

## Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae.

[Biopesticides of botanical origin, phytochemicals and extracts from Celastraceae, Rhamnaceae and Scrophulariaceae]

Carlos L. CÉSPEDES<sup>\*1</sup>, Julio ALARCON<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitoquímica Ecológica, <sup>2</sup>Laboratorio de Síntesis Orgánica y Biotransformación  
Universidad del Bío Bío, Chillan, Chile

\*Contactos / Contacts: Carlos L. CÉSPEDES E-mail address: [cespedes.leonardo@gmail.com](mailto:cespedes.leonardo@gmail.com)

Desde la década de los 50's en la agricultura intensiva occidental se han usado pesticidas orgánicos sintéticos que se acumulan en los suelos causando contaminación y toxicidad para todas las formas de vida debido a la baja biodegradabilidad de estos compuestos, dando origen a un recurrente fenómeno de surgimiento de nuevas generaciones resistentes a estos plaguicidas sintéticos. Por otra parte, metabolitos secundarios biosintetizados por especies vegetales, hongos y bacterias tanto terrestres como marinas, proporcionan nuevas fuentes de controladores de plagas, estos son bio-degradables.

Varios de ellos presentan actividad selectiva ya que ejercen presión sobre las plagas (insectos, hongos, bacterias y virus) al estar constituidos por combinaciones de ellos actuando simultáneamente sin generación de resistencia (Saxena, 1986; Feyerisen, 1999; Eisner *et al.*, 2004; Einhellig, 1995; Muñoz y Fajardo, 2005; Urzúa *et al.*, 2010; Céspedes *et al.*, 2001; 2006b; Plettner, 2002; Simmonds, 2003).

Debido a la gran diversidad de plagas que causan pérdidas en la productividad agrícola (cultivos en crecimiento y granos almacenados) y al hecho de que muchos plaguicidas comerciales han perdido su registro en los últimos años, se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas para el control de estos organismos.

Chile es un país que tiene un muy buen índice de plantas endémicas con un interesante contenido de metabolitos secundarios, lo que abre múltiples

posibilidades de encontrar compuestos con probables actividades pesticidas (Céspedes *et al.*, 2006b). Así, en nuestro país y en América se han utilizado plantas en la medicina y la agricultura tradicionales desde la época prehispánica; y sin embargo se han realizado pocos estudios sistemáticos al respecto. En los tiempos actuales constituyen una fuente valiosa de aleloquímicos en la que aun se ha incidido en muy pequeña escala.

Los estudios de actividades biocidas de los metabolitos secundarios corresponden a aquellos que afectan el desarrollo y el metabolismo energético de los organismos biológicos, y que son los que usan como pruebas de actividades biológicas muchos grupos de trabajo en Latinoamérica. Estas actividades biológicas son medidas indirectas de los efectos y en la actualidad se están llevando a cabo estudios más profundos de actividad herbicida, insecticida y fungicida de extractos, fracciones y compuestos puros y además algunos grupos estudian sus mecanismos de acción.

Uno de los objetivos es estudiar con detalle algunas de las características de la interacción planta-hongo y planta-insecto, lo que trae como consecuencia tener que abordar, además de los estudios fitoquímicos convencionales de plantas seleccionadas (extractos, fracciones parciales y compuestos puros), estudios de tipo microbiológico, inhibición enzimática, cinética enzimática, entre otras. Comparativamente son pocos los compuestos de origen natural, que han sido

identificados con las características de insecticidas, fungicidas o alelopáticos.

