

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de la papa", Ayacucho 2012.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Bach. VILLANUEVA BAUTISTA, Violeta

AYACUCHO - PERÚ

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MEMORANDO N° 243-2015-UNSCH-FCB

AL : Blgo. TOMAS YURET MIRANDA TOMASEVICH (Presidente)
Mg. ENRIQUE JAVIER AGUILAR FELICES (Miembro)
Mg. MARCO ROLANDO ARONÉS JARA (Asesor)
Dr. EMILIO GERMÁN RAMIREZ ROCA (Miembro)

ASUNTO : Dictamen favorable de tesis sustentada
Bach. **Violeta VILLANUEVA BAUTISTA**

REF. : Dictamen favorable de tesis sustentada
R.R. N° 018-13-UNSCH-FCB-D (Proyecto)
R.R. N° 078-14-UNSCH-FCB-D (Sustentación)

FECHA : mayo , 21 de 2015

Por el presente hago llegar a ustedes, tres ejemplares de la Tesis sustentada: **Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de la papa" Ayacucho 2012**, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **Violeta VILLANUEVA BAUTISTA**, sobre el dictamen favorable de las correcciones hechas por los Miembros del Jurado que, por acuerdo de Consejo de Facultad y la nueva Directiva de redacción de tesis, para que reunidos en Comisión, previa citación escrita cursada por el Presidente cumplan con lo solicitado. Luego del cual procederán a emitir el dictamen correspondiente en el plazo de siete (07) días hábiles, debiendo adjuntar al expediente toda la documentación de lo actuado.

Adjunto nueve (09) folios.

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

59.
Dr. HOMERO ANGO AGUILAR
DECANO

c.c. Archivo
HAA/grp

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 078 - 2015 – UNSCH - FCB - D

Bach.: VILLANUEVA BAUTISTA, Violeta

En la ciudad de Ayacucho, siendo las seis de la tarde con diez minutos, del día dieciséis de abril del dos mil quince, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los profesores Dr. Homero Ango Aguilar en calidad de Decano, y el Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich, Mg. Q.F. Enrique Javier Aguilar Felices, Dr. Emilio Germán Ramírez Roca, Mg. Q.F. Marco Rolando Aronés Jara como miembros y en el caso del Mg. Q.F. Marco Rolando Aronés Jara además como Asesor y actuando como secretario docente el Blgo. Elbert Hermoza Valdivia, con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de Tesis presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. Violeta VILLANUEVA BAUTISTA cuya Tesis es Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de la papa" Ayacucho 2012, con la cual pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica.


Con la finalidad de dar inicio a la exposición, después de haberse dado lectura al expediente presentado por la sustentante, el Sr. Decano autoriza con la iniciación del acto de exposición, lo cual es hecho por la Srta. Violeta Villanueva Bautista, lo que debe hacerse en el tiempo reglamentario de 40 minutos.

Concluida la exposición de la sustentante, el Sr. Decano (e) Dr. Homero Ango Aguilar, invita a los miembros del jurado para que puedan realizar sus preguntas o solicitar las aclaraciones que crean por conveniente, a lo que los miembros del jurado lo hacen, dando respuesta la sustentante en forma clara, quedando satisfechos los Sres. miembros del jurado evaluador. Concluida la sustentación el presidente del jurado evaluador Dr. Homero Ango Aguilar, invita a la sustentante y público asistente con la finalidad de abandonar el Auditorio como es costumbre, y para poder realizar la calificación respectiva; una vez realizada la calificación ésta queda de la siguiente forma:

Miembro Jurado	Exposición	Rpta. a Preguntas	Promedio
Dr. Homero ANGO AGUILAR	17	17	17
Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH	18	17	18
Mg. Q.F. Enrique Javier AGUILAR FELICES	17	17	17
Mg. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA	18	17	18
Dr. Emilio Germán RAMÍREZ ROCA	17	17	17

De lo que se desprende que obtuvo la nota de Diecisiete (17) que es Aprobatoria, invitándose inmediatamente a la sustentante y público a que hagan su ingreso al Auditorio para dar a conocer el resultado en forma pública, así como imponer la medalla y hacer el juramento de Ley dando el reconocimiento a la nueva profesional Químico Farmacéutica.

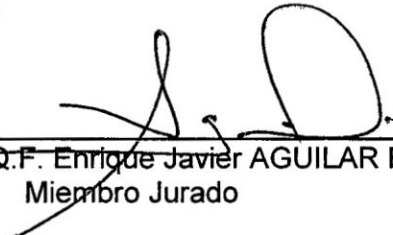
Terminó el acto siendo las ocho de la noche con cinco minutos, firmando los miembros del jurado dando fe al acto.



Dr. Homero ANGO AGUILAR
Decano (e) Presidente



Blgo. Tomás Yuref MIRANDA TOMASEVICH
Miembro Jurado



Mg. Q.F. Enrique Javier AGUILAR FELICES
Miembro Jurado



Dr. Emilio Germán RAMÍREZ ROCA
Miembro Jurado



Mg. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA
Miembro Asesor



Blgo. Elbert HERMOZA VALDIVIA
Sec. Docente

*A un par de corazones buenos con gratitud
eterna, mis padres Leonilda y Santos Cesario,
por contar con su apoyo en los momentos felices y tristes.*

*A mi abuelita Felicitas mi segunda madre y
mis hermanos.*

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi amada y respetada *alma mater*, forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en especial al laboratorio de Zoología de la Facultad de Ciencias Biológicas y al Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos.

A los docentes de la EFP de Farmacia y Bioquímica quienes me acogieron y brindaron los conocimientos y enseñanzas durante mi formación profesional.

A mis asesores Mg. Q. F. Marco Rolando Aronés Jara y M.Cs. Blgo. Yuri Ayala Sulca, por brindarme su tiempo, conocimientos y guía para el desarrollo y culminación de la presente investigación

A todas las personas que me apoyaron desinteresadamente en la elaboración y culminación del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	4
2.3. Bases teóricas	7
2.3.1. <i>Ambrosia arborescens</i>	7
2.3.2. <i>Symmetrischema tangolias</i>	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Lugar de ejecución	14
3.2. Población y muestra	14
3.2.1. Población	14
3.2.2. Muestra	14
3.2.3. Unidad de análisis	15
3.3. Metodología y recolección de datos	15
3.3.1. Recolección y mantenimiento del material biológico	15
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill	16
3.3.3. Determinación de parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill	16
3.3.4. Diseño experimental	17
3.3.5. Evaluación de la actividad biocida	17
3.4. Análisis de datos	18
3.4.1. Determinación del porcentaje de mortalidad de <i>Symmetrischema tangolias</i>	18
3.4.2. Determinación de la concentración letal media (CL ₅₀) <i>Symmetrischema tangolias</i>	18
IV. RESULTADOS	19

V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	30
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características físicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"	20
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco".	21
Tabla 3. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco".	22
Tabla 4. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> de 7 a 15 días de evaluación, según las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco".	23
Tabla 5. Identificación de la composición química de aceites esenciales de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco", realizado en el Laboratorio del Departamento de Química Biorgánica y Biofarmacia de la Universidad de Pisa ⁴⁸ .	40
Tabla 6. Modo de acción de los metabolitos secundarios sobre insectos ¹⁶ .	43
Tabla 7. Análisis de varianza ($p < 0,05$) de la mortalidad de larvas del III instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> en relación a la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco".	50

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1	Porcentaje de mortalidad de larvas del III instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> vs concentración (mg/L) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco". 24
Figura 2.	Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988 37
Figura 3.	Arbusto de <i>Ambrosia arborescens</i> "marco", fotografiada en la localidad de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho 38
Figura 4.	Distribución geográfica de <i>Ambrosia arborescens</i> "marco" (en las zonas sombreadas de color verde). 39
Figura 5.	Principales zonas productoras de papa y países con ocurrencia reportada de <i>Symmetrischema tangolias</i> en tubérculo de la papa 41
Figura 6.	Ciclo biológico de <i>Symmetrischema tangolias</i> , o ciclo hometabolo: huevo, larva, pupa, polilla adulta. 42
Figura 7.	Esquema de caracterización química del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco" (screening fitoquímico preliminar) 44
Figura 8.	Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicas solubles presentes en las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco". 45
Figura 9.	Proceso de recolección de la muestra vegetal <i>Ambrosia arborescens</i> Mill "marco", hasta la obtención de la muestra seca. 46
Figura 10.	Diagrama del proceso de maceración y obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill 47
Figura 11.	Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco". 48

- Figura 12.** Esquema de crianza de *S. tangolias*, obtención de larvas de III instar de *S. tangolias*, bioensayo por contacto para el desarrollo de los datos de mortalidad. 49
- Figura 13.** Media del porcentaje de mortalidad de larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* Vs concentración (mg/L) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" – Prueba de Tuckey. 50

RESUMEN

La *Symmetrischema tangolias* "polilla de papa" es una de las principales plagas de importancia económica relativamente nueva en Perú y Bolivia, entre los 2000 a 3500 msnm, que afecta la producción de tubérculos como la papa, una de las especies cultivadas de mayor importancia en la producción agrícola del país. Dentro de la concepción del manejo ecológico de esta plaga, el uso de recursos botánicos con propiedades biocidas constituye una alternativa. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), en condiciones de laboratorio. El material vegetal se recolectó en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos del departamento de Ayacucho, y las larvas *S. tangolias* de los almacenes de papa de los pobladores del distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La identificación de la especie vegetal se realizó en el "Herbarium Huamangensis", Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNSCH, y las larvas del III Instar de *S. tangolias* se criaron e identificaron en el laboratorio de Zoología. La evaluación de la actividad biocida del extracto hidroalcohólico de *A. arborescens* se realizó por toxicidad de contacto frente a las larvas, a distintas concentraciones: 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 y 4 mg/L. El análisis de datos se realizó mediante el ANVA y Probit. Resultando que, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* es soluble en etanol; los principales componentes hallados fueron los alcaloides, con moderada presencia los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides. Asimismo las hojas de *Ambrosia arborescens* contienen 13,189 % de humedad y 0,163 % de cenizas. Las larvas de III instar de *S. tangolias* presentaron susceptibilidad frente al extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* "marco", con un máximo porcentaje de mortalidad, de 26,7%, a 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L, y con un mínimo de 10% a 0,75 mg/L, que según el ANVA y la Prueba de Tuckey ($p < 0,05$) son significativamente diferentes. La concentración letal media (CL_{50}) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco" frente a las larvas de *Symmetrischema tangolias* fue 6,14%. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* tiene efecto biocida sobre las larvas de *S. tangolias*.

