscular. El receptor acetilcolínico es un sitio de acción de la membrana postsináptica que reacciona con la acetilcolina y altera la permeabilidad de la membrana. La actividad de la nicotina ocasiona la

generación de nuevos impulsos que provocan contracciones espasmódicas, convulsiones y, finalmente, la muerte. Hoy se encuentran en el mercado insecticidas conocidos como neonicotinoides, que son copias sintéticas o derivadas de la estructura de la nicotina como Imidacloprid, Thiacloprid, Nitempiram, Acetamiprid y Thiamethoxam, entre otros.

Azadiractina es un tetraterpenoide característico de la familia Meliaceae especialmente del árbol Neem (*Azadirachta indica*). Este compuesto se encuentra en la corteza, hojas, frutos y, principalmente, en la semilla del árbol (Valladares *et al.*, 1997). En el extracto se han identificado alrededor de 18 compuestos, entre los que se destaca azadiractina, que se encuentra en mayor concentración. Muestra acción antialimentaria, reguladora del crecimiento, inhibidora de la oviposición y esterilizante. Actualmente se pueden encontrar formulaciones comerciales de Neem como Neem Gold, Neemazal, Econeem, Neemark, Neemcure y Azatin, entre otros (Grainge *et al.*, 1988).

De plantas de la familia Rutaceae, se han aislado numerosos limonoides (naturales y modificados) para estudiar los efectos antialimentarios que provocan sobre especies de insectos plagas pertenecientes a Lepidopteros (Suresh *et al.*, 2002).

Hortalizas tan comunes como papa, tomate y berenjena (familia Solanaceae) producen alcaloides conocidos como chaconina, solanina, tomatina, atropina y escopolamina, que poseen un efecto insecticida poderoso en la mayoría de los insectos, aunque algunas especies han desarrollado tolerancia a estas toxinas (Menjívar, 2001).

El papel de los metabolitos secundarios de las plantas como agentes de control ha sido establecido por Baladrin *et al.* (1985) y una aproximación de identificación de los compuestos de posible valor práctico se pueden tener al identificar plantas que son resistentes al ataque de insectos y al separar sus principios activos. Muchas familias de plantas como las Myrtaceae, Asteraceae y Piperaceae son bien conocidas por tener principios como los terpenoides y grupos de amidas que tienen efecto antialimentario, repelente e insecticida que inhibe el desarrollo y el crecimiento de muchos insectos del orden *Lepidoptera* (Srivastava *et al.*, 2000).

Carrero y Lizarazo (2006) estudiaron el efecto de extractos acuosos, etanólicos y de diclorometano de hojas de carboñero (*Calliandra pittieri*), hierba mora (*Solanum nigrum*) y barbasco (*Polygonum hydropiperoides*), en diferentes dosis y encontraron que el extracto de *P. hydropiperoides* obtenido con diclorometano produjo un efecto antialimentario e insecticida

tipo *know down* de importancia económica en larvas de *Spodoptera frugiperda* criadas en condiciones de laboratorio.

Scott *et al.* (2004) trabajaron con extractos de tres especies de plantas de la familia *Piperaceae*, *Piper nigrum*, *P. guineense* y *P. tuberculatum*, que fueron evaluados en insectos de cinco órdenes. Las tres especies contenían isobutyl amidas, compuestos secundarios de plantas que actúan como neurotoxinas contra los insectos. Estos compuestos se consideran seguros para los mamíferos, ya que *Piper* ha sido usado por siglos como especia y elemento medicinal. En esta investigación los valores de LD50 de *P. nigrum* fueron comparados entre insectos-plagas y las especies más sensibles en orden del incremento de la concentración letal fueron: *Malacosoma americanum*, *Neodiprion sertifer*, *Yponomeuta cagnagella*, *Pyrrhalta viburni*, *Acalymma vittatum*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Popillia japonica* y *Blissus leucopterus hirtis*. Los mismos autores encontraron que las formulaciones de *Piper sp.* también tienen una actividad repelente, protegen las hojas de las plantas de comedores de follaje, adultos, larvas y de oviposición.

Soberón *et al.* (2006) evaluaron la acción biocida de extractos de *Piper tuberculatum* sobre larvas de *Diatrea saccharalis*. Utilizaron extractos acuosos, diclorometano-metanol y etanólico de hojas, tallos y espigas maduras, en larvas del tercer estadio. Los extractos de diclorometano-metanol y etanólico de espigas maduras y extracto de diclorometano-metanol de plantas *in vitro* mostraron niveles significativos de mortalidad larval.

