

Tendencias verdes en la agricultura para el manejo y control de plagas

Green tendencies in the agriculture for the handling and control of plagues

Murillo Arango, W. ;^I Salazar, D.F.^{II}

Resumen. Se conoce como revolución verde aquella etapa de la agricultura que se caracterizó por el desarrollo de variedades de alto rendimiento, incremento en los niveles de la productividad de diversos y el mejoramiento de sistemas de riego y almacenamiento de agua. Estos logros estuvieron asociados con el uso extensivo de químicos agrícolas como los fertilizantes y pesticidas que terminaron por ocasionar serios problemas ambientales y de salud pública. Los problemas mencionados han llevado a reconsiderar el paradigma actual del empleo de pesticidas de síntesis orientado hacia la búsqueda de una producción más limpia basada en el uso de estrategias más sostenibles como la aplicación de productos botánicos y agentes de control biológico. Esta alternativa se fundamenta en aspectos tales como baja toxicidad, alta diversidad estructural, baja persistencia y provenir de fuentes renovables. Motivando así la búsqueda de moléculas bioactivas de diversas fuentes naturales, en especial de plantas y el desarrollo de biocontroladores que han obligado a realizar revisiones y ajustes en la normatividad sobre el uso de pesticidas.

Estas estrategias han cumplido un importante papel en los sistemas de producción orgánicos y vienen aumentando su participación en los sistemas de producción agrícolas tradicionales. Lo anterior, motivado por el incremento en las exigencias para la comercialización de productos agrícolas en los mercados internacionales, que presiona la competencia por productos limpios y demanda el desarrollo de productos verdes y su incorporación en los programas de manejo integrado de plagas a nivel mundial como estrategia para el fortalecimiento de la competitividad de los países en desarrollo.

Palabras clave: Biopesticidas, productos naturales, Manejo de plagas, Colombia.

I Grupo de investigación GIPRONUT Facultad de Ciencias Universidad del Tolima. wmurillo@ut.edu.co
II Docente Facultad de Ciencias Universidad del Tolima. dfsalazar@ut.edu.co

Abstract. It is called green revolution in agriculture that stage was characterized by the development of high yielding varieties, increased levels of productivity and improvement of various irrigation and water storage. These achievements are associated with extensive use of agrochemicals such as fertilizers and pesticides that eventually cause serious environmental and public health problem. Issues like these have led to reconsider the current paradigm of the use of synthetic pesticides oriented towards finding cleaner production based on the use of more sustainable strategies, based on the application of botanicals and other biological control agents. This alternative is based on aspects such as its low toxicity, greater structural diversity, come from renewable sources and short life in the environment, motivating the search for bioactive molecules from various natural sources; especially plants and development have forced biocontrol revisions and adjustments to the regulations on the use of pesticides. These strategies have taken an important role in organic production systems have been increasing their participation in traditional agricultural production systems. This motivated by increased demands for marketing agricultural products in international markets that put pressure for clean products competition and force the development of green products and their incorporation into programs integrated pest management worldwide and specially to the competitiveness for developing countries

Key words: Biopesticides, natural products, pest management, Colombia

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la historia de la agricultura moderna, uno de los periodos más representativos en cuanto al incremento de la productividad de los sistemas agrícolas está enmarcado dentro de lo que se conoce como la revolución verde. El éxito de este periodo está asociado con el uso de fertilizantes y de compuestos de síntesis usados para el control de plagas y enfermedades Dayan, Cantrell, & Duke (2009a); sin embargo, el uso masivo de este tipo de compuestos ha contribuido al aumento de la polución ambiental del agua, suelo y aire (Travisi & Nijkamp, 2008), al aumento en los niveles de toxicidad, al debilitamiento de los sistemas de protección natural por el impacto negativo sobre los organismos benéficos (Förster *et al.*, 2006); (Soares, 2009) y también sobre la salud del ser humano (Petrelli *et al.*, (2003); (Mantonavi, 2002) ha obligado a entidades de control como la EPA a restringir el uso de ciertos pesticidas y realizar revisiones periódicas de la toxicidad de muchos otros. (Devine *et al.*, 2008). Estos inconvenientes han fomentado la generación de alternativas encaminadas al mejoramiento de los programas de manejo integrado plagas y un posible cambio en el paradigma de la agricultura convencional hacia una tendencia que algunos autores consideran como una segunda revolución verde (Herder *et al.*, 2010). Una de las estrategias de mitigación está relacionada con el desarrollo de agroquímicos verdes,

los cuales involucran el uso de biopesticidas (productos naturales bioactivos y agentes microbianos de control) y los pesticidas de síntesis de nueva generación, dentro de los que se encuentran los piretroides modernos, neonicotinoides y spinosads. (Tomizawa *et al.*, 2009). No obstante, el número de productos que cumplen con las características apropiadas es reducido (Dayan *et al.*, 2009).

Esta pequeña revisión no pretende abarcar de manera exhaustiva la literatura científica sobre el tema de las tendencias verdes y el uso de los biopesticidas en la agricultura, sino más bien dar una mirada global sobre el tema de la protección de cultivos, basada en el desarrollo de agentes para el control de plagas y con especial atención en aquellos productos que han logrado tener un impacto favorable en el mercado. Algunos de estos son los derivados del neem, piretro, algunos aceites esenciales y los alcaloides del tabaco, especialmente la nicotina. Finalmente se hace una aproximación sobre estos aspectos en Colombia.

2. LA QUÍMICA VERDE EN LA AGRICULTURA

Las tendencias verdes están impulsando tecnologías que buscan la minimización del impacto ambiental de los procesos de transformación (Anastas & Williamson, 1996) con el ánimo de que se puedan implementar alternativas encaminadas hacia un desarrollo sostenible. Aspectos relacionados con la misión de la química verde se encuentran tratados con más detalle disponible en el sitio web del Green Chemistry Institute (<http://www.acs.org/greenchemistry>). La química verde se estructura en 12 principios (Warner *et al.*, 2004) los cuales son citados a continuación por su alta influencia en el contexto de las nuevas tendencias de la agricultura.

1. Es mejor prevenir la formación de residuos, que tratar de limpiar tras su formación.
2. Los métodos sintéticos deben ser diseñados para conseguir la máxima incorporación en el producto final de todas las materias usadas en el proceso.
3. En cuanto sea posible, se deben diseñar metodologías sintéticas para el uso y la generación de sustancias con escasa toxicidad al ser humano y al ambiente.
4. Se deben diseñar productos químicos, que preservando la eficacia de su función, presenten una toxicidad escasa.
5. Las sustancias auxiliares (disolventes, agentes de separación, etc.) deben resultar innecesarias en lo posible y, cuanto menos deben ser inocuas.

6. Las necesidades energéticas deben ser consideradas en relación a sus impactos ambientales y económicos. Los métodos sintéticos deben ser llevados a condiciones de temperatura y presión normales
7. Las materias de partida deben ser renovables y no agotable, en la medida que esto resulte técnica y económicamente viable.
8. La formación innecesaria de derivados (grupos de bloqueo, protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos) debe ser evitada en cuanto sea posible.
9. Se hará uso de catalizadores (tan selectivos como sea posible) ya que son superiores a los estequiométricos.
10. Los productos químicos han de ser diseñados de manera que, al final de su función, no persistan en el ambiente, sino que se fragmenten en productos de degradación inerte.
11. Se deben desarrollar las metodologías analíticas que permitan el monitoreo a tiempo real durante el proceso y el control previo a la formación de sustancias peligrosas.
12. Se elegirán las sustancias en los procesos químicos de manera que resulte mínima la posibilidad de que ocurran accidentes.

Una mirada global de estos 12 principios nos orienta sobre la necesidad real de dirigir los esfuerzos a la disminución en el uso de pesticidas y fertilizantes de síntesis, lo cual se podría lograr mediante la inclusión progresiva de productos naturales bioactivos que se puedan usar en el desarrollo de agroquímicos verdes. Hay tres caminos mediante los cuales la química verde se conecta con la agricultura sostenible; mediante el consumo de los productos agrícolas, como un recurso de tecnologías de remediación y mediante la producción de insumos (OBrien et al., 2009). Frente a este último aspecto, los productos naturales biológicamente activos presentan ventajas como su baja toxicidad hacia organismos no blanco, alta diversidad estructural y alta biodegradabilidad. Sin embargo, hay que tener presente las desventajas asociadas a su uso tales como el limitado número de productos en el mercado, la insuficiente actividad biológica de algunos y su baja persistencia en condiciones de campo, lo cual puede limitar su uso (Hüter, 2011). También es indispensable tener presente que la extracción de los principios activos esté acorde con los postulados de la química verde en cuanto al uso de solventes inocuos, tales como los líquidos iónicos y los fluidos supercríticos (Rogers & Seddon, 2003); (Anastas & Kirchoff 2002). Aunque este

tipo de desarrollos tecnológicos todavía es limitado por su costo, se debe procurar el uso de manera eficiente las metodologías convencionales para la obtención de principios activos que se basan generalmente en la extracción con solventes orgánicos. Es importante tratar de disminuir su uso e incrementar la eficiencia de los procesos para su recuperación de tal forma que se disminuya el factor de emisión o factor E (Poliakoff *et al.*, 2002); (Sheldon, 2007) y se contribuya de manera global con la reducción del impacto ambiental.