### **Información fundamental**

La riqueza florística de Chile constituye uno de los recursos naturales más importantes del País. Sin embargo, hasta ahora el porcentaje de especies estudiadas desde el punto de vista agroquímico y biológico es muy bajo. Aunque la investigación científica de la flora chilena se ha destacado por un notable y sostenido avance, el estudio fitoquímico y el número de compuestos aislados e identificados que han sido caracterizados por sus propiedades biológicas con aplicaciones agroquímicas es escaso. Más aún, entre los principios activos menos estudiados están los reguladores del crecimiento de insectos y malezas, y las propiedades insecticidas y herbicidas de plantas endémicas de Chile. Es importante decir que el interés científico por el estudio de las plantas chilenas como fuente de principios bioactivos se ha incrementado en forma gradual en los últimos años y cada vez es más necesaria la incorporación de esquemas de investigación interdisciplinarios. Estos procedimientos han permitido obtener algunos principios agroquímicos potenciales mediante estudios fitoquímicos biodirigidos (Céspedes *et al.*, 2006a; 2006b).

En este contexto y considerando que en los años recientes la búsqueda de nuevos agentes plaguicidas, principalmente de origen natural (biopesticidas) se ha incrementado y que los insecticidas de origen sintético de mayor uso presentan alta toxicidad y persistencia (Benner, 1993; Pillmoor, 1993), una de las vías alternativas para el control de plagas ha sido hasta ahora el control biológico. Sin embargo, hoy en día se reconoce que el control biológico afecta a distintos rangos de huéspedes y este efecto debe ser considerado antes de liberar vectores y juzgar los efectos positivos y negativos sobre especies nativas y no-nativas en las nuevas áreas afectadas (Van Driesche *et al.*, 2003). Aunque existen notables éxitos con este método, en otras instancias los efectos producidos por el control biológico han hecho surgir importantes problemas ecológicos. Debido a estos problemas, la búsqueda y descubrimiento de nuevos biopesticidas de origen botánico biodegradable y amigable con el medioambiente, con rangos selectivos de acción y diversas aplicaciones a hecho florecer promisorios campos de investigación en los productos naturales.

Así, nuestro grupo de trabajo ha establecido un

programa interdisciplinario hasta ahora parcialmente exitoso, cuyo objetivo fundamental es determinar la potencialidad agroquímica de extractos y metabolitos secundarios de especies selectas de la flora chilena y productos derivados de las mismas con la finalidad de contribuir al desarrollo de nuevos agentes agroquímicos biodegradables y con menor toxicidad y resistencia a plagas. Estudios que determinan blancos y mecanismos de acción de productos naturales son escasos, y es donde incide una de nuestras líneas de investigación (Akthar *et al.*, 2008; Alarcon *et al.*, 2008; Céspedes *et al.*, 2006b; Hincapié *et al.*, 2011; Isman, 2001; 2006; 2008; Kubo, 2006; Seigler, 1998).

### **Tendencias actuales**

Los sitios de acción más frecuentes de pesticidas comerciales sintéticos son la síntesis de microtúbulos, el metabolismo estomacal de los insectos, el sistema nervioso central, la cadena redox de la respiración mitocondrial y la síntesis de quitina en el caso de los hongos, entre otros. De acuerdo con estos antecedentes, resulta fundamental estudiar productos naturales y hemi-sintéticos (análogos) que presenten actividad herbicida, insecticida y fungicida, que afectan esos sitios de acción y que a diferencia de los pesticidas sintéticos, no causen contaminación en suelos, flora y fauna asociadas y otras formas de vida (Bunkers, *et al.*, 1988; Cremllyn, 1990; Crowley, *et al.*, 1998; Rodgers, 1993; Duke y Abbas, 1995; Hedin and Hollingworth 1997; Isman, 2001; 2006; 2008).