Palabras claves: Biocida, extracto hidroalcohólico, larvas, polilla de papa, *Symmetrischema tangolias*, *Ambrosia arborescens* Mill.

I. INTRODUCCIÓN

Los extractos de origen vegetal han sido usados como productos insecticidas desde la antigüedad. En muchas regiones del mundo, especialmente en las comunidades indígenas, donde se produce para el autoconsumo, esta práctica se ha seguido usando a través de generaciones y representan un recurso renovable, más accesible y económico que los insecticidas químicos sintéticos. El uso de los recursos botánicos se considera, no solo como una acción curativa, sino también preventiva de las plagas y enfermedades. En este sentido el uso de los recursos botánicos con propiedades biocidas dentro de la concepción del manejo ecológico de plagas es un medio para prevenir la presencia de los organismos dañinos.¹ La abundancia de metabolitos secundarios en las plantas ofrece excelentes perspectivas para su extracción, identificación estructural y evaluación, como en este caso determinar su actividad biocida. Estos productos, además de su alta selectividad y baja persistencia ambiental, tienen especial interés debido a que podrían retrasar la aparición de resistencia, ya que están constituidos por una mezcla de varios compuestos con distinto modo de acción. Puesto que los insecticidas químicos sintéticos para el control de plagas, están produciendo efectos adversos sobre los organismos benéficos y el desarrollo de resistencias, por lo que es usual incrementar las dosis de aplicación, con riesgo para la salud pública y al ambiente.

Symmetrischema tangolias (Gyen), es una plaga relativamente nueva en el Perú y Bolivia,² generalmente se encuentra sobre los 3400 msnm.³ Su importancia ha aumentado rápidamente en los últimos años, por ello se considera ahora como una plaga de papa económicamente importante en nuestro país. El daño que ocasiona es en estado de larva que puede afectar hasta el 100 % de los tubérculos almacenados.²

Por lo tanto sobre la referencia de los componentes químicos de la *Ambrosia arborescens* "marco", que manifiestan poder tóxico, motivó a realizar pruebas de actividad biocida sobre larvas de *Symmetrischema tangolias*, relacionándose directamente con funciones de protección o defensa de los tubérculos, ya que son cultivos de importancia en la producción agrícola del país, que genera empleo directo a nivel rural, ingresos económicos, uso de medios de transporte, por su condición de ser la especie eje en la mayoría de los sistemas de producción de clima frío, la incidencia positiva en el crecimiento de la agroindustria nacional y destinado principalmente a la alimentación humana como producto fresco.

Por lo cual se ha planteado los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de la papa", en condiciones de laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los parámetros fisicoquímicos: solubilidad, componentes químicos, humedad, cenizas, del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".
- Evaluar la susceptibilidad y el porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), al ser sometidas a la acción biocida del extracto hidroalcohólico.
- Determinar la CL_{50} del extracto de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill "marco" sobre larvas de III Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Con respecto a la toxicidad de *Ambrosia arborescens* Terrones,⁴ realizó la obtención de aceite esencial de *Ambrosia arborescens*, caracterización química por GC-MS y evaluación de su toxicidad en pulgones *Aphis Medicaginis* Koch, determinando alta toxicidad y Flores⁵ evaluó el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" (Fam. Asteraceae) en larvas de III instar del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio, siendo su concentración letal (CL₅₀) 8,84 mg/L.

De acuerdo a los metabolitos secundarios identificados en *A. arborescens*, hacen referencia a el shiramool y la coronopilina con potente actividad antialimentaria contra plagas que infestan cereales,⁶ también relacionan a éstos como responsables de la actividad insecticida y antibacteriana de la planta.⁷

Vera,⁸ realizó el estudio fitoquímico de *Ambrosia arborescens* Mill, logrando aislar y caracterizar 5 lactonas sesquiterpénicas, 5 compuestos fenólicos y dos flavonoides. Cano,⁹ elucidó una espirolactona sesquiterpénica α -metilénica obtenida de *Ambrosia arborescens* Miller, determinando su actividad biológica en *Tripanosoma cruzi*. Mediante la elucidación estructural química, se da campos al estudio de las posibles actividades mediante los distintos métodos de extracción. También Camacho,⁷ evaluó la actividad insecticida del shampoo con extracto de *Sambucus nigra* L, *Franseria artemisioides* W, y *Tagetes zipaquirensis* H en *Ctenocephalides canis*".

Nieto,¹⁰ evaluó el control etológico de la polilla de la papa *Symmetrischema tangolias* y *Phthorimaea operculella* (Zeller), con feromonas en condiciones de campo. En tanto Castillo,³ determino el ciclo de vida de las "polillas de la papa" *Symmetrischema tangolias* (Gyen) y *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidópteros: Gelechiidae), bajo condiciones controladas de laboratorio.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Biocida

Agente que mata a un organismo. Son sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas, presentados en la forma que son suministrados al usuario, destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos.¹¹

2.2.2. Insecticidas

Etimológicamente, deriva del latín y significa literalmente matar insectos.¹² Los insecticidas son considerados como toda sustancia química de origen natural o sintético que se emplea para controlar una plaga.⁷ El efecto sobre la fisiología de estos organismos es complejo y tiene una serie de reacciones físico-químicas que afectan a una especie de insecto en particular.¹³

Según la FAO,¹⁴ un insecticida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización, producción de alimentos, productos agrícolas, también aquellos que se administre a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos.

2.2.2.1. Insecticidas de origen botánico

Son insecticidas naturales, derivados de plantas.⁷ Los extractos de origen vegetal han sido usados como productos insecticidas desde la antigüedad. En muchas regiones del mundo, especialmente en las comunidades indígenas donde se produce para el autoconsumo, esta práctica se ha seguido usando a través de generaciones y representan un recurso renovable, más accesible y económico que los insecticidas químicos sintéticos.¹⁵

Las plantas consideradas insecticidas, desarrollaron sustancias llamadas aleloquímicos, como mecanismo de defensa contra insectos,¹³ regulando así la presencia de insectos fitófagos, que actúan como atrayentes, estimulantes, repelentes o inhibidores de la alimentación o de la oviposición.¹²

Los insecticidas vegetales no deben ser considerados inocuos, por la gran cantidad de metabolitos tóxicos, porque una molécula se debe a la naturaleza de

su estructura química y no al origen, en su totalidad. Por ello la diferencia entre lo que mata y lo que cura es la dosis.¹²

Las diversas familias vegetales con propiedades bioinsecticidas, que entre ellas destacan Meliaceae, Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Apiaceae, Brassicaceae, Euphorbiaceae, entre otras, de las que se han aislado algunos compuestos activos.¹³

La primera generación de insecticidas de origen botánico incluye extractos y compuestos derivados de plantas tales como piretrinas, rotenoides y alcaloides. Algunos de estos compuestos fueron la base para la elaboración de insecticidas sintéticos de segunda generación, como: las piretrinas naturales obtenidas de flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Compositae) que dieron origen a los piretroides sintéticos. Entre los rotenoides, la rotenona, obtenida principalmente de las raíces de algunos géneros de la familia Leguminosae (*Derris*, *Lonchocarpus*), usadas ampliamente como insecticida. El alcaloide más importante como insecticida es la nicotina, que se extrae de las hojas de al menos 18 especies del género *Nicotiana* (Solanaceae).¹⁵

Muchas especies de plantas, pertenecientes a las familias de las meliaceas, labiadas y rutaceas, han recibido atención en los últimos años debido al hecho de que poseen numerosos terpenoides que actúan como antialimentarios, toxinas y reguladores del crecimiento de los insectos.¹⁵

2.2.2.2. Mecanismo de acción de insecticidas vegetales

Las plantas son fuente importante de compuestos químicos (metabolitos), con funciones defensivas contra insectos, tales como: alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos, y terpenoides⁷ (Ver tabla 6). Por ello la mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida,¹² de varias maneras:

- **Reguladores de crecimiento:** Efecto que se manifiesta con metamorfosis, precoz o inhibición, y alteración de la función de las hormonas, de determinadas moléculas, generando insectos con malformaciones, estériles o muertos.⁷
- **Inhibidores de la alimentación:** Modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. Generando que el insecto deje de alimentarse y muera por inanición.⁷ Muchos de los compuestos con esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África y la India.¹²