3. MISCELÁNEA DE PRODUCTOS USADOS EN EL CONTROL DE PLAGAS EN EL CONTEXTO DE LOS BIOPESTICIDAS

Según la EPA, un biopesticida es un tipo de pesticida derivado de materiales naturales tales como animales, plantas, bacterias y ciertos minerales. Se clasifican en tres grandes grupos: pesticidas microbiales, pesticidas bioquímicos y agentes de protección incorporados en plantas. (www.epa.gov/opprd001/registrationmanual/chapter3.html)

De acuerdo con las anteriores consideraciones, dentro de los pesticidas microbiales se contemplan los provenientes de microorganismos procariotes, eucariotes y virus. Los bioquímicos incluyen aquellos de ocurrencia natural o sus equivalentes producidos por síntesis, también cobijan los semioquímicos (feromonas de insectos y kairomonas), productos vegetales y reguladores del crecimiento de insectos, enzimas, repelentes y atrayentes naturales.

Finalmente, los agentes de protección incorporados en plantas involucran los compuestos pesticidas producidos por las plantas (fitoalexinas) y aquellos que se logran por la transformación genética por biotecnología como el caso de la incorporación de proteínas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*.

En cuanto a las fuentes de productos naturales que se han considerado están las plantas, microorganismos (hongos, bacterias y actinomicetos), organismos marinos (algas, hongos acuáticos, esponjas) y sustancias defensivas provenientes de insectos y otros artrópodos (Hüter, 2011); (Duke *et al.*, 2010)

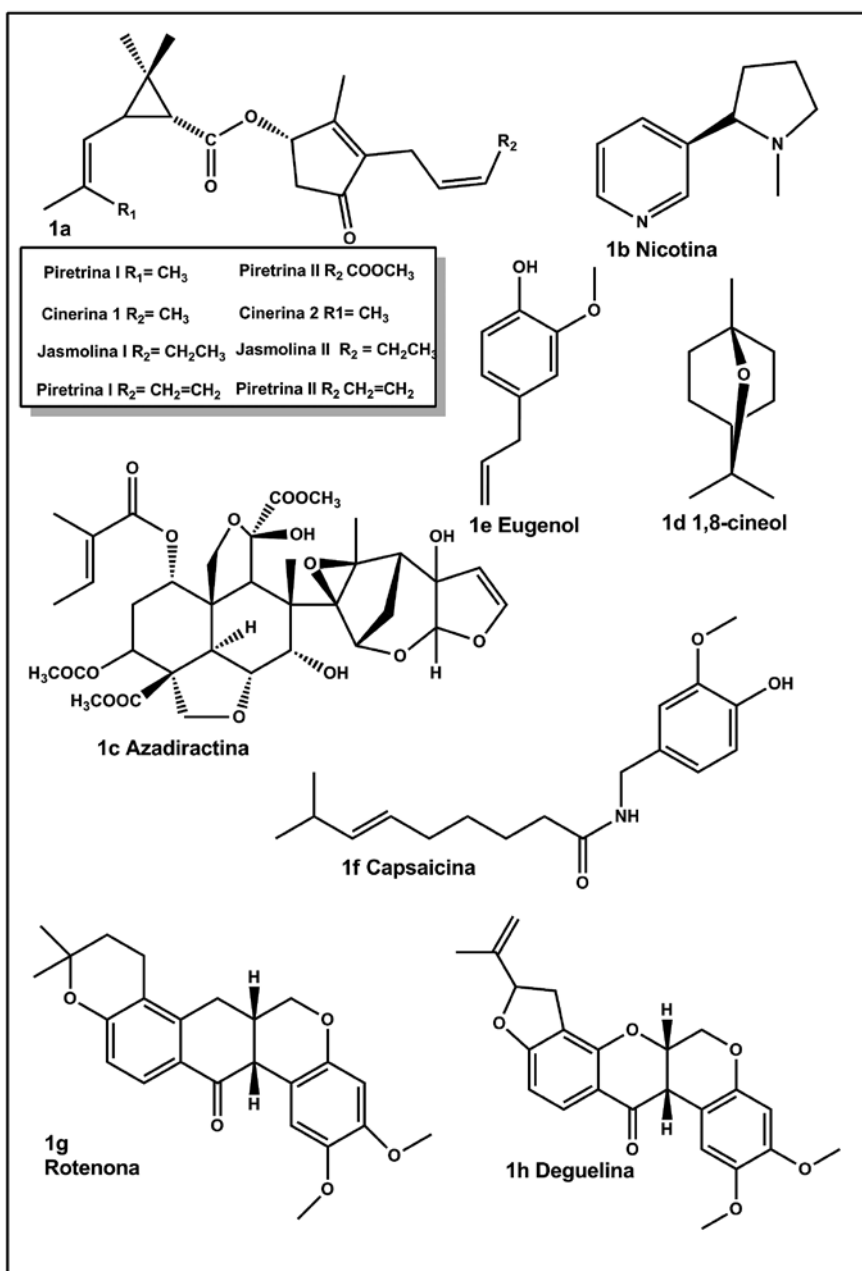


Figura 1. Moléculas naturales con actividad insecticida de importancia comercial citadas en el texto

3.1 Piretrinas

Algunos de los productos naturales más exitosos y con aplicación a nivel de campo son las piretrinas del piretro (figura 1a) que se constituyen como buenos insecticidas de contacto desde tiempos ancestrales (Koul y Walia, 2009). El piretro, por ejemplo se obtiene de cultivos de la planta *Chrysanthemum cinerariaefolium*, planta de la familia Compositaceae, que se producen en Kenia, Irán, Ecuador, Japón y Nueva Guinea. El extracto se obtiene a partir de las flores secas del crisantemo y los compuestos con actividad reconocida son seis ésteres formados por la combinación de los ácidos crisantémico y los alcoholes de piretrolona, cinerolona y jasmolona (Casida, 1980). Su aplicación se limita fundamentalmente al control de plagas domésticas y de productos almacenados debido a que se degradan fácilmente por la luz y el calor (Chen y Casida, 1969). Sin embargo, a partir de ellos se desarrollaron una serie de derivados sintéticos conocidos como piretroides, cuyas ventas corresponden a más de un 25% de las ventas totales de insecticidas en el mundo (Gamon *et al.*, 1981).

3.2 Productos derivados de tabaco (*Nicotiana tabacum*)

Por otro lado, la nicotina (figura 1b) es un metabolito que ha sido reportado en quince diferentes especies del género *Nicotiana* y que hace parte de un grupo de alcaloides entre los que se mencionan la anabasina, 1-nornicotina y nicotimina (Soloway, 1976). En el tabaco, el contenido de nicotina puede variar entre 0.3 y 3.0 %, aunque en algunas variedades puede alcanzar el 10%, aunque no se encuentra en forma libre sino combinada con los ácidos de la misma planta. La nicotina actúa como insecticida de contacto y se ha formulado como sulfato de nicotina, polvo de tabaco y en preparaciones jabonosas. Su mayor actividad se ha observado en las preparaciones jabonosas, sin embargo, son este tipo de preparados los que presentan más altos niveles de toxicidad a mamíferos ($LD_{50} = 50 \text{ mg/kg}$) y hacen que la nicotina considerada como altamente dañina por la organización mundial de la salud (Casanova *et al.*, 2002), hecho que ha limitado su uso.

La toxicidad es ocasionada por la alta afinidad de la nicotina sobre los receptores nicotínicos de acetilcolina en mamíferos y menor afinidad por los respectivos receptores de los insectos, mostrando de esta manera una baja potencia como insecticida. Este último aspecto se ha estudiado en diferentes publicaciones científicas (Tomizawa *et al.* 2000, 2003; Ohno *et al.* 2009) y ha impulsado el desarrollo de insecticidas de síntesis como los neonicotinoides los cuales presentan una menor toxicidad en mamíferos y alta potencia insecticida (Duke, 1990; Chang *et al.*, 1995; Miceli *et al.*, 2005).

Pese a lo anterior, no se descarta la posibilidad de potenciar el uso de nicotina en formulaciones que disminuyan los inconvenientes atribuidos a los preparados convencionales de los extractos de tabaco.

Adicionalmente se ha comprobado que los ésteres de sacarosa presentes en la superficie de las hojas de la planta de tabaco, pueden funcionar como potentes insecticidas (Simonoska *et al.*, 2006). Algunos de estos compuestos se han sintetizado y probado como insecticidas seguros, a diferencia de la nicotina.

Algunos de los esfuerzos realizados en los últimos años con el ánimo de devolver a la nicotina su uso como insecticida botánico, se han realizado básicamente en dos estudios por (Casanova *et al.*, 2002, 2005) determinándose el efecto de la longitud de cadena de diferentes ácidos grasos tanto saturados como insaturados en el proceso de encapsulación de nicotina en la fase oleosa, actividad biológica, así como en su estabilidad coloidal medida en función del tamaño de partícula obtenida para cada uno de los sistemas evaluados.

Un estudio mas reciente sobre este último aspecto fué realizado por Araque y (Pelaéz, 2010), en el que se determinó la influencia de la nicotina encapsulada en la fase oleosa (ácido oleico-nicotina estabilizado con tween 80) y la nicotina en fase acuosa. Productos derivados del tabaco también se han formulado en mezclas con otros productos naturales, en busca de obtener sinergia en su actividad plaguicida. Tal es el caso de la patente 5,602,261 publicada por (Nagasampagi *et al.*, 1997), donde se describe, como resultado de la invención, una formulación con actividad sinérgica de una mezcla de aceite de semillas de neem y extracto de polvo de tabaco en el control de larvas de *Spodoptera litura*.

Otros trabajos en los últimos 10 años, que involucran extractos de tabaco, neem y una variedad de aceites esenciales como parte de la composición de varios productos para el control de plagas y que son objeto de patentes se presentan a continuación.