De acuerdo con estudios recientes, nuevas fitotoxinas naturales han mostrado una gran eficacia para el control de malezas e insectos nocivos. Además, estos productos presentan una gran diversidad estructural y los mecanismos mediante los cuales ejercen su actividad biológica han resultado también nuevos y específicos (Duke y Abbas, 1995; Ghisalberti, 1993; Macías *et al.*, 2008). Las fitotoxinas ejercen su efecto a través de diversos mecanismos, los cuales afectan algunos de los procesos esenciales del metabolismo o la fisiología de los hongos fitopatógenos y de insectos plaga. Los estudios relacionados con el mecanismo de acción de sustancias naturales son escasos, y de manera general y específica, entre los más investigados destacan aquellos que interfieren con:

(a) la biodisponibilidad de energía, por ejemplo, el transporte de electrones mitocondrial, la fosforilación oxidativa, el transporte de electrones y la destrucción de pigmentos;

(b) la organización estructural mediante la alteración de la biosíntesis de lípidos y quitina;

(c) la división celular, la síntesis de ácidos nucleicos y el metabolismo del nitrógeno, incluyendo la biosíntesis de aminoácidos.

Además muestran las siguientes actividades en insectos:

(a) acción insecticida,

(b) acción antialimentaria,

(c) acción inhibidora de la pupación,

(d) simulación de hormonas de crecimiento en insectos,

(e) inhibición de la oviposición,

(f) inhibición de la enzima acetilcolinesterasa,

(g) inhibición de la enzima tirosinasa,

(h) inhibición de fenol oxidasas.

En la literatura se puede encontrar numerosas revisiones acerca del mecanismo de acción de los agentes plaguicidas de origen natural (biopesticidas) (Einhellig, 1995; Kubo, 2006; Kubo *et al.*, 1999; 2000; Isman 2001; 2006; 2008; Parmar y Walia, 2001).

Por años, la interacción de las plantas con los insectos, sus naturales depredadores, junto con los herbívoros, ha evolucionado constantemente, y durante las últimas décadas ha surgido una numerosa investigación basada en esta interacción (Stark, *et al.*, 1999; Kogan, 1998; Balwin, 2001; Meinwald, 2002). La batalla contra los insectos y los hongos que constituyen plagas nocivas a cultivos agrícolas, comenzó desde hace 50 años, con la aplicación de los compuestos órgano-clorados; y no fue hasta la década de los 60's cuando se comenzó a utilizar plaguicidas de origen vegetal, como los piretroides, sin duda los más importantes obtenidos de flores secas del "piretro" *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae) (y que ya era empleado como insecticida por tribus indígenas antes de 1800 (Camps, 1988)), desde entonces han aparecido los inhibidores de la acetilcolinesterasa, de la respiración, los "IGRs" reguladores del crecimiento, los que atacan los canales de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> (Zlotkin, 1999), los que actúan en el receptor de la acetilcolinesterasa-nicotina (nicotinoideas) (Casida y Quistad, 1998). Como se ha mencionado, el uso indiscriminado de los insecticidas sintéticos ha originado resistencias cruzadas, y una constante co-evolución en las enzimas detoxificadoras como los citocromo P<sub>450</sub> (Feyereisen, 1999; Zlotkin, 1999).

Muchos metabolitos secundarios poseen sitios específicos de acción, como por ejemplo los receptores ácido-gama-aminobutírico/glicina (GABA), actuando como antialimentarios y/o fagoestimulantes (Mullin, *et*

*al.*, 1994). Repelentes, reguladores de crecimiento, insecticidas y fungicidas de origen botánico (biopesticidas) y que se encuentran actualmente en el desarrollo de uso comercial, han demostrado poseer una baja incidencia en los mecanismos de resistencia de los insectos y hongos plaga.

Un variado número de autores Ibero-americanos llevan a cabo estudios sobre muchas plagas con diferentes extractos, mezclas y compuestos puros obtenidos de plantas endémicas (Burillo y González-Coloma, 2009; Chiffelle *et al.*, 2009; Collavino *et al.*, 2006; Clemente *et al.*, 2003; Lannacone y Lamas, 2003; Otálvaro *et al.*, 2007; Palacios *et al.*, 2009; Rossetti *et al.*, 2008; Tallarico *et al.*, 2007; Urzúa *et al.*, 2010; Valladares *et al.*, 2003).