La aplicación de extractos etanólicos de diez especies de *Piper* presentes en la región del Sumapaz (Cundinamarca) en larvas de *Spodoptera frugiperda* de tercer instar ocasionó un efecto antialimentario y altos porcentajes de mortalidad, similares al presentado con el testigo comercial biológico (*Bacillus thuringiensis*). Estos resultados se pueden deber a la acción de los metabolitos secundarios presentes (Delgado *et al.*, 2007) y a una posible asociación de plantas del género *Piper* con *B. thuringiensis*, lo que se evidencia en la similitud de la sintomatología en las larvas tratadas con el control biológico (BT) (Murcia y Bermúdez, 2008).

Control de enfermedades

El control biológico de enfermedades de plantas constituye una práctica ampliamente difundida y sigue siendo objeto de investigación y desarrollo. Un concepto amplio de control biológico incluye nociones como las de prácticas de cultivo y resistencia a las enfermedades. Desde esta

perspectiva se acepta que es “la reducción de la cantidad del inóculo o en la actividad en la producción de la enfermedad producida por un patógeno o parásito en su estado activo o latente, por acción de uno o más organismos, efectuado naturalmente o por medio de la manipulación del ambiente, del huésped o del antagonista o por la inducción de uno o más antagonistas” (Izquierdo *et al.*, 1995). Por otra parte, se encuentra el concepto clásico que se restringe a que control biológico es el uso deliberado de un organismo para controlar a otro. Sin embargo, y en relación a este último concepto, es necesario considerar que las interacciones de múltiples variables presentes en el medio ambiente pueden modificar las interacciones entre los microorganismos y su entorno, muchas de las cuales pueden favorecer o impedir un control biológico efectivo (McSpadden-Gardener, 2002).

Fusarium oxysporum f. sp. *Lycopersici* es el causante de la marchitez del tomate y otros productos agrícolas y se ha observado que los fungicidas actuales tienen poca efectividad en su control, por lo que se buscan alternativas de control biológico utilizando extractos vegetales. Con ese objetivo se colectaron hojas sanas de dos Euphorbiaceae (*Croton rhamnifolius* var. *Caudatus* y otra aún sin identificar) y una Sterculiaceae (*Waltheria sp.*), se prepararon extractos que se adicionaron a un medio semisólido sobre el cual se sembró el hongo. Se determinó el diámetro de la colonia, se calculó el porcentaje de reducción del crecimiento en relación al testigo y se encontraron diferencias significativas. Los resultados muestran un potencial de uso de estos extractos en un programa de control del patógeno (Rodríguez *et al.*, 2003).

García *et al.* (2006), al realizar la evaluación de la actividad antifúngica con los aceites esenciales obtenidos en plantas aromáticas, determinaron una mayor actividad biológica con limonaria (*Cymbopogon citratus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Se realizó la evaluación fitotóxica sobre plantas de tomate de árbol, mostrando que la aplicación sistemática y en altas concentraciones no ocasionó ninguna lesión de las contempladas en las escalas de daño a las plantas evaluadas.

Stauffer *et al.* (2000) evaluaron los extractos de 98 especies vegetales pertenecientes a 46 familias botánicas (7 monocotiledóneas; 46 dicotiledóneas; 1 conífera y 2 pteridofitas) para determinar su posible efecto fungicida o bactericida, con la factibilidad de ser utilizados en el control de enfermedades en plantas. Nueve de los extractos evaluados (ajo, cebolla, quebracho colorado, agrial, palo santo, chirca, guayaba, eucalipto y pino) demostraron inhibición de

crecimiento de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. La inhibición del crecimiento fungoso solo se obtuvo con extractos de ajo y cebolla (utilizados como referencia), así como con el extracto de mamón contra *Colletotrichum* sp. El extracto de ajo tuvo efecto inhibitorio sobre siete especies de hongos (*Penicillium italicum*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Pythium* sp.). El efecto de la cebolla fue menor en intensidad y afectó sólo a *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Pythium* sp.