Formulación pesticida que contiene azadiractina (no menos de 300 ppm) y salanina en un producto formulado con aceite de neem (Ramarethinam, 2005), Composición sinérgica y residual conteniendo aceites esenciales de plantas con inhibidores de enzimas (Bessette *et al.*, 2008); Composición pesticida Sinérgica y residual conteniendo aceites esenciales de diferentes plantas Bessette *et al.* (2009); Biospenticidas relacionados con recursos naturales (Coats *et al.*, 2001); Repelentes bioracionales obtenidos de terpenoides para su uso contra artrópodos (Coats *et al.*, 2009); Repe-

lentes naturales de insectos (Baker *et al.*, 2008); Limoneno y otros metabolitos de la ruta del geranil pirofosfato para el control de insectos en plantas (Meyer *et al.*, 2001); Composición pesticida de aceites esenciales para el control de escarabajos y otras plagas de productos almacenados (Bessette *et al.*, 2005); Proceso para una formulación efectiva en el control de mosquitos vectores de la malaria, basada en mezclas de plantas del género *Foeniculum* (Tripathi *et al.*, 2003); Insecticida miscible en agua conteniendo un coctel sinérgico de alcaloides (Wu *et al.*, 2002); Pesticida natural que contiene aceites sinérgicos volátiles y no volátiles (Marks *et al.*, 2008).

3.3 Productos derivados de neem (*Azadirachta indica*) para el control de plagas

La notable actividad de los compuestos presentes en el neem, ha inspirado la búsqueda de otros limonoides que pudiesen igualar o mejorar la actividad antialimentaria lograda con la azadiractina (figura 1c). Al respecto, se pueden mencionar algunos estudios que reportan el hallazgo de nuevas y complejas estructuras de limonoides como aquellos que presentan un arreglo tipo pracgmalina como los Khayanolidos A, B y C (Nakatani *et al.*, 2001), al igual que seis compuestos denominados tabularinas A-E (Nakatani *et al.*, 2004), y otros que poseen los anillos B y D de los seco-limonoides, Ceramicina A y Walsogina A (Mohamad *et al.*, 2008) presentes en la corteza de las especies de la familia *Meliaceae* *Khaya senegalensis*, *Chukrasia tabularis* y *Chisocheton ceramicos*.

Existe una variedad de presentaciones comerciales de neem, gran parte de ellas en forma de concentrados emulsionables para aplicaciones como insecticida agrícola y otras como presentaciones en polvo o cremas, que se han usado en aplicaciones farmacéuticas y en el control de plagas en animales (Boeke *et al.*, 2004). Estos productos están basados en el aceite de su semilla o en los extractos alcohólicos de las mismas. Algunas de las presentaciones comerciales en los Estados Unidos son: Morgosan-O, Turplex, Azatin, neemix, benefit entre otros (Kumar & Parmar, 1999).

En numerosas publicaciones se han revisado los efectos insecticidas tanto de los extractos, como de los limonoides contenidos en el neem y según (Morgan, 2009), la azadiractina ha sido probada sobre más de 600 especies de insectos, encontrándose activa sobre unas 500 especies que han resultado sensibles en un rango de aplicación de entre 1 y 10 ppm.

Estudios de los últimos 20 años han mostrado los efectos de los extractos orgánicos de diferentes polaridades obtenidos de varias partes de la planta, pero en especial

de semillas y hojas al igual que formulados a base de los anteriores, provados sobre diferentes insectos plaga, tales como *Peridroma saucia*, *Oncopeltus fasciatus* (Isman *et al.*, 1990) y *Helicoverpa armigera* en varios cultivos, incluyendo el algodón (Singh *et al.*, 1997); (Ma *et al.*, 2008); *Hyllobius abietis* L., en cultivos maderables de coníferas como el pino (Thacker *et al.*, 2003). Se ha reportado efectividad en el control de *Cnaphalocrocis medinalis*, plaga del cultivo de arroz (Senthil *et al.*, 2006); (Dash *et al.*, 2007). También se ha evaluado la eficacia de formulados como Neem-Azal-T/S°, aceite de neem y sus extractos acuosos, los cuales mostraron actividad comparable al insecticida fenvalerato. La efectividad de Neem-Azal-T/S° también se ha ensayado sobre *Leucoptera coffeella*, insecto que invade y ataca las hojas del café. El producto causó reducción considerable en las poblaciones de ambos insectos Venzon *et al.* (2005). Este mismo tipo de formulado fue igualmente efectivo contra poblaciones de *Aphis craccivora*, *Liriomyza congesta* y *Callosobruchus chinensis*, plagas en variedades de frijol (Mansour, 1996); también se ensayó junto con *Bacillus thuringiensis* (Bt) sobre el escarabajo colorado de la papa, mostrando control moderado de las larvas de este insecto (Baumgart *et al.*, 1996).

De igual forma, se han presentado los extractos de neem como una alternativa eficiente para el control de una amplia variedad de plagas en cultivos de maíz, en comparación con el control realizado con agentes químicos tradicionales, puesto que ofrecen la misma protección, pero con la ventaja de ser menos tóxicos y más económicos (Montes-Molina, 2008).

El neem también se ha combinado con otros productos botánicos, con insecticidas de síntesis y se ha evaluado su compatibilidad con organismos usados en el control biológico, tales como *Bacillus thuringiensis*, y con hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*. Algunos ejemplos son los estudios llevados a cabo para determinar la efectividad de extractos acuosos y otros productos derivados de neem, combinados con insecticidas del grupo de los neonicotinoides, piretroides como la cipermetrina, endosulfan, clorpirifos, acetamiprida, Caldan 50 SP, monocrotofos e indoxacarb en el control de la densidad de una población de insectos como *Bemisia tabaci*, *Aulacophora foveicollis*, en una variedad de cultivos bajo condiciones de campo, mostrando en la mayoría de los casos como la efectividad combinada fue mejor a la aplicación de las diferentes alternativas por separado (Gathak y Reza, 2006; Rajneesh 2006); Dash *et al.*, 2007; Araujo-Trindade *et al.*, 2007; Ambekar *et al.*, 2009).

De igual manera, algunas formulaciones comerciales de neem como Natuneem® y Neemseto® se combinaron con insecticidas biológicos como el Btaxentari®, cuyo in-

grediente activo es el *Bacillus thuringiensis*, y aislados de los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, mostraron efectividad entre moderada y alta en el control de *Spodoptera frugiperda* y *Lipaphis erysimi* (Leite de Lima *et al.*, 2009); de Araujo *et al.* (2009).

Otras investigaciones han evaluado el empleo de sinergistas como el conocido butóxido de piperonilo, usado en formulaciones de pesticidas comerciales y del cual se sabe que actúa como un inhibidor de la enzima citocromo p-450 mezclado con extractos de neem en proporción 1:2 sobre larvas de *Plutella xylostella*, observándose un incremento apreciable en la mortalidad de las mismas (Lange, 1984). Otros productos derivados de neem se han mezclado con aceites como el de ajonjolí, oleato de etilo y dimetilsulfoxido, mejorando el efecto aficida de los diferentes preparados (Dimetry, 1997). Los anteriores estudios demuestran el potencial de las combinaciones de extractos como una estrategia eficiente en el control de plagas a tener presente en futuras evaluaciones.

Algunas investigaciones realizadas sobre la formulación de extractos de neem, se han centrado en la determinación de aspectos fundamentales como el conocimiento del coeficiente de partición del extracto de la semilla en agua, el cual debido a su hidrofobicidad se puede mejorar mediante el empleo de surfactantes y cosolventes (Kulkarni *et al.*, 2000).

La efectividad tanto de formulados como de extractos, se ha ensayado contra insectos plaga en diferentes cultivos, pero también se han investigado aspectos como el efecto residual, tanto de extractos, como de varios de sus formulados, así como los efectos tóxicos sobre organismos no blanco y sobre la microflora del suelo. En relación a este último aspecto, en el 2007, Gopal *et al.*, discuten los efectos inhibitorios sobre la microflora del suelo y la actividad enzimática y respiratoria en dos tipos de suelos causados tanto por dos formulaciones de neem, como por el extracto de su semilla. En este estudio se puntualiza el efecto sobre comunidades microbianas, tales como bacterias, actinomicetos y bacterias nitrificantes. Igualmente se observaron efectos sobre la actividad de enzimas como fosfatasas y deshidrogenasas después de 15 días de la aplicación y la cual se mantiene baja hasta 60 días después; efectos observados a todas las dosis evaluadas para los productos mencionados con anterioridad.

No obstante, en lo que se refiere a la toxicidad del neem, no parece existir un gran número de estudios que reporten este tipo de efecto; algunas revisiones recientes, reportan solo 9 casos (Morgan, 2009), en comparación con los numerosos trabajos

que alientan el uso de sus extractos y productos derivados, incluso reportándose efectos mínimos sobre los enemigos naturales, cuando se emplea en el control de plagas (Charleston *et al.*, 2006). En el 2004, Boeke *et al.* hacen una recopilación bibliográfica de datos toxicológicos en diferentes preparaciones del neem en animales y humanos, donde los extractos no acuosos parecen ser los más tóxicos con una Dosis Segura Estimada (DES) de 0,02 y 12,5 microgramos/kilogramo de peso/día, mientras que dentro de los menos tóxicos están los materiales no procesados y los extractos acuosos de la semilla con (DES) de 0.26 y 0.3 mg/kg/día, 2 µl/kg /día respectivamente. En esta misma revisión se hace referencia a la baja toxicidad que presentan los compuestos puros; por ejemplo, la azadiractina mostró una DES de 15 mg/kg/día y se muestran los efectos tóxicos sobre la reproducción tanto en machos como en hembras como el principal efecto de todas las preparaciones de neem.

3.4 Aceites esenciales

Los aceites esenciales extraídos de una amplia variedad de plantas, se han venido ensayando para el control de insectos plaga en campo, plagas de productos almacenados y en el control de algunos insectos vectores de enfermedades, debido a que estos manifiestan efectos anti-insecto que abarcan actividad por contacto, por ingestión y repelencia.