Nuestro grupo ha realizado estudios que han conducido a la obtención de extractos y metabolitos secundarios de origen vegetal con diversidad estructural y con efectos sobre algunas plagas de insectos, hongos y malezas (Alarcon *et al.*, 2008; Céspedes *et al.*, 2001; 2004; 2005a; 2005b; 2006a; 2006b; 2008; Kubo, *et al.*, 2003a; 2003b). Por ejemplo hemos determinado que limonoides (nor-triterpenos) inhiben de manera específica las enzimas de la cadena transportadora de electrones que catalizan las reacciones luminosas de la fotosíntesis (Céspedes *et al.*, 1998; 1999); además, poseen una interesante actividad insecticida e inhiben el crecimiento y desarrollo de insectos plaga como *S. frugiperda* (Céspedes, *et al.*, 2000) y sobre otras plagas de insectos (Champagne, *et al.*, 1989; 1992); además desde especies de Maitenes (Celastráceas) hemos aislado agarofuranos con importante acción IGR e inhibidora de acetilcolinesterasa (Calderon *et al.*, 2001; Céspedes *et al.*, 2001; Alarcón *et al.*, 2008). El nivel de actividad demostrado por estos metabolitos secundarios es significativo y permite desarrollar este tipo de trabajo con proyecciones muy promisorias.

Existe un cuerpo de literatura bastante considerable sobre los efectos antifúngicos, antialimentarios y/o deterrentes de fenilpropanoides, flavonoides y fenoles en general, mono, di, triterpenos y aceites esenciales que poseen actividad reguladora del crecimiento de insectos (Isman, 2000; Urzúa *et al.*, 2010). Como por ejemplo efectos fitohormonales (fitoecdisteroides) o bloqueadores de los procesos de muda (Torres *et al.*, 2003; Odínokov *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; Ortego *et al.*, 2001; Mazoir *et al.*, 2008). Sumado a lo anterior existe bastante evidencia de la existencia de diterpenos y triterpenos en diferentes especies de plantas endémicas e introducidas que

crecen en diferentes regiones del norte, centro y sur de Chile (Muñoz y Fajardo, 2005) y en Latinoamérica y el mundo (Burillo y Gonzalez-Coloma, 2009; Isman 2001; Parmar y Walia 2001).

Sobre la base de lo anterior, es que la química de productos naturales ofrece una amplia gama de fuentes y alternativas para encontrar agentes agroquímicos de origen natural, menos tóxicos y biodegradables, con efectos inhibitorios específicos.

Para llevar a cabo este planteamiento nuestro grupo ha seleccionado algunas especies vegetales endémicas de Chile, que han demostrado actividad fungicida y/o antiherbivoría durante la realización de una serie de observaciones de campo y "screening" preliminares. De las cuales estamos aislando metabolitos secundarios para realizar las actividades biológicas mencionadas y posteriormente hacer hemisíntesis y con ello estudiar la relación estructura-actividad. Hasta ahora las especies vegetales seleccionadas pertenecen a las familias Celastraceae: *Maytenus spp*; Scrophulariaceae: *Calceolaria spp* y Rhamnaceae: *Condalia spp.*, *Talguenea spp*, *Discaria spp.* y *Colletia spp.*

Según el grado de inhibición que muestre cada extracto, se realiza aislamiento y purificación por cromatografía de sus principales componentes y luego ensayos insecticidas más profundos, lo que implica un seguimiento del ciclo de vida de cada insecto para ver mortalidad, inhibición del crecimiento de primeros estadíos, ecdisis, pupación, emergencia, deformidades, oviposición efecto alado, inhibición de actividad alimentaria e insecticida de los productos naturales obtenidos.