También se ha evaluado el efecto de extractos vegetales sobre bacterias. Loaiza *et al.* (1996) determinaron el potencial biocida de extractos de veinte plantas del bosque tropical de Costa Rica. Se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de diferentes partes de cada planta. Se utilizó un cultivo de bacterias desarrollado en el medio PDA. De los extractos evaluados *Picramnia antidesma*, *Platimicium pleiostachium*, *Jacquinia pungens*, *Vatairea lundeli*, *Ateleia herbert* y *Cassia emerginata* exhibieron los mayores halos de inhibición en comparación de los testigos comerciales para las bacterias evaluadas. Los metabolitos secundarios identificados a los cuales se les aduce la acción inhibitoria son de naturaleza antroquinónica y flavonoides de naturaleza catequínica.

Puente *et al.* (2005) sostienen que el uso indiscriminado de pesticidas en las prácticas agrícolas ha causado contaminación ambiental, problemas a la salud humana y productos agrícolas inseguros. Por tal motivo, realizaron un trabajo en condiciones de campo con el objetivo de estudiar el efecto del extracto vegetal de *Phyllanthus strigulosus* var. *sericeus*, sobre el hongo fitopatógeno del suelo *Sclerotium rolfsii* Sacc., causante de pudriciones en el cuello y la raíz de plántulas de cultivos susceptibles, al evaluarse el efecto de estos extractos al 50% de concentración. Estos extractos mostraron actividad inhibitoria frente a este hongo fitopatógeno y su potencial como especie alelopática.

Srivastava *et al.* (2001) describen en un estudio la actividad antibacteriana de aislamientos de *Piper longum* y *Taxus baccata*. Los aislamientos de *P. longum* fueron activos contra bacterias Gram-positivas y moderadamente activas contra bacterias Gram-negativas.

Arciniegas *et al.* (2002) realizaron la evaluación de extractos etanólicos crudos a partir de diferentes partes de las plantas pertenecientes a trece familias, entre las que se encontraba la Piperaceae. Diferentes concentraciones de estos extractos se estudiaron bajo condiciones *in vitro* y se midió el efecto de la actividad antifúngica contra *Mycosphaerella fijiensis*,

causante de la sigatoka negra en plátanos y bananos. De veinte extractos etanólicos, solo los de ocho especies (*Commelina diffusa*, *Momordica charantia*, *Pavonea* sp., *Plenas* sp., *Sida rhombifolia*, *Syzygium aromaticum*, *Piper hispidum* y *Piper peltatum*) mostraron actividad antifúngica, tanto en germinación de esporas como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis*, y en algunos casos eran más efectivos que el fungicida comercial propiconazole, por lo que estos extractos fueron rotulados como promisorios. El fraccionamiento de estos extractos crudos mediante diclorometano reveló que los constituyentes antifúngicos activos en la planta son encontrados en una u otra de las fracciones analizadas. Estos resultados podrían permitir aislar estos compuestos para utilizarlos como sustancias promisorias para el control de la sigatoka negra.

Silva *et al.* (2002), en un estudio sobre plantas de la familia Piperaceae separaron amidas, con un alto contenido de isobutyl, pirrolidina, dihidropiridona y piperidina. Al realizar una separación de bioactivos por fraccionamiento, *Piper arboreum* presentó dos nuevas amidas: N-(10-(13,14-methylenedioxyphenyl)-7(E),9(Z)-pentadienyl)-pyrrolidina y arboreumina y otros compuestos conocidos N-(10-(13,14-methylenedioxyphenyl)-7(E)-pentaenyl)-pyrrolidina y N-(10-(13,14-methylenedioxyphenyl)-7(E),9(E)-pentadienyl)-pyrrolidina. También se separaron seis amidas y dos derivados antifúngicos cinnamoyl derivados de semillas y hojas de *Piper tuberculatum*. La mayoría de estos compuestos mostraron actividad antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum*. Un estudio realizado por Hernández y Vásquez (2007) determinó que la aplicación de extractos vegetales de hojas de *Piper aduncum* y *Thymus vulgaris* y de flores de *Matricaria chamomilla* permite controlar, bajo condiciones *in vitro* y en plántulas, el desarrollo del hongo *Colletotrichum gloeosporoides*, causante de la antracnosis en el tomate de árbol. Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el mayor control del hongo se obtuvo con el extracto floral de *M. chamomilla*. Debido a la actividad biológica de la familia Piperaceae, los autores sugieren realizar estudios para determinar si existe una mayor inhibición de *C. gloeosporoides* con extractos de inflorescencias de *P. aduncum*, debida a la presencia de lignanos y flavonoides.