Aceites esenciales, como el 3-careno (común en el nordeste de Brasil) y el 1,8-cineol (figura 1d) componente del aceite esencial de una amplia variedad de plantas, por ejemplo, *Hyptis martiusii*, han demostrado actividad insecticida. La actividad larvicida del aceite de hojas de algunas plantas del género *Eupatorium* han sido efectivas en el control de *Aedes aegypti* debida a la presencia del 2,2-dimetil-4-vinilcroma-4-ona. Compuestos aislados de *Maytenus sp.* Avilla *et al.* (2000) actúan sobre larvas de la polilla de la manzana debido a su componente activo, el 20-alfa-hidroxitingenona cuya actividad insecticida se basa en la inhibición de la alimentación (Vásquez *et al.*, 2007). Otros aceites esenciales como el de clavo *Syzygium aromaticum*, generalmente contiene más del 92% de eugenol (Isman, 2000) y también contiene acetato de eugenilo y β-cariofileno. El eugenol (figura 1e) presenta una acción de contacto rápida, lo que lo hace un insecticida eficaz en una amplia variedad de plagas domésticas y también en algunas plagas de plantas ornamentales, tales como orugas, trips, pulgones y ácaros. El de tomillo, *Thymus vulgaris*, o de otras especies del mismo género se compone de timol y carvacrol como los principales componentes responsables de la toxicidad (Isman, 2001) junto con numerosos monoterpenoides adicionales. El aceite de tomillo está exento de registro de la EPA y por lo tanto disponible para el con-

trol de amplio espectro de insectos en la agricultura ecológica. El aceite de romero, *Rosmarinus officinalis*, compuesto principalmente de un 25% de 1,8-cineol, borneol y alcanfor. Muchos de sus componentes poseen actividad insecticida (Isman, 2008). Los productos del romero se recomiendan para el control de los áfidos, escarabajos, moscas blancas, ácaros, trips, orugas y larvas, entre otros.

Otros estudios reflejan el potencial presente en diferentes especies del género *Eucalyptus*, tal como se muestra en los estudios de Olivero *et al.* (2010) quienes concluyeron como candidatas potenciales como repelentes de insectos los aceites esenciales extraídos de *Eucalyptus citriodora* y *Cymbopogon citratus* evaluados por contacto y por repelencia contra *Tribolium costanera* Herbst (Coleoptera tenebrionidae); Pinto *et al.* (2010) mostraron el potencial presente en los aceites de *Eucalyptus viminalis* y *Ocotea odorifera* para el control de larvas y adultos de *Alphitobius diaperinus*.

Igualmente, especies como *E. camandulensis*, *E. globulus*, *E. cinérea*, *E. nitens*, *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. tereticornis* han hecho parte de investigaciones donde se ha explorado la actividad anti-insecto contra dípteros como *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* y *Musca domestica* (Nathan, 2007), Lucia *et al.* (2007), Palacios *et al.* (2009), Cheng *et al.* (2008), *Sitophilus oryzae* (L.) Mohamed *et al.* (2009), *Callosobruchus chinensis* L (Gupta & Verma, 2008), *Rhyzopertha dominica* (Jain, 2009), *Rhipicephalus* (Boophilus) *annulatus* (Pirali-Kheirabadi *et al.* (2009), (*Uraba lugens* y *Trachymelas sloanei* Gous y Richardson, 2008), *Aphis gossypii*, *Lipaphis pseudobrassicae* (Mareggiani *et al.*, 2008). Los resultados satisfactorios logrados en la mayoría de los estudios anteriormente citados, justifican el uso de las especies de eucalipto para la protección de cultivos.

3.5 Aceite de capsaicina y sus preparados

Productos a base de capsaicina (figura 1f) se obtienen a partir del género *Capsicum*, derivados de ají (*Capsicum frutescens*, Mill.). La resina contiene aproximadamente el 3% de capsaicina, compuesto relacionado con la actividad biológica (Madhumathy *et al.*, 2007). No está claro si los efectos de control de insectos plaga, que tiene la capsaicina son debidos a sus efectos insecticidas o repelentes, ya que ambos pueden contribuir con su actividad anti-insecto.

3.6 Rotenona

Los productos que contienen rotenona (figura 1g) son preparados de plantas de los géneros *Derris* o *Lonchocarpus* (Leguminosae). (Ceres *et al.*, 1981); (Lawson *et al.*,

2008). La principal forma comercial de los insecticidas botánicos de rotenona, proviene de la resina y de un extracto de raíz de *Lonchocarpus utilis* y *Lonchocarpus urucu*. Aunque la rotenona es el constituyente primario de los productos que contienen estos preparados, una isoflavona, la deguelina, (figura 1h) también contribuye significativamente a la actividad.

3.7 Avermectinas y milbemicinas

Las avermectinas (figura 2a) son estructuralmente similares a las milbemicinas, ambas descubiertas de cultivos de *Streptomyces* sp., han tenido gran impacto en el ámbito de la salud animal como agentes contra gusanos, garrapatas y moscas. El impacto de los insecticidas en la protección de cultivos ha sido menos dramático pero significativo; sin embargo, en algunas revisiones recientes se resalta su potencial insecticida y el de sus derivados sintéticos (Pitterna *et al.*, 2007, 2009; Cassayre *et al.*, 2010). La Abamectina es un producto natural de la fermentación de *Streptomyces avermitilis* contiene más de un 80% de avermectina B_{1a} y menos de un 20% de avermectina B_{1b}.

Las avermectinas son insecticidas y acaricidas efectivos, ya sea por contacto o por ingestión. El sitio blanco de las avermectinas es el receptor de GABA en el sistema nervioso periférico.

3.8 Preparados de *Ryania speciosa*

Ryania es un insecticida obtenido a partir de las raíces y tallos de un arbusto de América del Sur (*R. speciosa*). Ryania consta de piezas de polvo de *R. speciosa* que contiene hasta 0.16-0.2% del principio bioactivo, rianodina Rogers *et al.* (1948) y un complejo de alcaloides relacionados con su actividad insecticida, los rianoides (Jefferies *et al.*, 1992) son efectivos ya sea por contacto o ingestión. La Rianodina (figura 2b) y sus alcaloides relacionados, afectan a los músculos mediante la unión a los canales de calcio en el retículo sarcoplásmico. Se utiliza frecuentemente en la industria de la huerta orgánica por su relativa baja toxicidad para los mamíferos y ha servido de base para la búsqueda de otros compuestos basados en su mecanismo de acción (Lahm *et al.*, 2007). Los preparados de Rania se venden comercialmente como insecticidas orgánicos por al menos un fabricante (Progressive Agri-Systems).

3.9 Spinosads

Spinosad es una mezcla de la espinosina A y la espinosina D (figura 2c), un grupo de lactonas macrocíclicas (Sparks *et al.*, 2001) originalmente aislados de un actino-

miceto de tierra, *Saccharopolyspora spinosa*. Spinosad es recomendado para el control de una gama muy amplia de las orugas, minadores, trips y escarabajos. Spinosad se vende como concentrado en formulaciones acuosas con varios nombres comerciales.

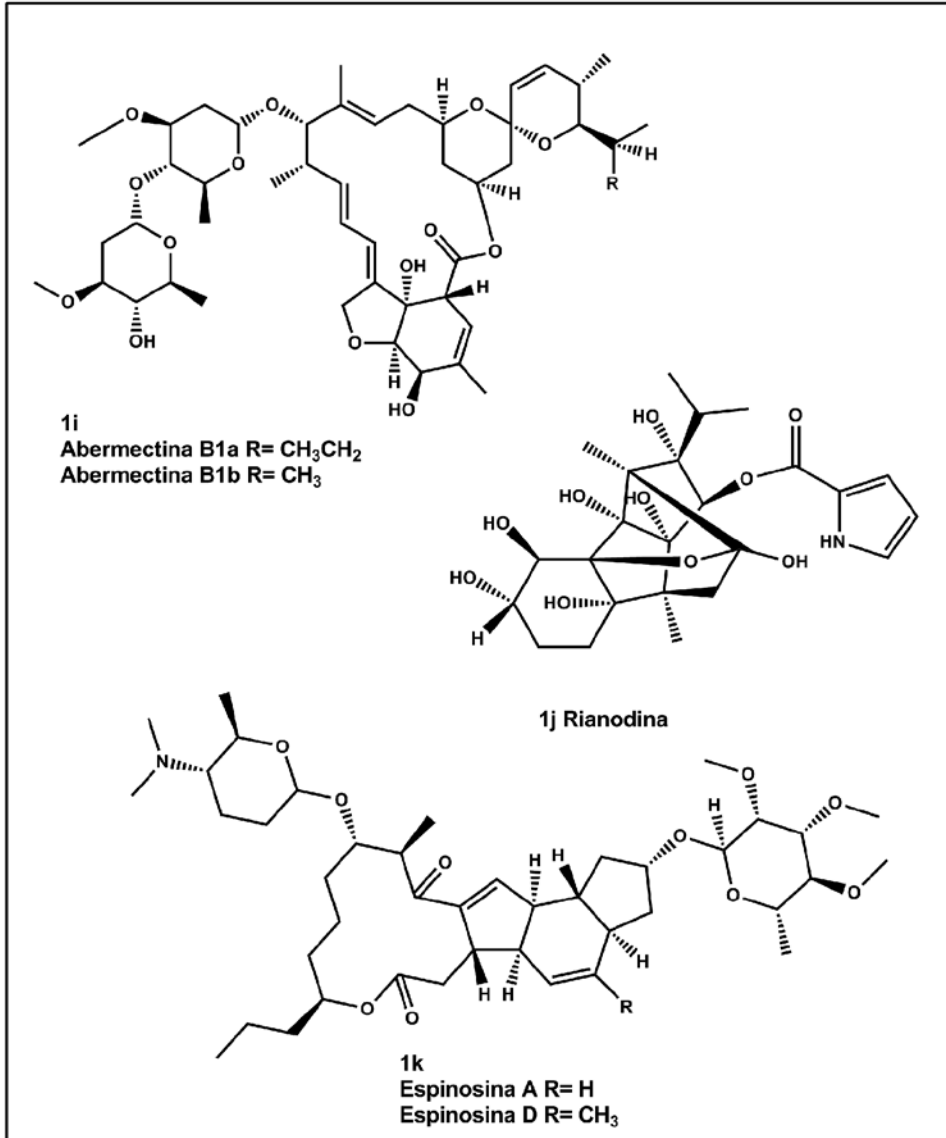


Figura 2. Otras moléculas naturales con actividad insecticida citadas en el texto.