Si se observa algún bloqueo en los procesos de metamorfosis que inducen inhibición del crecimiento, se realiza una evaluación de inhibición de enzimas para determinar sus sitios y mecanismos de acción. Para localizar el sitio de interacción del producto natural, se estudia el efecto en las enzimas acetilcolinesterasa, melanina-oxidasa, tirosinasa y glucosa-oxidasa, respectivamente. Una vez identificada la enzima que interacciona con el producto natural, se efectúan estudios cinéticos, con el objeto de dilucidar si la inhibición es acompetitiva, competitiva o no-competitiva (Céspedes, *et al.*, 2006b; 2008; Kubo, 1993; Kubo y Kinst-Hori 1998a; 1998b, 1999; Kubo, *et al.*, 2000; 2003a; 2003b; 2008).

### Palabras finales

Uno de los focos principales de nuestro grupo y otros del País e Iberoamerica es la caracterización de nuevas sustancias de origen natural con actividad agroquímica. En este punto se puede enriquecer el conocimiento sobre los blancos y los modos de acción de sustancias naturales aisladas de fuentes naturales con una potencial actividad agroquímica.

Como ya se mencionó, entre las principales estrategias para el control de insectos plaga están el control biológico y el uso de biopesticidas, como por ejemplo los reguladores de crecimiento de insectos de origen botánico. En este contexto, estamos examinando el efecto de metabolitos aislados de plantas seleccionadas desde las familias mencionadas, como reguladores de crecimiento de insectos plaga, desde estas plantas endémicas chilenas y así preparar una importante base de datos y una librería de compuestos activos de origen natural que tengan efectos sobre pestes que afecten a la agricultura chilena.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento de Proyectos FONDECYT #1101003 y de Dirección de Investigación de la Universidad del Bio Bio # 091909 1/R.

### Referencias

- Alarcon J, Astudillo L, Gutierrez M. 2008. Inhibition of acetylcholinesterase activity by dihydro- $\beta$ -agarofuran sesquiterpenes isolated from Chilean Celastraceae. *Z Naturforsch* 63: 853 - 856.
- Akthar Y, Yeoung YR, Isman MB. 2008. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. *Phytochemistry Rev* 7: 77 - 88.
- Benner JP. 1993. Pesticidal compounds from higher plants. *Pestic Sci* 39: 95 - 102.
- Burillo J, González-Coloma A. 2009. **Insecticidas y repelentes de insectos de origen natural**. Proyecto Cyted IV.13. CITA-DCTU, Aragón, España, 220 pp.
- Calderón JS, Céspedes CL, Rosas R, Gómez-Garibay F, Salazar JR, Lina L, Aranda E. 2001. Acetylcholinesterase and Insect Growth Inhibitory Activities of *Gutierrezia microcephala* on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. *Z Naturforsch* 56: 382 - 394