- **Repelente:** Se realiza en base a compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes como: ají, ajo, hinojo, ruda y eucalipto.⁷
- **Confusores:** Son compuestos químicos de plantas que constituyen una señal inequívoca para el insecto, para encontrar su fuente de alimento. Ejm: ubicando trampas con aspersiones de infusiones de plantas (más atractivas al insecto) o de la misma planta,⁷ y/o en recipientes, de modo que los insectos "aterricen" en las trampas y no en los cultivos.¹²

2.2.2.3. Evaluación de toxicidad de un bioinsecticida

La evaluación de la toxicidad de los plaguicidas, puede hacerse en insectos y animales superiores, para inferir sus riesgos en el hombre. Hay muchas formas de administrar insecticidas para evaluar toxicidad. El método comúnmente empleado para insectos, es la aplicación tópica, en la que el insecticida se disuelve en un solvente volátil e inocuo, como acetona. En los insectos, se puede administrar con un inyectable en el abdomen a nivel intersegmentario evitando dañar el cordón nervioso abdominal. El método de contacto o de exposición residual, es otra forma de dejar al insecto expuesto al insecticida.¹⁶

2.2.2.4. Características de un insecticida ideal

Algunas características de la planta insecticida ideal: ser perenne, de amplia distribución en la naturaleza o cultivable y no en vías de extinción, usando órganos renovables (hojas, flores o frutos), evitando uso de raíces y cortezas, con usos complementarios (como medicinales), sin alto valor económico, con efectividad a bajas dosis.¹²

2.2.3. Extractos vegetales

Los de uso agrícola pertenecen a una categoría de bioinsumos. Los extractos vegetales se componen de varias sustancias de origen natural, estos extractos se obtienen de una o varias especies de plantas que poseen diversas propiedades biocidas. Los extractos vegetales se usan para reducir el ataque de plagas y de algunas enfermedades en los cultivos.¹⁷

2.2.4. Polilla de papa

Es una mariposa, cuyas larvas dañan el follaje y los tubérculos de la papa. Es una plaga muy dañina en los almacenes. En nuestra serranía se refieren a dos tipos o especies diferentes de polilla que se diferencia por su forma y por su comportamiento. En algunas zonas los agricultores las conocen como la polilla pequeña y la polilla manchada.¹⁸

2.2.5. Probit

Es un tipo particular de regresión lineal, con el objetivo de conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración del tóxico) y una variable dependiente (la respuesta = mortalidad) para una especie y una exposición determinada. Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transforma a unidades probit (eje Y) y la concentración de tóxicos se transforma logarítmicamente (eje X). El resultado es una recta en la cual podemos interpolar el 50 % de la respuesta y conocer que concentración de tóxico causa esa respuesta (CL₅₀).¹⁹

2.2.6. DL₅₀ (Dosis Letal 50)

Dosis individual calculada estadísticamente de un agente químico o físico que se espera que provoque la muerte del 50 % de los organismos de la población. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.²⁰

2.2.7. CL₅₀ (Concentración Letal 50)

Concentración obtenida estadísticamente, de un agente químico o físico de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido del 50 % de los organismos de la población expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. Expresado en miligramos por litro (mg/L).²⁰

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Ambrosia arborescens* “marco”

2.3.1.1. Clasificación taxonómica

Fuente: “Herbarium Huamangensis”, museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias - UNSCH. (Anexo 01)

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GÉNERO	:	Ambrosia
ESPECIE	:	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.
NOMBRE VULGAR	:	“marco, marku, altamisa”

2.3.1.2. Descripción botánica

Sinonimia Botánica: *Ambrosia arborescens* Brandeg, *Ambrosia artemisioides* Willd., *Ambrosia frutescens* Lam., *Ambrosia fruticosa* Medik., *Franseria artemisioides* Willd., *Franseria conwayi* Rusby, *Gaertneria artemisioides* (Willd.) Kuntze, *Xanthium artemisioides* (Willd.) Delpino, *Xanthium fruticosum* L. f.²¹ Arbusto de 1-1.5 m de altura, rústico, verde y poco lignificado,²² sufrútices o hierbas; toda la planta presenta glándulas, aromáticas. Hojas alternas, pinnatidisectas. Flores masculinas y femeninas en cabezuelas separadas a menudo en la misma planta. Cabezuelas masculinas en espigas o racimos terminales; involucreo cupuliforme, brácteas lateralmente connatas; receptáculo con páleas. Flores masculinas modificadas, cáliz o vilano ausente, corola hialina, campanulada, 5-lobulada; estambres 5 alternado con los lóbulos de la corola; pistilodio reducido. Cabezuelas femeninas en grupos axilares en las hojas y sosteniendo los racimos masculinos; brácteas unidas y formando un receptáculo en forma de vaso; ápices de las brácteas espiniscentes, brácteas arregladas en varias formas o dispersas en el involucreo durante la fructificación; páleas ausentes; una a pocas flores. Flores femeninas reducidas, perianto ausente, androceo ausente; ovario maduro obovado, estilo corto, estigma lobulado, superficies estigmáticas papilosas, excertas a través de los ápices espinosos del involucreo. Aquenios prismáticos, con pelos uniseriados, formando complejos con el involucreo⁸ (Figura 3 del anexo).

2.3.1.3. Hábitat

Prefieren los suelos arenosos, poco fértiles, ligeramente alcalinos, y son fuertemente fotófilas. Se dan espontáneamente a la vera de los caminos,⁴ pero prefiere la cercanía de las fuentes de agua y los suelos arenosos. También con frecuencia se halla en zonas de adyacencia de muros, viviendas y cercos vivos.²²

2.3.1.4. Distribución geográfica

Ampliamente distribuida en la sierra y también en la costa peruana. Es una especie ruderal.²² También a lo largo de las regiones templadas del hemisferio norte y en el norte de Sudamérica⁸ (Figura 4 del anexo).

2.3.1.5. Composición química

En el 2007, en el Laboratorio del Departamento de Química Biorgánica y Biofarmacia de la Universidad de Pisa, realizó un estudio para determinar la

composición del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* y sus propiedades [Naranjo, no publicado] (Tabla 5). A partir de estos estudios Vera⁸ caracterizó y constató la presencia de cinco lactonas sesquiterpénicas: Damsina (C₁₅H₂₀O₃); Coronifilina (C₁₅H₂₀O₄); Psilostachina (C₁₅H₂₀O₅); Psilostachina C (C₁₅H₂₀O₄); Dihidrocoronofilina (C₁₅H₂₂O₄) y 5 compuestos fenólicos: Benzil-β-Dglucopiranosido (C₁₃H₁₈O₆); Ácido salicílico (C₇H₆O₃); p-hidroxiacetofenona (C₈H₈O₂) y entre ellos 2 flavonoides (3',4',5,7-tetrahidroxi-3,6,8-trimethoxy flavona (C₁₈H₁₆O₉); Limocitrina (C₁₇H₁₄O₈))

También De Leo *et. al.*²³ caracterizó seis compuestos:

- Eudesm-11 (13)-en-4β, 9β-diol
- 5R,16-dihidroxi-3-oxoisopimar-9(11)-eno
- 15S,16-dihidroxi-3-oxoisopimar-9(11)-eno
- 1α-hidroxi-7-oxo-iso-anhydrooplopanone
- 10α-hidroxi-11,13-dihidro-5-epi-psilostachyin
- 4β-hidroxipseudoguaian-12,6-olida-4-O-β-D-glucopiranosido.

En otros estudios realizados por Cruz,⁶ menciona que el aceite esencial presenta alcaloides, principalmente en las flores femeninas. En tanto Cano⁹ caracterizó una espirolactona sesquiterpénica α-metilénica.

2.3.1.6. Propiedades y usos

Las propiedades medicinales son: antiinflamatorio, antirreumático.^{8,24}

Los usos en medicina tradicional más practicados son: contra dolores de cabeza y migraña, baños vaginales, fiebre, estreñimiento, dolores hemorroidales externos, desórdenes de la próstata.⁸ Normaliza la falta o suspensión de la menstruación;⁷ pero en gestantes no es recomendable en infusión y/o cocimiento por peligros de abortos, sin embargo recomiendan en el momento del parto porque facilita el proceso expulsivo del feto.²⁴

El zumo, tomado evita la formación de abscesos internos de origen traumático^{6,20} y también empleado por los incas para la conservación de los cadáveres.²⁵ También se emplea contra insectos, garrapatas,⁸ pulgas (se coloca las ramas debajo de la cama).⁶

En la zona andina es usada como barrera viva contra algunas plagas.¹

2.3.1.7. Actividad biológica

La coronofilina *in vitro* posee actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus oxford*, así como contra ciertos insectos dípteros. La damsina en cambio tiene actividad moluscida y antitumoral.⁶

El shiramool y la coronopilina exhiben una potente actividad antialimentaria contra plagas que infestan cereales,⁶ también Camacho⁷ relacionó a éstos metabolitos responsables de la actividad insecticida y antibacteriana de la planta. Por otro lado, la psilostachina es activa frente a áfidos (*Macrosiphum euphorbiae*) y ácaros (*Tetranychus urticae*).⁶

Ambrosia arborescens, también presenta acción antiparasitaria frente al *Tripanosoma cruzi*,⁹ actividad antihelmíntica²⁰ y un débil efecto contra larvas de *Aedes aegypti*.²⁶

2.3.1.8. Toxicidad

La presencia de sesquiterpenos y monoterpenos en el aceite esencial manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, contribuido por la presencia de otros monoterpenos como las tujonas. Realizando pruebas de actividad alelopática frente a otras especies, dando un resultado positivo; pudiendo estar esta actividad simultáneamente relacionada con funciones de protección o defensa de las plantas contra ataques de microorganismos e insectos.⁸

2.3.2. *Symmetrischema tangolias*

2.3.2.1. Clasificación taxonómica

Fuente: Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria México.²

PHYLUM	:	Arthropoda
SUBPHYLUM	:	Mandibulata
CLASE	:	Insecta
ORDEN	:	Lepidoptera
SUB ORDEN	:	Frenatae
DIVISIÓN	:	Heleroneura
SUPERFAMILIA	:	Gelechioidea
FAMILIA	:	Gelechiidae
TRIBU	:	Gnorimoschemini
GÉNERO	:	<i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen 1913)

NOMBRE COMÚN : “polilla de la papa”, “polilla gigante de la papa”.