Las espinosinas tienen un modo de acción relacionado con la unión a los vinculantes de los receptores nicotínicos de la acetilcolina, pero estos son distintos de los que se conocen para otros insecticidas que ejercen actividad sobre los mismos receptores. Spinosad también tiene efectos secundarios sobre los neurotransmisores gama-amino-butírico (Watson, 2001). El resultado de este modo de acción es la hiperexcitación y la interrupción del sistema nervioso del insecto. Spinosad es aprobado para su uso como un insecticida orgánico bajo el nombre de Entrust™ (Dow AgroSciences / Mycogen) y en términos generales no ofrece efectos tóxicos importantes sobre insecto benéficos (Williams *et al.*, 2003). Spinosad es recomendado para el control de una gama muy amplia de las orugas, minadores, trips y los escarabajos en cultivos de hortalizas, árboles frutales, césped, plantas de vid y ornamentales.

4. ESTUDIOS RELACIONADOS CON EL USO DE BIOINSECTICIDAS EN COLOMBIA

Nuestro país no es ajeno a la búsqueda de alternativas al uso de los pesticidas sintéticos, siendo un ejemplo de lo anterior el avance generado en cuanto al número de empresas productoras de bioinsumos, que abarca todo lo relacionado con el empleo de agentes biológicos para el control de plagas, inoculantes biológicos, bioabonos, inóculos microbiales para compostaje y productos bioquímicos (Resolución 375 de 2004), así como los extractos vegetales. Estos productos han venido ganando terreno el mercado del sector agropecuario y se consideran como una de las opciones para generar estándares de productividad y tasas significativas de crecimiento en el PIB del sector agrícola (Zambrano y Riaño, 2008). El número de empresas registradas ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) hasta abril de 2011 ascendió a 101 (ICA, 2011), de estas, solo 22 empresas son productoras de extractos, aproximadamente 40 producen o venden agentes microbiales y algunas comercian con organismos de tipo parasitoide, agentes bioquímicos e inoculantes microbiales. Un estudio de caso lo constituye el gremio de los floricultores quienes desde año 1996 vienen adoptando prácticas de producción más limpias enmarcadas dentro de lo que denominan programa “Flor Verde” creado por la Sociedad Colombiana de Exportadores de Floricultores (Asocolflores). En el documento publicado los resultados de estudios realizados con cuatro productos botánicos basados en los principios activos del ají, ajo y otras plantas en conjunto con los biocontroladores *T. harzianum*, *P. fumosoreus* y *B. bassiana* usados en el control de plagas y enfermedades con resultados iguales o superiores a los productos sintéticos usados convencionalmente, permiten concluir que estas alternativas se pueden incorporar de forma efectiva en los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades (www.ibcperu.org/doc/isis/7678.pdf), resaltando además las ventajas ambientales y de

seguridad en términos de salud ocupacional de los trabajadores. Así mismo se ha determinado la efectividad a nivel *in vitro* y en campo de emulsiones de diferentes mezclas de extractos tabaco, neem y eucalipto en el control conjunto de plagas y enfermedades en cultivos de flores, mostrándose resultados semejantes o mejores a los productos, convencionalmente usados (Murillo *et al.*, 2011).

El uso de este tipo de estrategias de control viene sobresaliendo y está empezando a ser adoptado por productores minoritarios de papa en el departamento de Boyacá, en el intento de lograr un mejor uso de los pesticidas y promover la reducción de los riesgos relacionados con su aplicación en la región (Feola & Binder, 2010).

Se han reportado estudios en los cuales, compuestos presentes en las bacterias, tales como las proteínas aisladas Cry1B y Cry3A del *Bacillus thuringiensis* mostraron ser tóxicas para insectos, tales como los escarabajos de las patatas de Colorado y el escarabajo de la hoja de algodón en rama, reportando así un conveniente método de ensayo, además se reportó la toxicidad de los genes sobre el estado larvario de la broca del fruto de café, *Hypothenemus hampei*. (López-Pazos *et al.*, 2009). De igual manera, bioensayos de proteínas insecticidas provenientes del *Bt. subesp israelensis* con larvas del mosquito vector de la malaria *Anopheles albimanus* mostraron que la proteína citolítica Cyt1Aa no fue tóxica por sí sola, pero incrementó la toxicidad de las proteínas cristalinas Cry4Ba y Cry11Aa. Este sinergismo también ocurre entre las toxinas Cry4Ba y Cry11Aa (Fernández-Luna *et al.*, 2010).

Otro ejemplo de lo expresado, se encuentra en cómo algunas especies de *Trichoderma* son comúnmente usadas como agentes de control biológico contra hongos fitopatógenos y algunas cepas son capaces de producir metabolitos que aumentan el crecimiento de la planta. En el estudio, se evaluó la producción de potenciales metabolitos promotores de crecimiento y endofitismo para 101 aislados de *Trichoderma* provenientes de Colombia, y se asignó la relación de estos factores al incremento de etapas tempranas de crecimiento en cultivos de frijol Hoyos (Carvajal *et al.*, 2009).

Estudios sobre bioinsecticidas basados en la acción del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomyceto) usado en el control de la broca del fruto de café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) se han realizado sobre varios insectos vectores de enfermedades, incluyendo *Phlebotomus papatasi* y *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), al igual que su potencial en el control biológico contra flebótomos en las plantaciones de café colombianas (Reithinger *et al.*, 1997). Estudios basados en el uso de la *B. bassiana* se han incrementado en los

últimos años, siendo tal su importancia que algunas investigaciones se han centrado en la evaluación de la variabilidad genética de 95 muestras de *B. bassiana* de diferentes regiones y hospederos del país, resultando que hay una baja variabilidad; además se fijan criterios para la determinación de bioinsecticidas, la introducción de cepas foráneas y el mejoramiento de entomopatógenos dentro de un programa de planes de manejo de pesticidas de Insectos (IPM) (Gaitán *et al.*, 2002).

Estos hongos también pueden actuar como asociación entre diferentes especies, en combinación con extractos de plantas. Se ha reportado la compatibilidad de dos hongos entomopatogénicos *B. bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*, en combinación con extractos de plantas de ajo y pimienta, complementándole su acción con los depredadores de ácaros *Phytoseiulus persimilis* y *Neoseiulus californicus*, se evaluó la optimización de su eficacia sobre el ácaro *Tetranychus urticae*, plaga de las rosas; encontrándose que al liberarse los depredadores separadamente y con la combinación de los hongos y los extractos, se obtuvieron resultados más efectivos para el control del ácaro en este último caso S.J. Numa Vergel *et al.* (2011). Otro ejemplo se muestra en el uso simultáneo de extractos de ajo y pimienta, aplicados de forma intercalada con *Solanum tuberosum cv Roja Nariño*, demostrando ser una estrategia efectiva para el manejo de la polilla de la papa, *Tecia solanivora*. Esta estrategia mantiene la productividad conseguida con prácticas de manejo convencionales, pero sin los costos asociados con salud, medio ambiente y ecológicos que se tienen con los insecticidas (Gómez- Jiménez & Poveda, 2009).

Millones de dólares anuales de pérdidas a través de los años y los costos del control de la broca del café han llevado a que, entre otros métodos ya descritos, se utilice la combinación *B. bassiana* y *M. anisopliae* para controlar esta plaga, pero su baja virulencia es un factor importante que complica su uso. En un estudio realizado en Colombia, apoyado por CENICAFÉ y la Federación Nacional de cafeteros de Colombia, el *M. anisopliae* ha sido modificado para expresar la toxina del escorpión (aIT) en la hemolinfa de los insectos, lo que ha incrementó grandemente la patogenicidad contra *Manduca sexta* y *Aedes aegypti*, observándose que la cepa AaIT-Ma549 fue más virulenta contra esta plaga y siendo esta la primera ocasión en que se encuentra que un hongo entomopatógeno mate la broca de fruto de café en menos de 3 días. Sin embargo, esta cepa produjo menos esporas sobre los cadáveres que la cepa parental (Pava-Ripoll *et al.*, 2008). El *Cyrtomenus bergi* Froeschner es un insecto subterráneo polífago, y se ha convertido en una plaga violenta, especialmente en Colombia, Panamá y Costa Rica (Bellotti *et al.*, 1988). Para su control, y el de otras plagas subterráneas, se han propuesto aplicaciones combinadas de entomopatógenos y dosis subletales de insecticidas sintéticos como estrategia

para mejorar la eficacia del agente microbiano (Anderson *et al.*, 1989) con resultados particularmente buenos (Boucias *et al.*, 1996; Quintela and McCoy., 1997,1998). Las dosis subletales de insecticidas sintéticos actúan hipotéticamente como estresor químico adicional afectando al insecto plaga (Hassan and Chamley, 1989). Estudios más recientes se han enfocado en combinaciones de *M. anisopliae* o *B. bassiana* (Bals-CRiv) Vuill (Hyphomycetos) con dosis subletales de imidacloprid® (Neves *et al.*, 2001, 2002; Ramakrishnan *et al.*, 1999), un insecticida de amplio espectro que es especialmente efectivo contra insectos chupadores de sabia y también afecta varias plagas de coleópteros, dípteros y lepidópteros (Elbert *et al.*, 1991). Como conclusión, las aplicaciones combinadas del *M. anisopliae* y una dosis muy baja de imidacloprid® también resultaron en una alta mortalidad de las ninfas de *C. bergi* cuando el tratamiento fue aplicado a un suelo colombiano nativo bajo condiciones de invernadero. (Jaramillo *et al.*, 2005). Contra este insecto se ensayaron nuevos métodos de bioensayo evaluando la patogenicidad de 3 cepas colombianas de *Metarhizium anisopliae* y 1 cepa de *Paecilomyces sp.*, contra el insecto *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hem: Cydnidae) a nivel de laboratorio. Este ensayo permitió la evaluación de un gran número de insectos en corto tiempo y bajo condiciones controladas, probándose la patogenicidad de todas las cepas y obteniéndose una mortalidad no mayor al 55% (Jaramillo *et al.*, 2006).