A partir de los resultados anteriormente expuestos queda claro que es necesario desarrollar nuevos sistemas de manejo integrado basados en productos naturales de plantas, que reduzcan la dependencia de los productos sintéticos y, por tanto, menos contaminación ambiental y mayor calidad en los alimentos agrícolas producidos.

Literatura citada

- Alfonso, M., R. Villasana, Y. Lorenzo, ME. Álvarez, D. Pérez y H. Uranga. 2005. Análisis fitoquímico de cinco plantas con actividad alelopática. pp. 592-595. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Álvarez, M y E. Rodríguez. 1986 Determinación del posible efecto alelopático de tres especies malezas sobre el desarrollo vegetativo del cultivo de soya (*Glycine max.* (Merr). Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, UCV, Maracay, Venezuela.
- Arciniegas A., A.S. Riveros y J.E. Loaiza. 2002. Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo in-vitro de *Mycosphaerella fijensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. pp. 593-595. En: Memorias XV Reunión de la Asociación de Bananeros "AUGURA", Cartagena.
- Arnason J.T., T. Durst y B.J.R. Philogene. 2005. Phytochemical discovery of new botanical insecticides. pp. 37-46. En: Regnault, R.C., Philogene, B.J.J., Vincent C. (eds.). Biopesticides of plant origin. Lavoiser and Intercept, Ltd., Paris and Andover. 313 p.
- Baladrin M.F., J.A. Klocke, E. Wurtele y H. Bollinger. 1985. Natural plant chemicals. Sources of industrial and medicinal material. Science 228,1154-1160.
- Blanco, G., D. Sánchez., O. Hernández y A. Pérez. 2005. Evaluación preliminar del efecto de extractos acuosos provenientes de tres especies malezas en el desarrollo radical temprano del plátano (*Musa AAB*). pp. 604-609. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Bourguet D., A. Genissel y M. Raymond. 2000. Insecticide resistance and dominance levels. J. Econ. Entomol. 93, 1588-1595.
- Bunch, R. 1997. Principios de la Agricultura Orgánica. Hoja a Hoja (Costa Rica) 20, 2-6.
- Carrero R. y K. Lizarazo. 2006. Evaluación de los efectos de extractos vegetales obtenidos a partir de Barbasco (*Polygonum hydropiperoides*), Hierba mora (*Solanum nigrum*) y Carbonero (*Calliandra pittieri*) sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (JE. SMITH) en segundo instar, bajo condiciones controladas. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 75 p.
- Castro, O. y L.J. Poveda. 1983. *Piper auritum* (H.B.K.) familia Piperaceae. Estudio preliminar del aceite esencial de sus hojas. Ingeniería y Ciencia Química 7, 24-25.
- Céspedes, C.L., J.S. Calderón, L. Lina y E. Aranda. 2000. Growth effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela spp.* (Meliaceae). J. Agr. Food Chem. 48, 1903-1908.
- Chávez, D.C. y Y.J. Pérez. 2008. Efectos alelopáticos de extractos de piperaceae sobre germinación y emergencia de arvenses y plantas cultivadas bajo condiciones controladas. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 96 p.
- Chiapusio, G., F. Pellissier y C. Gallet. 2004. Uptake and translocation of phytochemical 2-benzoxazolinone (BOA) in radish seeds and seedlings. J. Exp. Bot. 55(402), 1587-1592.