- Casida JE, Quistad GB. 1998. Golden age of insecticide research: Past, present, or future?. **Annu Rev Entomol** 43: 1 - 16.
- Céspedes CL, Calderón JS, King-Díaz B, Lotina-Hennsen B. 1998. Phytochemical and biochemical characterization of epimeric photogedunin derivatives. Their different sites of interaction on redox electron transport carrier of *Spinacea oleracea* L. chloroplasts. **J Agric Food Chem** 46: 2810 - 2816.
- Céspedes CL, Calderón JS, Gómez-Garibay F, Segura R, King-Díaz B, Lotina-Hennsen B. 1999. Phytochemical properties of limonoids isolated from *Cedrela ciliolata*. **J Chem Ecol** 25: 2665 - 2676.
- Céspedes CL, Calderón JS, Lina L, Aranda E. 2000. Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). **J Agric Food Chem** 48: 1903 - 1908.
- Céspedes CL, Alarcón J, Aranda E, Becerra J, Silva M. 2001. Insect growth regulator and insecticidal activity of  $\beta$ -dihydroagarofurans from *Maytenus* spp. **Z Naturforsch** 56: 603 - 613.
- Céspedes CL, Torres P, Marín JC, Arciniegas A, Romo de Vivar A, Perez-Castorena AL, Aranda E. 2004. Insect growth inhibition by tocotrienols and hydroquinones from *Roldana barba-johannis*. **Phytochemistry** 65: 1963 - 1975.
- Céspedes CL, Salazar JR, Martínez M, Aranda E. 2005a. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. **Phytochemistry** 66: 2481 - 2493.
- Céspedes CL, Uchoa A, Calderón JS. 2005b. Plant regulatory properties of natural sesquiterpene lactones from *Parthenium* weedy species and analogous derivatives. A comparative study. **Biopestic Int** 1: 142 - 164.
- Céspedes CL, Marin JC, Domínguez M, Salazar JR, Vasquez M, Avila JG, Serrato B, Torres P. 2006a. **Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora**. In: *Lead Molecules from natural products: Discovery and New Trends*. Mahmud T.H. Khan, Arjumand Ather, Eds. Advances in Phytomedicine Series, Vol II. Elsevier, The Netherlands, pp. 373 - 410.
- Céspedes CL, Avila JG, Marin JC, Domínguez M, Torres P, Aranda E. 2006b. **Natural compounds as antioxidant and moulting inhibitors can play a role as a model for search of new botanical pesticides**. In: *Naturally occurring bioactive compounds*. Cecilia Carpinella, Mahendra Rai. Eds. Advances in Phytomedicine Series, Vol III. Elsevier, The Netherlands, pp. 1 - 27.
- Céspedes CL, Alarcón J, Águila S, Torres P, Aqueveque L, Becerra J, Silva M. 2008. Antifeedant, Insect Growth Regulatory and Antioxidant Activities of MeOH Extracts from Chilean Podocarpaceae. **Biopestic Int** 4: 35 - 51.
- Champagne DE, Isman MB, Towers GHN. 1989. **Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae**. En: *Insecticides of Plant Origin*. (Arnason, J.T., Phylogene, B.J.R., Morand P., Eds.). ACS Symp. Ser. 387, Washington D.C., pp. 95 - 109.
- Champagne DE, Koul O, Isman MB, Scudder GGE, Towers GHN. 1992. Biological activity of limonoids from the Rutales. **Phytochemistry** 31: 377 - 394.
- Chiffelle I, Huerta A, Lizana D. 2009. Physical and chemical characterization of *Melia azedarach* L. fruit and leaf for use as botanical insecticide. **Chil J Agric Res** 69: 38 - 45.
- Clemente S, Mareggiani G, Broussalis A, Martino V, Ferraro G. 2003. Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. **Bol San Veg Plagas** 29: 421 - 426.
- Collavino M, Pelicano A, Gimenez RA. 2006. Actividad insecticida de *Ricinus communis* L. sobre *Plodia interpunctella* HBN (Lepidoptera:phycitinae). **Rev Fac Cs Agric UNCuyo** 38: 13 - 18.
- Cremlyn RJ. 1990. **Agrochemicals preparation and mode of action**. John-Wiley and Sons, Chichester, England, pp. 37 - 51, 217 - 270 y 341 - 360.
- Crowley P, Fischer H, Devonshire A. 1998. **Feed the world**. Chemistry in Britain, 25 - 28.
- Duke SO, Abbas HK. 1995. **Natural products with potential use as herbicides**. En: *Allelopathy, Organisms, Processes and Applications*. (M. Inderjit, M. Dakshini y F.A.Einhellig Eds.). ACS Symposium Series 582: Washington, D.C., pp. 348 - 362.