Aunque se ha establecido hasta este punto la acción bioinsecticida de bacterias y hongos, un campo de acción emergente en Colombia, tiene que ver con la acción de virus. Se reporta un estudio en el que se realiza la comparación genética y fenotípica de 38 muestras de larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas con *nucleopolihedrovirus* recolectados de pasturas, plantas de maíz y de sorgo en 3 regiones geográficas diferentes de Colombia; estas muestras fueron sujetas a caracterización molecular y comparadas con un aislado nicaragüense anteriormente caracterizado. Se ha concluido que el *nucleopolihedrovirus* aislado es nuevo y presenta características patogénicas que favorecen su desarrollo como base para un producto biopesticida en Colombia (Barrera *et al.*, 2011). Si bien los baculovirus son considerados como bioinsecticidas seguros y selectivos, restringidos a invertebrados, su aplicación no se ha mostrado igual en el control de plagas en cosechas, bosques y pasturas. Una excepción notable es el nucleopolyhedrovirus de *Anticarsia Gemmatalis* (AgMNPV) usado para controlar la oruga de terciopelo en soya (Moscardi, 1999; Moscardi *et al.*, 2002), este programa fue implementado en Brasil en los 80's, y actualmente más de 2'000.000 hectáreas son tratadas anualmente con el virus Moscardi & Santos., (2005). La demanda por la producción del virus se ha incrementado tremendamente por la necesidad de proteger más de 4'000.000 de hectáreas anualmente. Aunque la producción del virus *in vivo* a gran escala se ha encontrado con muchas dificultades, el mayor problema en

la producción del virus se presenta *in vitro* y se debe a la generación de mutantes que pueden llevar a la pérdida de virulencia (Szewczyk *et al.*, 2006).

5. CONCLUSIONES

El desarrollo de alternativas sostenibles para la producción agrícola es una necesidad global que ha tomado fuerza debido al impacto negativo producto del uso de algunas tecnologías agrícolas asociadas a la revolución verde, especialmente por el empleo masivo de insumos químicos de síntesis. En busca de la recuperación de la tierra y los sistemas naturales asociados con la producción se recurre al uso de alternativas basadas en productos naturales y agentes de control microbiano que son mas compatibles con las nuevas tendencias verdes que se pretenden alcanzar, sin embargo estos productos hasta el momento representan un porcentaje mínimo dentro del total de los insumos usados. Pese a esto y a la falta de una más amplia gama de principios activos, estos vienen ganando terreno y empiezan a tener una participación importante no solo en los sistemas de producción a pequeña escala. En países como Colombia el uso de bioinsumos cada es más común y esto se muestra con el número creciente de empresas que desarrollan actividades comerciales en este campo. No obstante falta más investigación básica y aplicada en materia de bioprospección de los recursos naturales de nuestras regiones para incorporar efectivamente una mayor cantidad de principios activos provenientes de especies Colombianas, mayor desarrollo de formulaciones basadas en agentes de control microbiano y principios activos naturales que generen nuevos focos de oportunidades para el mejoramiento de la competitividad de las diferentes cadenas productivas agrícolas y su participación en los mercados internacionales.

BIBLIOGRAFÍA

- ACS Green Chemistry Institute (ACS-GCI). Disponible en: <http://www.acs.org/greenchemistry>.
- Anastas, P. T. & Kirchhoff, M. M. (2002). Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of chemical research*, 35, 686-694.
- Anastas, P. T. & Williamson, T. C. (1996). Green chemistry: an overview. In (pp. 1-19). ACS Publications.
- Anderson, T. E., Hajek, A. E., Roberts, D. W., Preisler, H. K., & Robertson, J. L. (1989). Colorado potato beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*): effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides. *Journal of economic entomology*, 82, 83-89.
- Araque, P. & Pelaez, C. A. (2010). Evaluación de la actividad biológica de emulsiones aceite/agua de ácido oleico-nicotina sobre *Drosophila melanogaster*. *Vitae*, 17(1), 83-89.

- Avilla, J., Teixid³, A., Velazquez, C., Alvarenga, N., Ferro, E., & Canela, R. (2000). Insecticidal activity of Maytenus species (Celastraceae) nortriterpene quinone methides against codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of agricultural and food chemistry*, 48, 88-92.
- Baker, J. D., Arnason, J. T., McRae, C., Wade, J. M., & Alkemade, S. J. (3-6-2008). Insect repellent. Google Patents. Ref Type: Generic
- Barrera, G., Simon, O., Villamizar, L., Williams, T., & Caballero, P. (2011). Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control*.
- Bellotti, A.C., Vargas, O.H., Arias, B., Castano, O., Garcia, C. (1988). *Cyrtomenus bergi* Froeschner, a new pest of cassava: biology, ecology and control. *Proceedings, Insititut National de la RechercheAgronomique*, 551-561.
- Bessette, S. M. & Beigler, M. A. (17-11-2009). Synergistic and residual pesticidal compositions containing plant essential oils. Google Patents.
- Bessette, S. M. (21-10-2008). Synergistic and residual pesticidal compositions containing plant essential oils with enzyme inhibitors. Google Patents.
- Bessette, S. M. (27-9-2005). Pesticidal compositions containing plant essential oils against beetles. Google Patents.
- Boeke, S. J., Boersma, M. G., Alink, G. M., van Loon, J. J. A., van Huis, A., Dicke, M. et al. (2004). Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 25-41.
- Boucias, D.G., Stokes, C., Storey, G., Pendland, J.C. (1996). The effects of Imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer*, 49(2), 103-104.
- Casanova, H., Araque, P., & Ortiz, C. (2005). Nicotine carboxylate insecticide emulsions: effect of the fatty acid chain length. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 9949-9953.
- Casanova, H., Ortiz, C., Pelbez, C., Vallejo, A., Moreno, M. E., & Acevedo, M. (2002). Insecticide formulations based on nicotine oleate stabilized by sodium caseinate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 6389-6394.
- Casida, J. E. (1980). Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental health perspectives*, 34, 189.
- Cassayre, J., Winkler, T., Pitterna, T., & Quaranta, L. (2010). Application of Mn (III)-catalysed olefin hydration reaction to the selective functionalisation of avermectin B1. *Tetrahedron Letters*, 51, 1706-1709.

- Chang, Y. C., Hu, C. C., Tseng, T. H., Tai, K. W., Lii, C. K., & Chou, M. Y. (2001). Synergistic effects of nicotine on arecoline induced cytotoxicity in human buccal mucosal fibroblasts. *Journal of oral pathology & medicine*, 30, 458-464.
- Charleston, D. S., Kfir, R., Dicke, M., & Vet, L. E. M. (2006). Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. *Biological Control*, 39, 105-114.
- Chen, Y. L. & Casida, J. E. (1969). Photodecomposition of Pyrethrin I, allethrin, phthalthrin, and dimethrin. Modifications in the acid moiety. *Journal of agricultural and food chemistry*, 17, 208-215.
- Coats, J. R., Peterson, C. J., Zhu, J., Baker, T. C., & Nemetz, L. T. (28-4-2009). Biorational repellents obtained from terpenoids for use against arthropods. Google Patents.
- Coats, J. R., Peterson, C. J., Tsao, R., Eggler, A. L., & Tylka, G. L. (27-3-2001). Biopesticides related to natural sources. Google Patents.
- Dash, A. N., Behera, S. N., Sasmal, A., & Dash, S. (2007). Field Evaluation of Certain Newer Insecticides and Commercial Neem Formulations against Rice Leafhopper and Hispa. *Environment and Ecology*, 25, 951-953.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 4022-4034.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 25, 74-100.
- Dimetry, N. Z. & El-Hawary, F. M. A. (1997). Synergistic effect of some additives on the biological activity and toxicity of neem-based formulations against the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch. *Insect science and its application*, 17, 395-400.
- Disposiciones sobre Registro y Control de los Bioinsumos y extractos vegetales en Colombia. Resolución 375 de 2004 Instituto Colombiano Agropecuario.
- Duke, S. O., Cantrell, C. L., Meepagala, K. M., Wedge, D. E., Tabanca, N., & Schrader, K. K. (2010). Natural toxins for use in pest management. *Toxins*, 2, 1943-1962.
- Duke, S. O. (1990). Natural pesticides from plants.
- Elbert, A., Becker, B., Hartwig, J., Erdelen, C. (1991). Imidacloprid – ein neuartiges systemisches Insektizid. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer*, 44, 113-136.
- El Shafie, H. A. F. & Basedow, T. (2003). The efficacy of different neem preparations for the control of insects damaging potatoes and eggplants in the Sudan. *Crop protection*, 22, 1015-1021.