- Ciccio, J.F. 1994. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae). Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA) y Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San José.
- Cuevas, J.C. 2007. Aspectos fisiológicos en el proceso germinativo de especies de arvenses y plantas de cultivo y el efecto inhibitorio producido por extractos de *Swinglia glutinosa Murray* y *Lantana camara* L. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 81 p.
- Cuttler, P. y H. Schmutters. 1999. Natural pesticides from the Neem seed and other plants. J. Ethnopharmacology 333, 11-19.
- Delgado, W., M.E. Pachón, A. Celis, C. Mendoza, J.O. Cardona, M. Bustamante, M. Daza, L.E. Cuca. 2007. Informe técnico de avance proyecto "Bioprospección participativa de comunidades vegetales asociados a la familia Piperaceae en la región del Sumapaz medio bajo occidental". Colciencias-Universidad Nacional de Colombia-Universidad de Cundinamarca. 55 p.
- Dixon, R. 2001. Natural products and plant disease resistance. Nature 411, 843 - 847
- Duke, S.O. 1990. Natural pesticides from plants. pp. 517-523. En: Janick, J. y J. E. Simon (Eds.). Advances in new crops. Timber Press. Portland, Oregon. 829 p.
- Ducrot, P.H. 2005. Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticida activity of natural products from higher plants. pp. 47-58. En: Regnault, R.C., B.J.J. Philogene y C. Vincent (eds.). Biopesticides of plant origin. Lavoiser and Intercept, Ltd., Paris and Andover. 313 p.
- Fajardo, C.E., M. Puentes, S. Torres, A. Fierro y R. Espinosa. 2005. Efecto alelopático de extracto acuoso de girasol (*Helianthus annuus* L.) en la germinación y desarrollo de malezas en diferentes épocas del año. pp. 610-616. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- FAO. 1999. Cultivating our future. Documento expositivo: El carácter multifuncional de la agricultura y la tierra. Conferencia FAO/Países Bajos sobre el Carácter Multifuncional de la Agricultura y la Tierra. En: <http://www.fao.org/docrep/X2777S/X2777S00.htm>; consulta: marzo de 2007.
- Freemark K. y C. Boutin. 1995. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: A review with special reference to North America. Agr. Ecosystems Environ. 52(2), 67-91.
- García B.H. 1974. Flora medicinal de Colombia. Botánica médica. Tomo II. Imprenta Nacional, Bogotá.
- García C., G. Mier, D. Alzate, A. Mora y K. Afanador. 2006. Evaluación de la actividad biológica de aceites esenciales contra *Collectotrichum acutatum* y su acción fitotóxica sobre *Solanum betacea* (Cav) Sendt. pp. 8-31. En: Memorias XXVI Congreso Ascolfi, Bogotá.
- Gottlieb, O.R., M. Koketsum, M.T., Magalhaes, J.G.S. Maia, P.H. Mendez., A.I da Rocha., M.L. da Silva y V.C. Wilberg. 1981. Óleos essenciais da Amazônia VII. Acta Amazônica 11, 143-148.
- Grainge, M. y S. Ahmed. 1988. Handbook of plant with pest-control properties. John Wiley and sons, Nueva York. 470 p.
- Gupta, M.P., T.D. Arias, N.H. Williams, R. Bos y D.H.E. Tattje. 1985. Saffrole, the main component of the essential oil from *Piper auritum* of Panama. J. Natural Products 48, 330-343.