2.3.2.2. Aspectos generales

Sinonimias: *Symmetrischema plaesiosema* (Turner 1919), *Gnorimoschema tuberosella* (Busck, 1931), *Phthorimaea melanoplinta* (Meyrick 1926), *Symmetrischema aquilium* (Meyrick 1917)

Symmetrischema tangolias, fue reportada por primera vez en América del Sur, en el Valle del Mantaro y después en otras zonas altas de los Andes del Perú, Bolivia, Colombia,^{2, 3} Chile y Ecuador) también ha sido reportada en Australia, Estados Unidos donde todavía no son considerados como plagas³ y en Nueva Zelanda.² (Figura 5 del anexo)

La dispersión de larvas y pupas pueden movilizarse en los tubérculos cuando son cosechados y los adultos se movilizan a través del vuelo.²

Las plantas hospederas incluyen una serie de especies de la familia solanáceas. Además de la papa, planta huésped principal (*Solanum tuberosum* L.), la polilla ataca también a tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), Pepino (*Solanum muricatum* L.), poroporo (*Solanum aviculare* L. y *Solanum laciniatum* L.), tabaco, berenjena, ají, tomatillo, chamico y capulí cimarrón.¹⁰

2.3.2.3. Ciclo vital y morfología

El ciclo biológico dura alrededor de un mes, y al año se pueden reproducir hasta ocho generaciones.¹⁰

Symmetrischema tangolias, posee un período de incubación que varía de 7 días (23°C) a 17 días (12°C) mientras que el período de larva varía de 23 días (23°C) a 57 días (12°C). El estado de pupa varía de 14 días (23°C) a 31 días (12°C). El ciclo completo desde que el huevo fue depositado hasta que emerge el adulto puede durar de 44 días (23°C) a 105 días (12°C) lo que permite a la plaga desarrollar de 3 a 5 generaciones al año. La longevidad de los adultos varía de 11 a 30 días. La hembra puede poner de 90 a 250 huevos.²⁷

Durante su ciclo de vida, pasa por una metamorfosis completa (holometábolo) que comprende cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto²⁸ (Ver Figura 6 del anexo).

- **Huevos:** mide aproximadamente 0,7 mm de longitud y 0,4 mm de diámetro, presentando la superficie del corión esculpida,²⁷ con hendiduras circulares.²⁹ El huevo recién colocado es de color blanco perlado adquiriendo una coloración

anaranjada-amarilla y un tono plumizo oscuro cuando se aproxima a la etapa final del desarrollo embrionario.²⁷

- **Larva:** Comprende cinco instares larvales, en el primer instar mide 1 mm de longitud color blanco cremosa, cabeza más ancha que el resto del cuerpo, setae (pelos o cerdas) apenas visible.²⁹ La larva es de forma cilíndrica ligeramente aplastada dorso-ventralmente, conformada por 13 segmentos (3 torácicos y 10 abdominales); así mismo presenta tres pares de patas torácicas y cinco pares en el abdomen, el último estadio de color verde celeste a verde dominante, con cinco franjas rojizas, atravesando toda la longitud del cuerpo¹⁰ alcanzando hasta 13 mm de longitud.^{27, 29} Cápsula cefálica de coloración bruno oscura a café brillante, con aparato bucal del tipo masticador.¹⁰

En el último instar, la larva abandona el tubérculo a través de orificios de salida circulares y forman un capullo de seda que recubren con tierra u otras partículas; mantienen su forma pero pierden su movilidad y dejan de comer, fase que se conoce como prepupa; luego se van transformando hasta pasar al estado de pupa.

Esta es la única forma dañina,¹⁸ ocasionando daños barrenando tallos y tubérculos. La larva puede afectar hasta el 100 % de los tubérculos almacenados en los años de sequía.²

- **Pupa:** es momificada u obtecta, con coloración bruno claro brillante de 7,5 mm de longitud,^{27, 29} ésta se forma dentro del capullo formado por la larva donde ocurre la metamorfosis de larva a pupa y de pupa a adulto.²⁸ Al completar su desarrollo, la larva sale del órgano infestado para formar un capullo con hilos de seda. También puede empupar en el órgano infestado (tallo o tubérculo).²⁷

- **Adulto:** En promedio el adulto mide 19,2 mm de envergadura alar para las hembras y para los machos de 18,3 mm, el cuerpo está cubierto por escamas de color grisáceo, con una mancha triangular¹⁰ marrón oscuro²⁷ en el margen costal a 2 mm²⁹ de la base de la ala .y cubriendo parcialmente el ancho del ala.¹⁰ Abdomen pubescente.

El adulto es nocturno,^{10, 29} vuela rápidamente cuando siente vibraciones. La cópula se inicia a pocas horas después de la emergencia. Está ocurre a partir del atardecer intensificándose durante la noche.²⁹

La hembra oviposita en los brotes de plantas tiernas, mientras que en plantas desarrolladas lo hace de preferencia en el haz de las hojas, también sobre sacos o directamente en los tubérculos.²⁹

2.3.2.4. Problemática económica y agronómica de las plagas

Es una plaga relativamente nueva en el Perú y Bolivia, pero su importancia ha aumentado rápidamente en los últimos años. Consideradas como una plaga de papa económicamente importante, por los daños que causa tanto en campo como en almacén.²

Los daños ocasionados producen pérdida de peso y calidad.² Las larvas ocasionan daños en:

- **Hojas**, producen minas de forma irregular.³
- **Tallos**, desde el interior expulsan sus excrementos al exterior, los cuales están unidos por hilos de seda, y acumulándose sobre el orificio de entrada. Se alimentan vorazmente de la médula. Provocando la desecación de la planta, ya que se alimentan del floema y perjudican el flujo de la savia en la planta.³
- **Tubérculos**, construye pequeñas galerías, expulsando inicialmente sus excrementos al exterior, que son acumulados en el orificio de entrada por medio de hilos de seda. La pulpa muestra numerosas galerías con acumulación de excremento. Los tubérculos infestados muestran un alto contenido de agua, adquieren un sabor amargo, pierden su valor alimenticio y comercial.³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Zoología y en el laboratorio de Toxicología del Área Académica de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas, ubicados en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el distrito de Ayacucho, ubicado políticamente en la provincia de Huamanga - Región Ayacucho.

- Las larvas de *Symmetrischema tangolias* fueron obtenidos de los almacenes de papa de los pobladores, durante el mes de mayo, del distrito de Chiara, provincia de Huamanga, Región de Ayacucho (coordenadas: 13°16'13" S; 74°12'12" O; 3,516 msnm).
- Las hojas de la planta *Ambrosia arborescens* Mill "marco", fueron recolectadas durante el mes de abril, en el distrito de Vinchos (anexo de Anchacchuasi), provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 151 msnm (Coordenadas 13°10'27.33" S; 74°12'10.58" O; 2761 msnm).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Hojas de la planta *Ambrosia arborescens* Mill "marco", libres de plaguicidas y mantenidas naturalmente por los campesinos agricultores del distrito de Vinchos (anexo de Anchacchuasi), provincia de Huamanga – Ayacucho.

3.2.2. Muestra

5 Kg de hojas secas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", previamente identificadas en el "Herbarium Huamangensis", Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2.3. Unidad de análisis

Larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de papa", cada 10 a 15 larvas del III instar representaran una repetición.

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Recolección y mantenimiento del material biológico

a) Obtención de hojas de *Ambrosia arborescens*

La recolección de las hojas y tallos de la planta, se realizó en el anexo Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a primeras horas de la mañana y colocadas en bolsas de papel, etiquetadas con las características geográficas de la zona de recolección de la muestra para posteriormente transportarlas. Las partes representativas de la planta fueron prensadas utilizando una prensa de madera portátil con la finalidad de llevar a cabo la identificación taxonómica.

El material vegetal, una vez en el laboratorio de Farmacia, fue almacenado en un ambiente limpio, con buena ventilación y a temperatura ambiente hasta su secado completo; previamente se procedió al lavado de las hojas y tallos de la planta con una solución de agua e hipoclorito de sodio (mezcla de 1000:1), posteriormente fueron colocadas sobre papel absorbente limpio, cambiando el papel inicialmente a la hora y luego cada 24 horas y removiendo el material vegetal para evitar su descomposición por un periodo de 15 días.

b) Obtención de larvas de *Symmetrischema tangolias*

Se colectó a partir de las papas infestadas con larvas de *Symmetrischema tangolias* de los almacenes de papa de los pobladores, colocándolos en tapers rectangulares conteniendo en la base arena fina lavada y desinfectada con agua hervida sobre la cual se colocaron los tubérculos infestados; para la crianza y obtención polillas adultas.