- Feola, G. & Binder, C. R. (2010). Identifying and investigating pesticide application types to promote a more sustainable pesticide use. The case of smallholders in Boyacá, Colombia. *Crop protection*, 29, 612-622.
- Förster, B., Garcia, M., Francimari, O., & Rombke, J. (2006). Effects of ácarbendazim and álambda-cyhalothrin on ásoil invertebrates and áleaf litter decomposition in ásemi-field and áfield tests under tropical conditions (Amazonia, Brazil). *European Journal of Soil Biology*, 42, S171-S179.
- Gaitan, A., Valderrama, A. M., Saldarriaga, G., Velez, P., & Bustillo, A. (2002). Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* and other insects. *Mycological Research*, 106, 1307-1314.
- Gammon, D. W., Brown, M. A., & Casida, J. E. (1981). Two classes of pyrethroid action in the cockroach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 15, 181-191.
- Ghatak, S. S. & Reza, M. W. (2006). On Farm Testing of Organic and Synthetic Pesticides Against Mango Fruit Borer *Deanolis albizonalis* (Hampson) (Pyralidae: Lepidoptera). *Environment and Ecology*, 24, 768-772.
- Gitli, E. & Arce, R. (2001). Consideraciones sobre el comercio internacional de los productos orgánicos en Centroamerica ideas sobre Costa Rica. *Centro Internacional de Política Económica para el Desarrollo Sostenible, Universidad Nacional, Grupo Consultor Hemisferium, San Jose, Costa Rica*.
- Gomes, C. M. R., Gottlieb, O. R., Marini Bettolo, G. B., Delle Monache, F., & Polhill, R. M. (1981). Systematic significance of flavonoids in *Derris* and *Lonchocarpus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 9, 129-147.
- Gomez Jimenez, M. I. & Poveda, K. (2009). Synergistic effects of repellents and attractants in potato tuber moth control. *Basic and Applied Ecology*, 10, 763-769.
- Gous, S. F. & Richardson, B. (2008). Stem injection of insecticides to control herbivorous insects on *Eucalyptus nitens*. *New Zealand Plant Protection*, 61, 174-178.
- Hassan, A.E.M., Charnley, A.K. (1989). Ultra structural study of the penetration by *Metarhizium anisopliae* through Dimilin-affected cuticle of *Manduca sexta*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 54(1), 117-124
- Herder, G. D., Van Isterdael, G., Beeckman, T., & De Smet, I. (2010). The roots of a new green revolution. *Trends in Plant Science*.
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S., & Bissett, J. (2009). Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51, 409-416.
- Hüter, O. F. (2011). Use of natural products in the crop protection industry. *Phytochemistry reviews*, 10, 185-194.

Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Empresas Productoras de Bioinsumos registradas año 2011. Disponible en:

<http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Listado-de-Bioinsumos/2009/PRODUCTOS-BIOINSUMOS-MAYO-13-DE-2008.aspx>

Isman, M. B., Wilson, J. A., & Bradbury, R. (2008). Insecticidal Activities of Commercial Rosemary Oils (*Rosmarinus officinalis*.) Against Larvae of *Pseudaletia unipuncta*. and *Trichoplusia ni*. in Relation to Their Chemical Compositions. *Pharmaceutical Biology*, 46, 82-87.

Isman, M. B., Wan, A. J., & Passreiter, C. M. (2001). Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. *Fitoterapia*, 72, 65-68.

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 19, 603-608.

Isman, M. B., Koul, O., Luczynski, A., & Kaminski, J. (1990). Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 38, 1406-1411.

Jaglan, M. S., Khokhar, K. S., Malik, M. S., & Singh, R. (1997). Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Journal of agricultural and food chemistry*, 45, 3262-3268.

Jaramillo, J. & Borgemeister, C. (2006). New bioassay method to assess the pathogenicity of colombian strains of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Paecilomyces* sp.(Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 91, 57-60

Jaramillo, J., Borgemeister, C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobon, R., & Zimmermann, G. (2005). Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control*, 34, 12-20.

Jefferies, P. R., Toia, R. F., Brannigan, B., Pessah, I., & Casida, J. E. (1992). Ryania insecticide: analysis and biological activity of 10 natural ryanoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40, 142-146.

Koul, O. & Walia, S. (2009). Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4, 1-30.

Kulkarni, A. R., Soppimath, K. S., & Aminabhavi, T. M. (2000). Effect of Cosolvent and Nonionic Surfactant on Partition Coefficient of *Azadirachta Indica* A. Juss. (Neem) Seed Oil in Water-Hexane at (298.15, 303.15, 308.15, and 313.15) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 45, 75-77.


- Kumar, J. & Parmar, B. S. (1999). Stabilization of azadirachtin A in neem formulations: effect of some solid carriers, neem oil, and stabilizers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47, 1735-1739.
- Lahm, G. P., Stevenson, T. M., Selby, T. P., Freudenberger, J. H., Cordova, D., Flexner, L. et al. (2007). Rynaxypyr (TM): A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 6274-6279.
- Lange, W. (1984). Piperonyl butoxide: Synergistic effects on different neem seed extracts and influence on degradation of an enriched extract by ultra-violet light.
- Lawson, M. A., Kaouadji, M., & Chulia, A. J. (2008). Nor-dehydrodeguelin and nor-dehydrodrorotenone, C22 coumaronochromones from *Lonchocarpus nicou*. *Tetrahedron Letters*, 49, 2407-2409.
- Lima, M. P. L., Oliveira, J. V., & Marques, E. J. (2009). Manejo da lagarta-do-cartucho em milho com formulatões de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai. *Ciencia Rural*, 39, 1215-1218.
- Lopez-Pazos, S. A., Cortazar Gomez, J. E., & Ceron Salamanca, J. A. (2009). Cry1B and Cry3A are active against *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 101, 242-245.
- Lopes Soares, W. & Firpo de Souza Porto, M. (2009). Estimating the social cost of pesticide use: An assessment from acute poisoning in Brazil. *Ecological Economics*, 68, 2721-2728.
- Lucia, A., Gonzalez Audino, P., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., & Masuh, H. (2007). Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 299-303.
- Ma, D. L., Gordh, G., & Zalucki, M. P. (2000). Toxicity of biorational insecticides to *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) and predators in cotton field. *International Journal of Pest Management*, 46, 237-240.
- Madhumathy, A. P., Aivazi, A., & Vijayan, V. A. (2007). Larvicidal efficacy of *Capsicum annum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Vector Borne Diseases*, 44, 223.
- Mansour, M. H. (1997). The effectiveness of plant oils as protectants of mung bean *Vigna radiata* against *Callosobruchus chinensis* infestation. *Practice oriented results on use and production of neem-ingredients and pheromones*, 189-200.
- Mantovani, A. (2002). Hazard identification and risk assessment of endocrine disrupting chemicals with regard to developmental effects. *Toxicology*, 181, 367-370.

- Mareggiani, G., Russo, S., & Rocca, M. Eucalyptus globulus (Mirtaceae) essential oil: efficacy against *Aphis gossypii* (hemiptera: aphididae), an agricultural pest.
- Marks, D. (27-2-2008). Pesticidal compositions. EP Patent 1,689,237.
- Meyer, T. E. C. & Yalpani, N. (18-9-2001). Limonene and other downstream metabolites of geranyl pyrophosphate for insect control in plants. Google Patents
- Miceli, F., Minici, F., Tropea, A., Catino, S., Orlando, M., Lamanna, G. et al. (2005). Effects of nicotine on human luteal cells in vitro: a possible role on reproductive outcome for smoking women. *Biology of reproduction*, 72, 628.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim, C. S., Awang, K., Hadi, A. H. A., Takeya, K. et al. (2008). Ceramicine A and walsogyne A, novel limonoids from two species of Meliaceae. *Tetrahedron Letters*, 49, 4276-4278.
- Montes-Molina, J. A., Luna-Guido, M. L., Espinoza-Paz, N., Govaerts, B., Gutierrez-Miceli, F. A., & Dendooven, L. (2008). Are extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.(L.)) and *Gliricidia sepium* (Jacquin) an alternative to control pests on maize (*Zea mays* L.). *Crop protection*, 27, 763-774.
- Morgan, E. D. (2009). Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 4096-4105.
- Moscardi, F., Santos, B. (2005). Produção comercial do nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis*Hübner (Lep.: Noctuidae) em laboratório. *Proceedings of the IX Simposiade Controle Biológico*, 42.
- Moscardi, F., Morales, L., & Santos, B. (2002). The successful use of AgMNPV for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in soybean in Brazil. In (pp. 86-91).
- Moscardi, F. (1999). Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 44, 257-289.
- Murillo, A.W., Araque, P., Peláez, C.A., Castaño, D. (2011) Actividad anti-insecto de Mezclas binarias y ternarias de extractos vegetales para el control conjunto de plagas y enfermedades en cultivos flores de corte. 38 Congreso Colombiano de entomología: Cambio climático: retos y oportunidades para la entomología.
- Nagasampagi, B. A., Rojatkar, S. R., Kulkarni, M. M., Joshi, V. S., Bhat, V. S., Sane, M. G. et al. (11-2-1997). Triterpene derivatives of azadirachtin having insect antifeedant and growth inhibitory activity and a process for extracting such compounds from the neem plant. Google Patents.
- Nakatani, M., Abdelgaleil, S. A. M., Saad, M. M. G., Huang, R. C., Doe, M., & Iwagawa, T. (2004). Phragmalin limonoids from *Chukrasia tabularis*. *Phytochemistry*, 65, 2833-2841.