- Einhellig FA. 1995. **Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy.** En: *Allelopathy, Organisms, Processes and Applications*. (M. Inderjit, M. Dakshini y F.A.Einhellig, Eds.). ACS Symposium Series 582: Washington, D.C., pp. 96 - 116.
- Eisner T, Meinwald J, Hildebrand J. 2004. Bugs, behavior, and biomolecules: The naturalist's guide to the future. **Bull Am Acad** 58: 26 - 31.
- Feyereisen R. 1999. Insect P450 Enzymes. **Annu Rev Entomol** 44: 507 - 533.
- Ghisalberti E. 1993. **Detection and isolation of bioactive natural products.** En: *Bioactive Natural Products. Detection, Isolation and Structural Determination*. (S. Colegate, R. Molyneux, Eds.). CRC Press, Boca Raton, pp. 9 - 57.
- Hedin P, Hollingworth RM. 1997. **New applications for phytochemical pest control agents.** En: *Phytochemicals for pest control*. P. A. Hedin et al., Eds. ACS Symposium Series 658 Washington, D.C., pp. 1 - 12.
- Hincapie CA, Monzalve Z, Parada K, Lamilla C, Alarcon J, Céspedes CL. 2011. Insect growth activity of *Blechnum chilense*. **Nat Prod Commun** 6: on line.
- Isman MB. 2000. Plant essential oil for pest disease management. **Crop Protect** 19: 603 - 608.
- Isman MB. 2001. **Biopesticides based on phytochemicals.** En: *Phytochemical Biopesticides*. (O. Koul, GS. Dhaliwal, Eds.). Amsterdam: Harwood Acad. Cap. 1: 1 - 12.
- Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annu Rev Entomol** 51: 45 - 66.
- Isman MB. 2008. Botanical Insecticides, for richer, for poorer. **Pest Manag Sci** 64: 8 - 11.
- Kogan M. 1998. Integrative Pest Management: Historical Perspectives and Contemporary Developments. **Annu Rev Entomol** 43: 243 - 270.
- Kubo I, Kinoshita H, Kubo Y, Yamagiwa Y, Kamikawa T, Haraguchi H. 2000. Molecular design of antibrowning agents. **J Agric Food Chem** 48: 1393 - 1399.
- Kubo I, Kinoshita H, Nihei KI, Soria F, Takasaki M, Calderon JS, Céspedes CL. 2003a. Tyrosinase inhibitors from Galls of *Rhus javanica* leaves and their effects on insects. **Z Naturforsch** 58: 719 - 725.
- Kubo I, Chen QX, Nihei KI, Calderon JS, Céspedes CL. 2003b. Tyrosinase inhibition kinetics of anisic acid. **Z Naturforsch** 58: 713 - 718.
- Kubo I. 2006. **New concept to search for alternate insect control agents from plants.** In *Naturally Occurring Bioactive Compounds: Advances in Phytomedicine Vol. 2*. (M. Rai, and M. C. Carpinella, eds.) Elsevier, Amsterdam, pp. 61 - 80.
- Kubo I, Hori I, Nihei KI, Satooka H, Céspedes CL, Calderón JS. 2008. Insect Growth Inhibitory Activity and Cytotoxicity of Tannic Acid from *Gallae rhois*. **Biopestic Int** 4: 6 - 14.
- Lannacone J, Lamas G. 2003. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. **Entomotropica** 18: 95 - 105.
- Lee HS. 2002. Tyrosinase Inhibitors of *Pulsatilla cernua* Root-Derived Materials. **J Agric Food Chem** 50: 1400 - 1403.
- Macias FA, Oliveros-Bastidas A, Marin D, Carrera C, Chinchilla N, Molinillo JMG. 2008. Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. **Phytochem Rev** 7: 179 - 194.
- Mazoir N, Benharref A, Bailen M, Reina M, Gonzalez-Coloma A. 2008. Bioactive triterpene derivatives from latex of two *Euphorbia* species. **Phytochemistry** 69: 1328 - 1338.
- Meinwald J. 2002. **Sex, violence and drugs in the world of insects: A chemist's view.** En: *Science on the frontiers*. Research Corporation Eds., pp. 80 - 92.
- Mullin ChA, Chyb S, Eichenseer H, Hollister B, Frazier JL. 1994. Neuroreceptor mechanisms in insect gustation: A pharmacological approach. **J Insect Physiol** 40: 913 - 931.
- Muñoz O, Fajardo V. 2005. **Flora de Chile**. Ed. Punta Angeles, Univ. de Playa Ancha. Santiago de Chile. 226 pp.
- Odinokov VN, Galyautdinov IV, Nedopekin DV, Khalilov LM, Shashkov AS, Kachala VV, Dinan L, Lafont R. 2002. Phytoecdysteroids from the juice of *Serratula coronata* L. (Asteraceae). *Insect Biochem. Mol Biol* 32: 161 - 165.
- Ortego F, Novillo C, Sanchez-Serrano JJ, Castañera P. 2001. Physiological response of Colorado