Posteriormente obtenido las polillas adultas, se seleccionaron cuidadosamente las polillas de la especie *Symmetrischema tangolias*, procediéndose a colocar entre machos y hembras en los envases plásticos de crianza individual de 1000 cm³ conteniendo papas sanas de variedad peruanita con peso promedio entre 40 a 50 g, previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1,5 %. Las polillas adultas fueron alimentadas con una solución azucarada (miel, polen, jalea y agua), mediante una tira interna ubicada en el envase, con la finalidad de generar colocación de huevos sobre las yemas de los tubérculos y así obtener larvas de acuerdo al ciclo biológico.

Posteriormente desarrolladas las larvas se realizó el aislamiento de larvas del III instar de *S. tangolias*, de los tubérculo infestados, los que se cortaron cuidadosamente en forma circular, para obtener las larvas del III de *S. tangolias* necesarias para las pruebas experimentales (Figura 12 del anexo).

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* Mill

La muestra desecada de las hojas y tallos fueron molidas utilizando el molino de cuchillas, luego tamizado a través de un tambor cernidor N° 200 para homogenizar el diámetro de las partículas y permitir su posterior maceración (figura 10 del anexo). Se pesó 60 g del tamizado que fue macerado en 200 mL de alcohol al 95 % durante tres días en constante agitación.

El extracto obtenido fue filtrado, y recogido en una botella de vidrio de color ámbar y almacenado en refrigeración a 4 °C. Al residuo restante del filtrado se le añadió 200 mL de alcohol al 95 % permitiendo su maceración por dos días a fin de lograr una mayor cantidad de producto extraíble, siguiendo los pasos de obtención del extracto inicial, lográndose una cantidad adicional de extracto alcohólico. Finalmente los extractos obtenidos fueron reunidos y el excedente del alcohol presente en la muestra fue evaporado utilizando un equipo de baño María a temperatura menor de 40 °C hasta llegar a una concentración alcohólica de 0° (Figura 10 del anexo).

3.3.3. Determinación de parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* Mill.

3.3.3.1. Screening fitoquímico

Obtenido los aceites esenciales y demás sustancias hidroalcohólicas solubles presentes en las hojas y tallos de la planta en estudio, se llevó a cabo la identificación de los compuestos químicos (screening fitoquímico) a fin de relacionar la presencia de dichos componentes con las características biocidas. El análisis de los aceites esenciales y las sustancias hidroalcohólicas y su identificación correspondiente se realizó siguiendo los procedimientos descritos por Miranda *et. al.*³⁰ y Lock³¹ (Figura 7 del anexo).

Para el tamizaje fitoquímico se contó con la colaboración de la Sección Química Orgánica Aplicada a la Farmacia del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, quienes nos apoyaron en la confirmación de los

componentes químicos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* Mill “marco” (Figura 7 del anexo).

3.3.3.2. Determinación de solubilidad, humedad, residuos

a) Solubilidad: se determinó en base a los términos descriptivos que se encuentran establecidos de acuerdo a descripción y solubilidad de artículos de la USP 37 y del NF. Se determinó con solventes polares y apolares.

b) Humedad: Se determina el porcentaje de pérdida por secado de la muestra vegetal, de acuerdo al procedimientos de Miranda et al.³⁰

$$\%H = \frac{(W_1 - W_2)}{(W_1 - W_0)} \times 100$$

W₀= Placa Petri vacío

W₁= Placa Petri vacío más la muestra (1 g)

W₂=Placa vacío más la muestra después de llevar a estufa.

c) Residuos: Se determina el porcentaje de residuos por incineración de la muestra vegetal, de acuerdo al procedimientos de Miranda et al.³⁰

$$\% = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100$$

W₀= Crisol vacío

W₁= Crisol vacío más la muestra.

W₂= Crisol vacío más la muestra después de llevar a la mufla (600°C).

3.3.4. Diseño experimental

El diseño experimental fue adecuado a un factorial de AxB; donde A=larvas de III instar de *Symmetrischema tangolias*, B=diluciones del extracto hidroalcohólico.

3.3.5. Evaluación de la actividad biocida

Toxicidad por contacto

Para este propósito se acondicionó tapers limpios de 1000 cm³ con tubérculos sanos. Prosiguiendo con la separación de 10 larvas del III instar por vaso, que equivalen a un grupo de tratamiento, realizando tres repeticiones por grupo. Las dosis a evaluar fueron: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L; que se aplicaron con un asperjador de 5 ml de cada dosis del biocida vegetal.

Para el Blanco del ensayo se realizó el mismo procedimiento, reemplazando el extracto por agua.

Se evaluó durante 7 a 15 días, para determinar la mortalidad y/o susceptibilidad de las larvas del III instar de *S. tangolias*, por grupo de tratamiento. Las larvas fueron consideradas muertas pasado los 7 a 15 días tomaban una coloración negruzca y sin movimiento.

El bioensayo se realizó bajo condiciones de oscuridad para evitar el efecto de fotólisis de los bioplaguicidas.³²

3.4. Análisis de datos

3.4.1. Determinación del porcentaje de mortalidad

Sobre los datos obtenidos en las pruebas de capacidad biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* en el control de larvas de III instar de *Symmetrischema tangolias*, se calculó la mortalidad para cada dosis formulada a través de la aplicación de la siguiente ecuación

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{N^{\circ} \text{ Larvas muertas}}{N^{\circ} \text{ Larvas expuestas}} \times 100$$

Con la finalidad de establecer si existen diferencias estadísticas en las mortalidades generadas en cada una de las dosis del producto biocida evaluado, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza ($p < 0,05$). En vista de haberse hallado significancia para la respuesta evaluada y a fin de determinar a qué concentración ocurrió la mayor mortalidad de las larvas de *Symmetrischema tangolias*, se procedió a realizar la prueba de Tukey por comparación de medias a un nivel de significancia de 95 % ($p < 0,05$), utilizando el procedimiento del paquete estadístico SPSS 15.

Adicionalmente se elaboraron cuadros y gráficos estadísticos descriptivos de tendencia central y de dispersión de la mortalidad hallada en cada dosis de producto evaluado.

3.4.2. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀)

Para el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀), se utilizó el método de análisis Probit con la ayuda del paquete estadístico MINITAB 16. El método Probit nos permitió estimar el CL₅₀ ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia.¹⁶

IV. RESULTADOS

Tabla 1: Características físicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco"

ENSAYOS	EXTRACTO
Descripción del extracto	Extracto blando de color verde oscuro, con olor característico.
Humedad o residuo seco	13,19 %
Cenizas	0,16 %

Tabla 2: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Componentes químicos	Resultados	Observaciones
Alcaloides	(+++)	Abundante
Triterpenos y esteroides	(++)	Moderado
Saponinas	(++)	Moderado
Compuestos fenólicos	(+)	Trazas
Taninos	(++)	Moderado
Aminoácidos libres	(+)	Trazas
Quinonas	(+)	Trazas
Lactonas sesquiterpénicas	(+)	Trazas
Glicósidos	(+++)	Abundante
Flavonoides	(++)	Moderado

Tabla 3: Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Disolvente	Término descriptivo
Agua	Muy poco soluble
Etanol	Soluble
Metanol	Fácilmente soluble
1-butanol	Prácticamente insoluble
Eter etílico	Poco soluble
Cloroformo	Moderadamente soluble
Cloruro de metileno	Poco soluble
Acetona	Insoluble

(*) Los términos descriptivos están establecidos de acuerdo a la descripción y solubilidad de artículos de la USP 37 y del NF.³³

Tabla 4: Porcentaje de mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias* de 7 a 15 días de evaluación, según las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Concentración (mg/L)	Densidad larval inicial (N°)	% de mortalidad	Promedio de Mortalidad (%)
0,75	10	10	10
	10	10	
	10	10	
	10	20	
1	10	10	13,3
	10	10	
	10	20	
	10	10	
1,5	10	10	13,3
	10	10	
	10	10	
	10	10	
2	10	10	13,3
	10	20	
	10	30	
	10	10	
2,5	10	30	26,7
	10	20	
	10	30	
	10	20	
3,0	10	30	26,7
	10	20	
	10	30	
	10	30	
4,0	10	30	26,7
	10	30	
	10	30	
	10	20	