- Nakatani, M., Abdelgaleil, S. A. M., Kurawaki, J., Okamura, H., Iwagawa, T., & Doe, M. (2001). Antifeedant Rings B and D Opened Limonoids from *Khaya senegalensis*. *Journal of natural products*, *64*, 1261-1265.
- Neves, P.O.J., Alves, S.B., Almeida, J.E.M. (2002). Interaction between entomopathogenic fungi and chemical pesticides. *Proceedings of the Eighth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control*.
- Neves, P. M. O. J., Hirose, E., Tchujo, P. T., & Moino Jr, A. (2001). Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotropical Entomology*, *30*, 263-268.
- Numa Vergel, S.J., Bustos, R.A., Rodriguez, C.D., Cantor, R.F. (2011). Laboratory and greenhouse evaluation of the entomopathogenic fungi and garlic-pepper extract on the predatory mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* and their effect on the spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, *57*(2), 143-149.
- O'Brien, P.K, Franjevic, S. Jones, J. Green Chemistry and Sustainable Agriculture: The Role of Biopesticides. Disponible en:
(advancinggreenchemistry.org/.../Green-Chem-and-Sus.-Ag.-the-Role-of-)
- Ohno, I., Tomizawa, M., Durkin, K. A., Naruse, Y., Casida, J. E., & Kagabu, S. (2009). Molecular features of neonicotinoid pharmacophore variants interacting with the insect nicotinic receptor. *Chemical research in toxicology*, *22*, 476-482.
- Olivero Verbel, J., Nerio, L. S., & Stashenko, E. E. (2010). Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest Management Science*, *66*, 664-668.
- Palacios, S. M., Bertoni, A., Rossi, Y., Santander, R., & Urza, A. (2009). efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules*, *14*, 1938-1947.
- Pava-Ripoll, M., Posada, F. J., Momen, B., Wang, C., & St Leger, R. (2008). Increased pathogenicity against coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Metarhizium anisopliae* expressing the scorpion toxin (AaIT) gene. *Journal of Invertebrate Pathology*, *99*, 220-226.
- Pesticide Registration Manual: Chapter 3 - Additional Considerations for Biopesticide Products (EPA). Disponible en: www.epa.gov/opprd001/registrationmanual/chapter3.html
- Petrelli, G., Figa-Talamanca, I., Lauria, L., & Mantovani, A. (2003). Spontaneous abortion in spouses of greenhouse workers exposed to pesticides. *Environmental health and preventive medicine*, *8*, 77-81.
- Pinto Junior, A. R., Carvalho, R. I. N., Netto, S. P., Weber, S. H., Souza, E., & Furiatti, R.

- S. (2010). Bioactivity of essential oils of Brazilian sassafras and eucalyptus against lesser mealworm. *Ciencia Rural*, 40, 637-643.
- Pirali-Kheirabadi, K., Razzaghi-Abyaneh, M., & Halajian, A. (2009). Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globulus* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. *Veterinary parasitology*, 162, 346-349.
- Pitterna, T., Cassayre, J., Huter, O. F., Jung, P. M. J., Maienfisch, P., Kessabi, F. M. et al. (2009). New ventures in the chemistry of avermectins. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 4085-4095.
- Pitterna, T. (2007). Chloride channel activators/New natural products (Avermectins and Milbemycins). *Modern crop protection compounds*, 3, 1069-1088.
- Poliakoff, M., Fitzpatrick, J. M., Farren, T. R., & Anastas, P. T. (2002). Green chemistry: science and politics of change. *Science*, 297, 807.
- Quintela, E. D. & McCoy, C. W. (1998). Synergistic effect of imidacloprid and two entomopathogenic fungi on the behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. *Journal of economic entomology*, 91, 110-122.
- Quintela, E.D., McCoy, C.W. (1997). Pathogenicity Enhancement of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to First Instars of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) with Sublethal Doses of Imidacloprid. *Environmental Entomology*, 26 (5), 1173-1182.
- Rajneesh, H. (2006). Management of Shoot Borer, *Leucinodes orbonalls* Guene on Potato Crop.
- Ramakrishnan, R., Suiter, D.R., Nakatsu, C.H., Humber, R.A., Bennett, G.W. (1999). Imidacloprid-Enhanced *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) Susceptibility to the Entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Economic Entomology*, 92(5), 1125-1132.
- Ramarethinam, S. (15-2-2005). Pesticide formulation containing azadirachtin (not less than 300 ppm) and salanin in a formulated product with neem oil. Google Patents.
- Reithinger, R., Davies, C. R., Cadena, H., & Alexander, B. (1997). Evaluation of the Fungus *Beauveria bassiana* as a potential biological control agent against phlebotomine sand flies in Colombian coffee plantations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70, 131-135.
- Rogers, R. D. & Seddon, K. R. (2003). Ionic liquids--solvents of the future? *Science*, 302, 792.
- Rogers, E. F., Koniuszy, F. R., Shavel Jr, J., & Folkers, K. (1948). Plant Insecticides. I. Ryanodine, A New Alkaloid from *Ryania speciosa* Vahl. *Journal of the American Chemical Society*, 70, 3086-3088.

- Senthilkumar, A., Kannathasan, K., & Venkatesalu, V. (2008). Chemical constituents and larvicidal property of the essential oil of *Blumea mollis* (D. Don) Merr. against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitology research*, *103*, 959-962.
- Senthil Nathan, S. (2007). The use of *Eucalyptus tereticornis* Sm.(Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresource technology*, *98*, 1856-1860.
- Senthil Nathan, S., Kalaivani, K., Sehoon, K., & Murugan, K. (2006). The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenqe), the rice leaffolder. *Chemosphere*, *62*, 1381-1387.
- Sheldon, R. A. (2007). The E Factor: fifteen years on. *Green Chemistry*, *9*, 1273-1283.
- Simonovska, B., Srbinoska, M., & Vovk, I. (2006). Analysis of sucrose esters-insecticides from the surface of tobacco plant leaves. *Journal of Chromatography A*, *1127*, 273-277.
- Soloway, S. B. (1976). Naturally occurring insecticides. *Environmental health perspectives*, *14*, 109.
- Sparks, T. C., Crouse, G. D., & Durst, G. (2001). Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure-activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest Management Science*, *57*, 896-905.
- Szewczyk, B., Hoyos-Carvajal, L., Paluszek, M., Skrzecz, I., & Lobo de Souza, M. (2006). Baculoviruses--re-emerging biopesticides. *Biotechnology Advances*, *24*, 143-160.
- Thacker, J. R. M., Bryan, W. J., McGinley, C., Heritage, S., & Strang, R. H. C. (2003). Field and laboratory studies on the effects of neem (*Azadirachta indica*) oil on the feeding activity of the large pine weevil (*Hyllobius abietis* L.) and implications for pest control in commercial conifer plantations. *Crop protection*, *22*, 753-760.
- Thompson, G. D., Dutton, R., & Sparks, T. C. (2000). Spinosadûa case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science*, *56*, 696-702.
- Tomizawa, M., Zhang, N., Durkin, K. A., Olmstead, M. M., & Casida, J. E. (2003). The neonicotinoid electronegative pharmacophore plays the crucial role in the high affinity and selectivity for the *Drosophila* nicotinic receptor: an anomaly for the nicotinic cation- interaction model. *Biochemistry*, *42*, 7819-7827.
- Tomizawa, M. & Casida, J. E. (2008). Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death. *Accounts of chemical research*, *42*, 260-269.
- Tomizawa, M., Lee, D. L., & Casida, J. E. (2000). Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors. *Journal of agricultural and food chemistry*, *48*, 6016-6024.

- Travisi, C. M. & Nijkamp, P. (2008). Valuing environmental and health risk in agriculture: A choice experiment approach to pesticides in Italy. *Ecological Economics*, 67, 598-607.
- Trindade, M. S. A., Sousa, A. H., Maracajb, P. B., Sales Junior, R., & Andrade, W. G. (2007). Aqueous extracts and oil of neem combined with neonicotinoid insecticides against *Bemisia tabaci* biotype B in melon. *Ciencia Rural*, 37, 1798-1800.
- Tripathi, A. K., Prajapati, V., & Khanuja, S. P. S. (23-9-2003). Process for insecticidal formulation effective in controlling malarial vector, mosquitoes. Google Patents.
- Utilización de bioinsumos en Colombia un estudio de caso en flores de corte disponible en: www.ibcperu.org/doc/isis/7678.pdf.
- Vazquez-Luna, A., Perez-Flores, L., & Diaz-Sobac, R. (2007). Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *Cienc Tecnol Aliment*, 5, 306-313.
- Venzon, M., Rosado, M. C., Matiello Fadini, M. A., & Iorio Ciociola, A. (2005). The potential of NeemAzal for the control of coffee leaf pests. *Crop protection*, 24, 213-219.
- Warner, J. C., Cannon, A. S., & Dye, K. M. (2004). Green chemistry. *Environmental Impact Assessment Review*, 24, 775-799.
- Watson, G. B. (2001). Actions of Insecticidal Spinosyns on [gamma]-Aminobutyric Acid Responses from Small-Diameter Cockroach Neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 71, 20-28.
- Williams, T., Valle, J., & Viñuela, E. (2003). Is the naturally derived insecticide Spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology*, 13, 459-475.
- Wu, C. A., Wu, H., & Lei, L. (16-4-2002). Compositions and methods for controlling pests using synergistic cocktails of plant alkaloids. Google Patents.
- Zambrano M.C, Riaño, O.P.A (2008). Rentabilidad de las empresas productoras de bioinsumos registradas ante el ica disponible en: http://www.iica.int/Esp/regiones/andina/colombia/Documentos%20de%20la%20Oficina/docsiica/rentabilidad_empresas_bioinsumo_ica.pdf 

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
Murillo Arango W. y Salazar D. F. Tendencias verdes en la agricultura para el manejo y control de plagas Revista Tumbaga (2011), 6, 63-92	Día/mes/año 23/08/2011	Día/mes/año 15/09/2011