- potato beetle and beet armyworm larvae to depletion of wound-inducible proteinase inhibitors in transgenic potato plants. **J Insect Physiol** 47: 1291 - 1300.
- Otálvaro F, Nanclares J, Vasquez LE, Quiñones W, Echeverri F, Arango R, Schneider B. 2007. Phenalenone-type compounds from *Musa acuminata* var. "Yangambi km 5" (AAA) and their activity against *Mycosphaerella fijiensis*. **J Nat Prod** 70: 887 - 890.
- Palacios SM, Bertoni A, Rossi Y, Santander R, Urzua A. 2009. Insecticidal activity of essential oil from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly, *Musca domestica* (L.). **Parasitol Res** 106: 207 - 212.
- Parmar BS, Walia S. 2001. **Prospects and problems of phytochemical biopesticides**. En: *Phytochemical Biopesticides*. (O. Koul, GS. Dhaliwal, Eds.). Amsterdam: Harwood Acad. Cap. 9: 192 - 223.
- Pillmoor JB, Wright K, Terr SA. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. **Pestic Sci** 39: 131 - 140.
- Plettner E. 2002. Insect pheromone olfaction: new targets for the design of species-selective pest control agents. **Curr Med Chem** 9: 1075 - 1085.
- Rodgers PB. 1993. Potential of biopesticides in agriculture. **Pestic Sci** 39: 117 - 119.
- Rossetti MR, Defagó MT, Carpinella MC, Palacios SM, Valladares G. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). **Rev Soc Entomol Argentina** 67: 115 - 125.
- Saxena RC. 1986. Antifeedants in Tropical Pest Management. **Insect Sci Applic** 8: 731 - 736.
- Seigler DS. 1998. **Plant Secondary Metabolism**. Kluwer Ac. Press. Boston. 759 pp.
- Simmonds MS. 2003. Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge. **Phytochemistry** 64: 21 - 30.
- Stark J, Bonacum J, Remsen J, DeSalle R. 1999. The evolution and development of dipteran WingVeis: A Systematic Approach. **Annu Rev Entomol** 44: 97 - 129.
- Tallarico M, Coutinho MB, Vieira PC. 2007. Biología Química: Uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Quim Nova** 30: 1446 - 1455.
- Torres P, Avila JG, Romo de Vivar A, Garcia AM, Marin JC, Aranda E, Céspedes CL. 2003. Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca periculosa*. **Phytochemistry** 64: 463 - 473.
- Urzúa A, Santander R, Echeverria J, Villalobos C, Palacios SM, Rossi Y. 2010. Insecticidal properties of *Peumus boldus* Mol. Essential oil on the house fly, *Musca domestica* L. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 9: 465 - 469.
- Valladares G, Garbin L, Defago MT, Carpinella MC, Palacios SM. 2003. Actividad antialimentaria e insecticida de un extracto de hojas senescentes de *Melia azedarach* (Meliaceae). **Rev Soc Entomol Argentina** 62: 53 - 61.
- Van Dreische RE, Nunn C, Kreke N, Goldstein B, Benson J. 2003. Laboratory and field host preferences of introduced *Cotesia spp* parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) between native and invasive *Pieris* Butterflies. **Biol Control** 28: 214 - 221.
- Zlotkin E. 1999. The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. **Annu Rev Entomol** 44: 429 - 455.