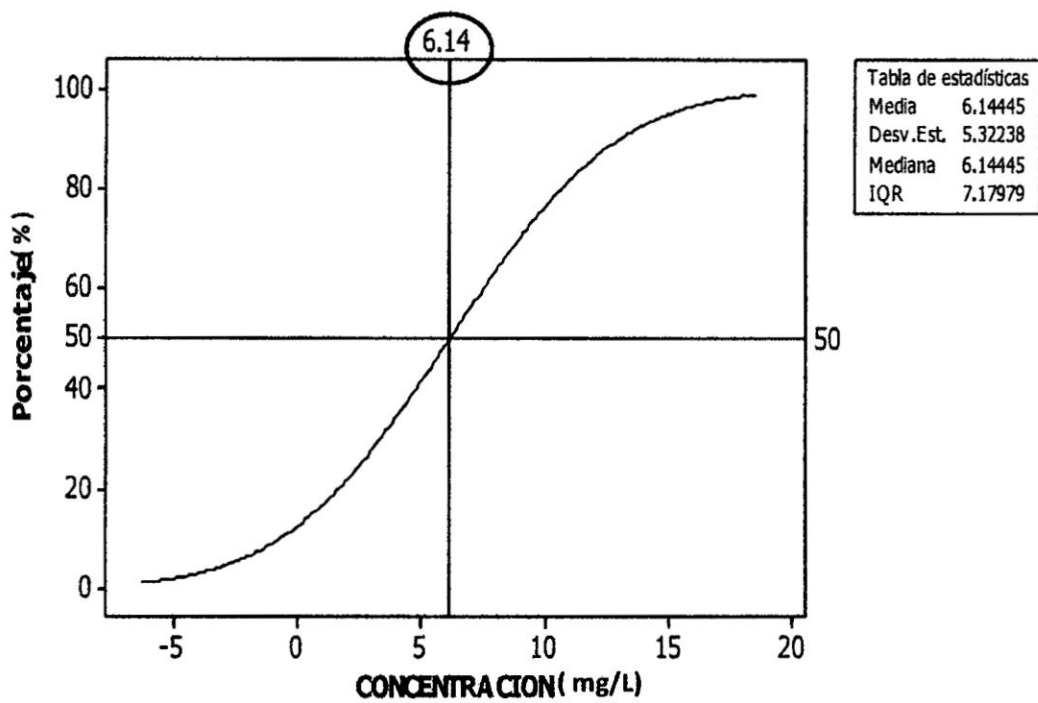


Figura 1: Porcentaje de mortalidad de larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* Vs. concentración (mg/L) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

V. DISCUSIÓN

Las hojas de *Ambrosia arborescens* muestran un porcentaje de humedad de 13,19% (Tabla 1), valor que se encuentra dentro de los parámetros establecidos por la USP 37³⁵ para las drogas (8 – 14 %) que evita el crecimiento bacteriano; en tanto se corroboró que Cruz⁶ determinó el porcentaje de humedad de 7,37%, en la misma especie vegetal. En la determinación de cenizas, el proceso de pesado se repitió dos veces sucesivas hasta obtener un peso constante y no difieran en más de 0,5 mg/g³² (Tabla 1).

Gonzales *et al.*³⁶ demostró que los polvos de las hojas de la planta 89-1-XIV de una especie de la familia asterácea, aplicados al 1% presentan efecto antiinsecto en el *Sitophilus zeamais*. Lo cual asoció a la presencia de compuestos, como son los grupos α -aminos, fenólicos, alcaloides, triterpenos/esteroides y taninos; lo cual avala la capacidad biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* que de acuerdo al tamizaje fitoquímico (Tabla 2) muestra la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides y glicósidos en cantidad abundante, mientras los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides en cantidad moderada y otros componentes en trazas (lactonas sesquiterpénicas, quinonas, compuestos fenólicos y aminoácidos libres).

La literatura científica revisada que se encuentra al alcance de nuestro medio, no reporta estudios sobre las concentraciones de la planta *Ambrosia arborescens*, para el control de insectos de importancia toxicológica.

Por lo que para realizar el bioensayo, las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* fueron establecidas teniendo en cuenta que, al aplicar un biocida de origen vegetal o sintético de manera directa o indirecta contra la plaga a combatir también afecta a la planta y al tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum*). Por ello se tomó como referencia al codex alimentario en relación al Límite Máximo Residual (LMR) que nuestro país sigue como norma, ya que ésta establece el Límite Máximo de Residuos de

plaguicidas dentro o en la superficie de los alimentos y, en algunos casos, en los piensos, porque tiene la finalidad primordial de proteger la salud humana y animal.³⁷

Se utilizaron larvas del tercer instar de *Symmetrischema tangolias*, puesto que los primeros estadios de los lepidópteros son los más vulnerables, además de la composición estructural (como los aminoácidos) y bioquímica de la superficie del integumento de las larvas que varían según el estadio larval en el que se encuentren y la proximidad a la muda.³⁸

Según la literatura se ha de mostrado que en el Perú la polilla de la papa es la especie insectil más utilizada para evaluar la efectividad de diferentes plantas con propiedades biocidas,³⁴ debido a que el auge de la Agricultura Ecológica en los países industrializados, autoriza el uso de estos compuestos, haciendo resurgir su interés económico y la búsqueda de plantas con nuevas actividades insecticidas.¹⁶

En el presente trabajo, el porcentaje de mortalidad de larvas del tercer Instar de *S. tangolias* (Gyen) al ser sometidas a la acción biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* "marco" a: 0,75 mg/L presenta 10% de mortalidad, mientras que a las concentraciones de 2,5 mg/L, 3,0 mg/L, 4,0 mg/L presentan 26,7% de mortalidad, lo cual muestra una tendencia de dosis dependiente. Así mismo Flores,⁵ reportó porcentajes de mortalidad de 54 a 58% de larvas del III instar de *Culex quinquefasciatus* de 9,0 a 10,0 mg/L, también con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco", a un volumen de 5mL por 100mL de agua de criadero.

De acuerdo al análisis de varianza (Tabla 7 del anexo) realizado con el software SPSS 15, el porcentaje de mortalidad de las larvas del tercer Instar de *S. tangolias* muestra una significancia de 0,002 que es menor de 0,05 lo cual indica que existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens*. Lo cual avala en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), siendo a 2,50; 3,00 y 4,00 mg/L significativamente diferentes y con mejores resultados, con respecto a las demás concentraciones (Figura 13 del anexo).

Estudios recientes precisan que algunos aceites esenciales o sus constituyentes producen síntomas específicos que sugieren que estarían actuando como neurotóxicos³⁹ y, en particular, los monoterpenos, actúan sobre los receptores de la octopamina, lo cual los convierte en productos altamente selectivos dado que

este tipo de receptores no está presente en los vertebrados.⁵ De esta manera, el sistema octopaminérgico presente en los insectos se convierte en un blanco biorracional para su control.³⁹ Por ello, informes anteriores refieren que algunos aceites esenciales afectan a la reproducción de *Phthorimaea operculella* cuando los aceites se aplican sobre larvas,⁴⁰ cabe resaltar que esta especie pertenece a la misma categoría taxonómica y al complejo de plagas de la papa en el que se encuentra la *Symmetrichesma tangolias*.

En cuanto a la acción tóxica del extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* sobre las larvas de *Symmetrischema tangolias*, probablemente se deba a la presencia de los alcaloides, pues Flores⁵ menciona que los alcaloides son compuestos que muestran una estructura química variable, y que por definición se dice que son biomoléculas que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos el cual dentro del metabolismo normal de las plantas no se transforman totalmente en proteína vegetal, sino que continúa su circulación en la savia o se fija en algunas partes de la planta, por lo que pueden combinarse con moléculas de azufre formando heterósidos cianogénicos. Muchas de estas moléculas son las que causan intoxicaciones en humanos y animales. Generalmente actúan sobre el sistema nervioso central, algunos afectan al sistema nervioso parasimpático y otras al sistema nervioso simpático.

La concentración letal media (CL₅₀) para la población de larvas de *Symmetrischema tangolias* fue establecida en 6,14mg/L como la más recomendable; de acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de Probit (Figura 1) con un límite de confianza al 95 %. Por lo tanto es factible afirmar que los metabolitos secundarios son los responsables de su actividad biocida, que responde a la acción sinérgica de los triterpenos y alcaloides; además de los glicósidos que son sustancias que intervienen en los fenómenos de óxido-reducción, así como en el crecimiento y fecundación de las plantas. Así mismo Flores⁵ determinó la concentración letal media (CL₅₀) 8,84 mg/L como la más recomendable para generar una mortalidad del 50 % de la población de larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus* presentes en los criaderos naturales y artificiales de la ciudad de Ayacucho. En comparación a éste resultado, la CL₅₀ obtenida en el presente trabajo es a menor concentración, lo cual resulta grato y superior. Además cabe señalar que este estudio se realizó

con la misma especie vegetal, pero en otra categoría taxonómica de insectos, lo cual nos ayuda a validarlo.

Por otra parte, los metabolitos secundarios pueden cumplir también una función semioquímica, ya que constituyen un mecanismo de interacción con el resto de seres vivos de su entorno que se manifiesta en formas diversas: efectos alelopáticos, efecto atrayente o repelente de insectos, etc. lo cual constituye un factor más de heterogeneidad.^{8, 39}

Vera⁸, en el estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador *Ambrosia arborescens* hace referencia a la composición rica en monoterpenos en pequeñas concentraciones, destacando una concentración muy importante de la crisantenona y en porcentajes representativos de sesquiterpenos como γ -curcumeno y D-germacreno. La presencia de estos componentes manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, contribuyendo a esta actividad la presencia de otros monoterpenos como las tujonas. Realizando así pruebas de actividad alelopática frente a otras especies, dando un resultado positivo, pudiendo estar esta actividad simultáneamente relacionada con funciones de protección o defensa de las plantas, contra ataques de microorganismos e insectos. Es por ello, que trabajos desarrollados en otras realidades y con diferentes plantas, podrían ayudarnos a entender la aplicabilidad del control biocida de los extractos de origen vegetal comparativamente con los encontrados en la presente investigación.

Mendoza,⁴¹ hace referencia a estudios realizados, con extracto etanólico de artemisa vulgar *Ambrosia cumanensis* a dosis de 100 mg mL⁻¹, que reduce el 50% de pupas de la palomilla de la papa *Phthorimaea operculella*, sin embargo para el picudo de chile *Anthonomus eugenii* no hay efecto tóxico con macerados e infusiones acuosos de hojas de *A. cumanensis*, a dosis de 100 mg mL⁻¹.