- Harbone, J.B. 1985. Introducción a la bioquímica ecológica. Ed. Alambra, Madrid. 355 p.
- Hernández, J., D. Rodríguez., G. Blanco y N. Sanabria. 2005. Efecto de extractos etanólicos de *Heliotropium indicum* L., *Lippia origanoides* HBK. y *Phyllanthus niruri* L. en plantas de banano 'Cambur Manzano' (*Musa AAB*) para el control de *Mycosphaella fijiensis* Morelet en Yacucuy, Venezuela. pp. 617-618. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Hernández E. y J.A. Vásquez. 2007. Evaluación de tres extractos vegetales para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) & Sacc.) en tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt). Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 86 p.
- Hussain, R.A., L.J. Poveda, J.M. Pezzuto, D.D. Soejarto y A.D. Kingjorn. 1990. Sweetening agents of plant origin: Phenylpropanoid constituents of seven sweet-tasting plants. *Econ. Bot.* 44, 174-182.
- Izquierdo, J., L. Ciampi y E. García. 1995. Biotecnología apropiable: racionalidad de su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago. En: <http://www.rlc.fao.org/prior/segalim/prodalim/prodveg/aprop.pdf>; consulta: marzo de 2007.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. pp. 1-10. En: Arnason, J. T., B.J.R. Philogene y P. Morand (eds.). *Insecticides of plant origin*. ACS Symposium Series 1989. 387 p.
- Keller, Fy M.W. Klohs. 1963. A review of the chemistry and pharmacology of constituents of *Piper methistycum*. *Lloydia* 26, 1-15.
- Loaiza, J., G. Rivera., M. Barrios y O. Castro. 1996. Evaluación *in-vitro* del efecto de extractos vegetales sobre las bacterias *Erwinia carotovora*, *Xanthomonas campestris* y *Pseudomonas solanacearum*. pp. 118. En: Memorias del III Congreso de Fitopatología San José, Costa Rica.
- Lovett, J. y M. Ryuntyu. 1992. Allelopathy: Broadening the context. pp. 11-19. En: Rizvi, S.J.H. y V. Rizvi (eds.). *Allelopathy: basic and applied aspects*. Chapman y Hall, Londres.
- Mansaray, M. 2000. Herbal remedies food or medicine?. *Chem. Ind.* 20(16), 677- 678.
- McSpadden-Gardener, B. y D. Fravel. 2002. Biological control of plant pathogens: research, commercialization and application in the USA. Online. *Plant Health Progress* 10:1094/PHP-2002-0510-01-RV.
- Medina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 59, 76-77.
- Menjívar, R. 2001. Insecticidas naturales. Riesgos y Beneficios. En: <http://www.elsalvador.com/hablemos/Ediciones/290701/actualidad.htm>; consulta: febrero de 2007.
- Miquilena, L y J.V. Lazo. 2005. Evaluación del potencial alelopático de exudados radicales de las especies *Amaranthus dubius* Mart, *Echinochloa colona* Link y *Trianthema portulacastrum* L. sobre especies cultivadas, ubicadas en agroecosistemas de los estados Aragua y Falcón, Venezuela. pp. 625-630. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Molina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en el control de plagas y enfermedades. pp. 56-59. En: Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo integrado de plagas. CATIE, Costa Rica.
- Morton, J.F. 1981. Atlas of medicinal plants of Middle America. Charles C. Thomas. Springfield, Illinois. 1420 p.
- Murcia, A.M. y H. Bermúdez. 2008. Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de la familia Piperaceae, sobre *Spodoptera frugiperda* Smith, en condiciones semicontroladas. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 105 p.
- Nigam, S.S. y R.M. Purohit. 1962. Chemical examination of the essential oil of the leaves of *Piper betle*. *Riechstoffe Aromen* 12, 185-190.
- Ottaway, P.B. 2001. The roots of a health diet. *Chem. Ind.* 22, 42-44.
- Parmar, V., S. Subhash, C. Jain, K.S. Bisht, R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.D. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen y P.M. Boll. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochem.* 46(4), 597-673.
- Pérez-Arbeláez, E. 1996. Plantas útiles de Colombia. Quinta edición. Fondo FEN Colombia. DAMA, Jardín Botánico "José Celestino Mutis", Bogotá. 831 p.
- Pino, N. y H. Valois. 2004. Ethnobotanical of four black communities of municipality of Quibdó, Choco-Colombia. *Lyonia J. Ecol. Application* 7(2). En: <http://www.lyonia.org/wvview-Article.php?articleID=312>; consulta: febrero de 2007.
- Puente, M., A. Campos y A.L. León. 2005. Efecto fungicida o fungistático de un extracto vegetal sobre plantas susceptibles al hongo fitopatógeno del suelo *Sclerotium rolfsii* Sacc. en condiciones de cultivo protegido. pp. 637-643. En: Memorias XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas (ALAM). Varadero, Matanzas, Cuba.
- Putman, A.R. 1985. Weed allelopathy. pp. 131-155. En: Duke, S.O. (ed.). *Weed physiology*. Vol I. Reproduction and Ecophysiology. CRC Press, Boca Raton.
- Ramírez L. 2001. Efectos agudos crónicos de los plaguicidas en la salud humana. p. 30. En: Memorias Simposio Impacto de los Agroquímicos en el Occidente del País. Barquisimeto, Lara, Venezuela.
- Ramos, L.S., M.L. Da Silva, A.I.R. Luz, M.G.B. Zoghbi y J.G.S. Maia. 1986. Essential oil of *Piper marginatum*. *J. Natural Products* 49, 712-713.
- Rizvi, S.J., H. Haque, V.K. Singh y V. Rizvi. 1992. A discipline called allelopathy. pp. 1-10. En: Rizvi, S.J. y V. Rizvi (eds.). *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Chapman, Londres.
- Robayo, D. y Y. Rodríguez. 2006. Determinación de la actividad alelopática de extractos de *Swinghia glutinosa* Murray y *Piper aduncum* L., sobre germinación de semillas de arvenses. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá. 84 p.
- Rodríguez, H.C. y D. Nieto. 1997. Anonáceas con propiedades insecticidas. pp. 229-239. En: Rebouças São Jose, A., I. Vilas Boas, O. Magalhães y R. Hojo (eds). *Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)*. Bahía, Brasil.