En los compuestos azufrados de los *Allium* (familia Liliáceas), como el ajo, se valora el efecto de los productos puros, pues la actividad insecticida observada es de dos órdenes: actúan sobre la fisiología del insecto y sobre el comportamiento locomotor, por ello en la especie *Phthorimaea operculella* el extracto del ajo tiene una actividad tóxica.⁴²

Segovia *et. al.*⁴³ evaluó la actividad biocida de ocho especies vegetales sobre larvas de polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera:Gelechiidae) en almacén, tratados por inmersión e infestados con 10 larvas del primer estadio. Donde la comparación de la mortalidad promedio

causada por las plantas: *Erythrina edulis* (extracto etanólico y metanólico), *Salvia styphelus* (extracto etanólico) y *Paranephelius uniflorus* (infusión) obtuvieron mayor actividad biocida, mientras la comparación de mortalidad causada por las siete concentraciones (2; 4; 8; 12; 16; 20 y 40 g/L) mostró eficiencia de los extractos, se incrementaron conforme se incrementaron las concentraciones. Es entonces preciso destacar que *S. tangolias* y *P. operculella* pertenecen a la misma categoría taxonómica (Familia Gelechiidae), por lo que las proximidades fisiológicas y evolutivas son muy cercanas una de otra, razón válida para asumir que la concentración del producto biocida estudiado podría ser funcional para ambos grupos de insectos en la concentración propuesta.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" es soluble en etanol; los principales componentes hallados fueron los alcaloides, con moderada presencia los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides. Asimismo, las hojas de *Ambrosia arborescens* contienen 13,189 % de humedad y 0,163 % de cenizas.
2. Las larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* presentaron susceptibilidad frente al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco", con un máximo porcentaje de mortalidad, de 26,7%, a 2,5 mg/L; 3,0 mg/L y 4,0 mg/L, y con un mínimo de 10% a 0,75 mg/L.
3. La concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco" frente a las larvas de *Symmetrischema tangolias* fue 6,14 %.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar los test de actividad biológica, correspondientes de los compuestos en forma particular, que permitan determinar cuán tóxicos son y de esta forma poder orientar el uso que se les puede dar a los principios activos de la planta a nivel farmacológico y agronómico.
2. Realizar otros bioensayos con solventes de menor polaridad y mayor porcentaje de extracción de lactonas sesquiterpénicas, que presenta una actividad tóxica.
3. Realizar bioensayos en forma comparativa usando tipos de metodología y determinar la mejor aplicabilidad de metodologías sobre larvas de *Symmetrischema tangolias*.
4. Informar acerca de los resultados obtenidos, mediante cursos básicos de capacitación, a las poblaciones agrícolas, en las cuales se usa el marco para medicina popular, de tal forma que se le dé un buen uso y evitar accidentes por intoxicación o envenenamiento.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gomero OL. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas en Arning I, Velázquez H. (eds.). Plantas con potencial biocida: metodologías y experiencias para su desarrollo. Gráfica Sttefany. Lima. 2000.
2. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-CNRF). México D.F.; 2012. Ficha de categorización: SAGARPA – SENASICA.
3. Castillo Yépez GM. Determinación del ciclo de vida de las “polillas de la papa” *Symmetrischema tangolias* (GYEN) y *Tecia solanivora* (POVOLNY) (LEPIDÓPTEROS: GELECHIDAE), bajo condiciones controladas de laboratorio [tesis de grado]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2004.
4. Terrones DHE, Cano T. investigación para la obtención de aceite esencial de *Ambrosia arborescens* Mill (marco), caracterización química por GC-MS y evaluación de su toxicidad en pulgones *Aphis medicaginis* Koch. En: XXV Congreso Peruano de Química “Ing. Quím. M.Sc. Dionisio Ugaz Mont”. Centro Cultural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Sociedad Química del Perú; 2010.p. 85.
5. Flores Cisneros KS. Actividad biocida del extracto hidroalcohólico de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” (Fam. Asteraceae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). [Tesis de grado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2014.
6. Cruz Ati PF. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiquietia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. [Tesis de pregrado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2009.
7. Camacho Vilcacundo DP. Determinación de la actividad insecticida del shampoo con extracto de *Sambucus nigra* L. *Franseria artemisioides* W, y *Tagetes zipaquirensis* H en *Ctenocephalides canis*. [Tesis de grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011.
8. Vera Saltos MB. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens* [Tesis de grado]. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército – Ecuador; 2008.
9. Cano T. Caracterización de una espirolactona sesquiterpénica α -metilénica obtenida de *Ambrosia arborescens* Miller y evaluación de su actividad biológica en *Tripanosoma cruzi*. Revista de la Sociedad Química del Perú 2014; 80 (2).
10. Nieto Navarrete JC. Evaluación del control etológico de la polilla de la papa *Symmetrischema tangolias* y *Phthorimaea operculella* (Zeller), con feromonas en condiciones de campo en Challabamba – Paucartambo – Cusco. [Tesis de grado] Cusco: Proyecto aprovechamiento y manejo sostenible de la reserva de biosfera y Parque Nacional del Manu; 2002.
11. Séjourné V. Productos Biocidas: Nuestros Aliados en la Salud y la Higiene ¿cuándo y dónde? se necesitan [Internet]. Bruselas: ec.europa.eu; 2009 [acceso el 9 noviembre de 2013]. Disponible en: <http://ec.europa.eu/environment/biocides/index.htm>
12. Ortuño TME. Determinación de la actividad biológica del extracto acuoso de saúco *Sambucus nigra* L. como repelente y/o insecticida en *Lasius niger* L. [Tesis de grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo; 2006.
13. Lizana RDR. Elaboración y evaluación de extractos del fruto de *Melia azedarach* L. como insecticida natural [Tesis de grado]. Chile: Universidad de Chile; 2005.
14. OMS (Organización Mundial de la Salud). Resistencia de los Vectores de Enfermedades a los Plaguicidas. 15º Informe del Comité de Expertos de la OMS

- en Biología de Vectores y Lucha Antivectorial (Serie de Informes Técnicos N° 818). Ginebra; 1992.
15. Caballero GC. Efectos de Terpenoides Naturales y Hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera:Chrysomelidae) y "*Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera:Nocturnae). [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2004.
 16. Lagunes TA, Villanueva JJA. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados. México; 1994. p. 257.
 17. Abad FG, Piedra MA. Obtención de extractos vegetales por arrastre de vapor como agentes para control de plagas en cultivos hortícolas. [Tesis de Grado]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2011.
 18. Centro Internacional de la papa (CIP). Así vive la polilla de la papa. Hoja divulgativa N° 3. Lima: .Programa de manejo integrado de plagas.
 19. Alonso FA. Cálculo de las concentraciones letales 50 (CL₅₀) a 96 horas para la toxicidad del nitrito en dos especies de invertebrados de agua dulce (*Eulimno gammarustoletanus* y *Polycelis felina*). [monografía en internet]. Alcalá: Universidad de Alcalá; 2012 [acceso 11 de setiembre de 2013] Disponible en: <http://alvaroalonsodocencia.wikispaces.com/Probit-CL50>
 20. Puma Cárdenas A. Determinación de la actividad antihelmíntica *in vitro* de los extractos de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marcu" frente a *Fasciola hepática*. [monografía en internet]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011 [acceso 19 de agosto de 2014]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/118845335/DETERMINACION-DE-LA-ACTIVIDAD-ANTIHELMINTICA-IN-VITRO-DE-LOS-EXTRACTOS-DE-LAS-HOJAS-DE-Ambrosia-arborescens-Mill-MARCU-FRENTE-A-Fasciolahepatica>
 21. Missouri Botanical Garden. [base de datos en línea]. St. Louis City: Learn Discover. [acceso 2 de setiembre de 2012]. Disponible en: <http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening.aspx>
 22. Reynel RR. Plantas para Leña en el Sur-occidente de Puno. Puno: Proyecto arbolandino; 1988.
 23. De Leo M, Saltos MB, Puente BF, De Tommasi N, Braca A. Sesquiterpenes and diterpenes from *Ambrosia arborescens* en Phytochemistry. [Monografía en internet] USA: Science Direct; 2010. [accesado 10 de noviembre de 2013]. Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=.62257797.&_sort=v&_st=17&view=c&_origin=related_art&panel=citeRelatedArt&_acct=C000228598&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=28145e6ac4ad83d238a0b616022e0cf8&searchtype=a
 24. Arteta BMC. Etnobotánica de Plantas Vasculares en el Centro Poblado Llachón, Distrito Capachica, Departamento Puno, 2007 – 2008 [Tesis de grado]. Puno: Universidad Nacional de san Agustín de Arequipa; 2008.
 25. Carhuapoma M, Angulo P. Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: perspectiva de desarrollo en la región Los Libertadores Wari. Agencia de Cooperación para la Agricultura (IICA). Proyecto IICA-GTZ "orientación de la investigación agraria hacia el desarrollo alternativo. 1999.
 26. Orozco OL, Lentz DL. Poisonous plants and their uses as insecticides in Cajamarca, Perú in Economic Botany. [Internet]. 2005 [acceso 19 octubre de 2013] 59(2). Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1663%2F0013-0001%282005%29059%5B0166%3APPATUA%5D2.0.CO%3B2?LI=true#page-1>

27. Vargas FME. Caracterización de tres cepas de *Bauveria brongniartii* (Sacardo) Petch y su virulencia en *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen). [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
28. Cuartas OPE. Estudio del desarrollo de la infección y del efecto de la formulación de aislamientos de granulovirus sobre *Tecia solanivora* (Povolny) y *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera.:Gelechiidae). [Tesis de grado]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana; 2006.
29. Barragán AR. Identificación, biología y comportamiento de las polillas de la papa en el Ecuador. Ecuador: PROMSA-MAG, PUCE, Genesis; 2005.
30. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Editorial Félix Varela. Universidad La Habana. La Habana-Cuba. 2000.
31. Lock de UO. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima. 1994.
32. Iannacone J, Lamas G. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. Entomotropica 2003; 18°(2).
33. USP 37. Farmacopea de los Estados Unidos revisión 37 – Formulario Nacional y sus Suplementos 2014.
34. Gonzales S, Pino O, Herrera R.S, Valenciaga N, Fortes D, Sánchez Y. Una especie de la familia Asteraceae (89-1-XIV) con actividad antiinsecto frente a la palga *Sitophilus zeamais*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, La Habana. 2010, 44(2): 195-199
35. Síntesis de la legislación de la UE [base de datos en línea]. Europa: Límites máximos de plaguicidas para los productos destinados a la alimentación humana o animal; 2011. URL disponible en:
http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/plant_health_checks/121289_es.htm
36. Trujillo RPA, Zapata RLN, Hoyos SRA, Yepes RFC, Capataz TJ, Orozco SF. Determinación de la DL₅₀ y TL₅₀ de Extractos Etanólicos de Suspensiones Celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. Revista Facultad Ciencias Agropecuarias, Medellin. 2008, 61(2): 4564-4575.
37. Espitia YCR. Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas (*Cymbopogon citratus* y *Tagetes lucida*) utilizados contra *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:tenebrionidae).[Tesis Magister]. Cartagena de Indias, D.T. y C; 2011.
38. Nahed AE, Tarek RA, Iman MH. Biochemical Influences of Some Volatile Oils on Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) [Monografía en internet]. New York: Science Alert, 2001; [accesado 5 de noviembre del 2013]. Disponible en:
<http://scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2001.983.985> .
39. Mendoza GE. Toxicidad y repelencia de extractos vegetales para el control de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera:Aleyrodidae). [Monografía en internet]. México: Universidad Politécnico Nacional, 2010. [accesado 20 de agosto 2013]. Disponible en:
http://www.ciidiroaxaca.ipn.mx/pdf/posgrado/12A_EDGAR_MENDOZA_GARCIA.pdf
40. Tello MJC, Palmero LL, García RA, De Cara GM. Biopesticidas obtenidos de las plantas, un resultado más de la coevolución. Actualidad y utilidad. En: Tello MJC,

- Camacho FF, coordinadores. Organismo para el control de patógenos en los Cultivos protegidos: prácticas culturales para una agricultura sostenible. España: Fundación Cajamar, 2010. p. 81-105
41. Segovia RI, Palacios LM, Lagnaoui A, Castillo VJ. Actividad Biocida de Extractos Vegetales Sobre Larvas de Pollilla de la Papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera:Gelechiidae), en Cajamarca, Perú. Revista Peruana Entomológica, Setiembre 2003; 43: 89-93.

ANEXOS

ANEXO 01



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

CERTIFICA

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Violeta, VILLANUEVA BAUTISTA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist, A.1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Ambrosia
ESPECIE	:	<i>Ambrosia arborescens Mill.</i>
N.V.	:	"marco"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 5 de Setiembre del 2012

Figura 2: Certificado de la clasificación taxonómica de *Ambrosia arborescens* Mill. según el Sistema de Clasificación de Cronquist A.1988

ANEXO 02

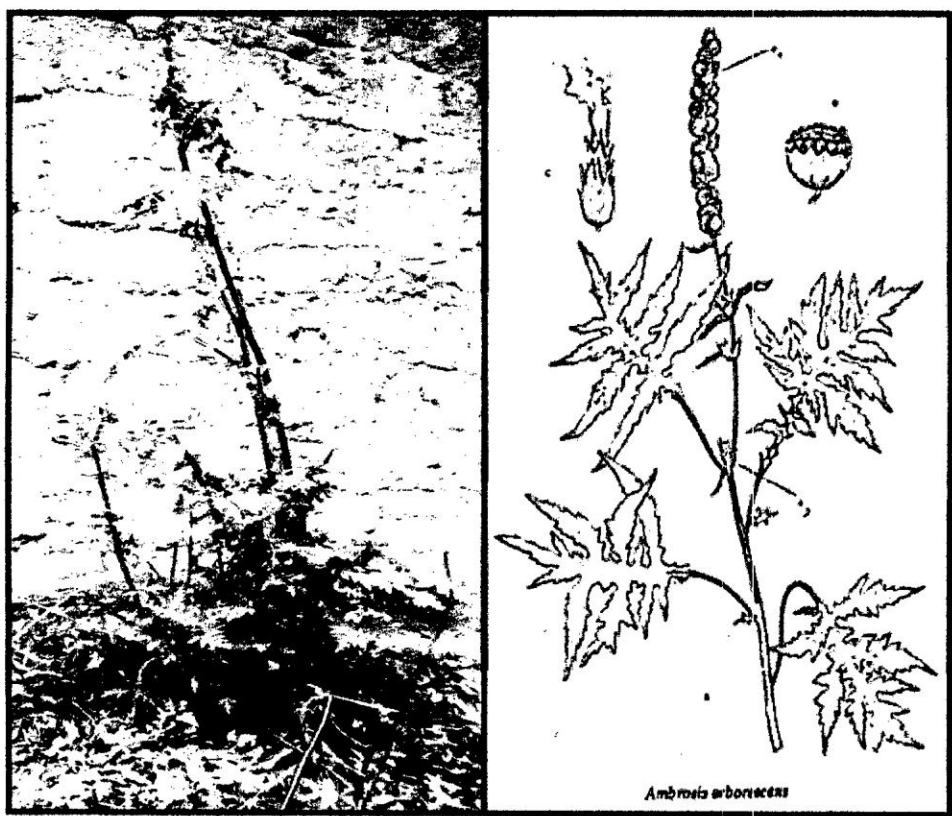


Figura 3: Arbusto de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", fotografiada en la localidad de Anchacchuasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho

ANEXO 03



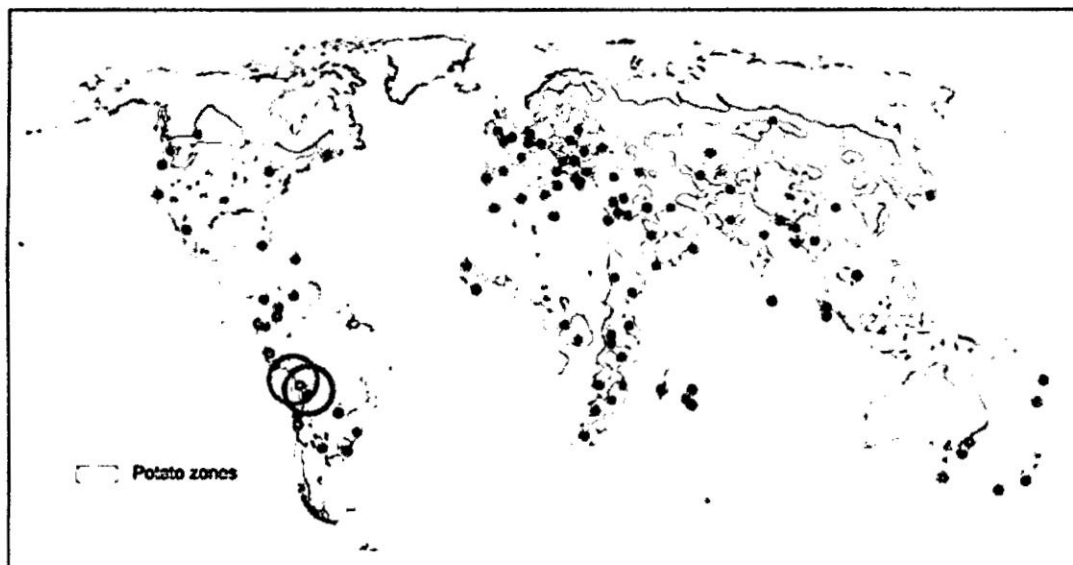
Figura 4: Distribución geográfica de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" (en las zonas sombreadas de color verde).⁴⁸

ANEXO 04

Tabla 5: Identificación de la composición química de aceites esenciales de *Ambrosia arborescens* Mill “marco”, realizado en el Laboratorio del Departamento de Química Biorgánica y Biofarmacia de la Universidad de Pisa.⁴⁸

Constituyentes	%	Constituyentes	%
(E)-2-hexenal	0.7	α -copaeno	Tr
santolina trieno	2.4	Dauceno	Tr
α -tujona	0.3	β -bourboneno	Tr
α -pineno	1.1	β -cubebeno	0.4
Carfeno	0.3	metil eugenol	Tr
Artemiseol	3.1	Italiceno	0.2
β -pineno	Tr	<i>cis</i> - α -bergamoteno	Tr
6-metil-5-hepten-2-ona	Tr	β -cariofileno	0.9
Mirceno	3.6	β -gurjuneno	tr
Octanal	Tr	<i>Trans</i> - α -bergamoteno	tr
α -felandreno	2.1	Aromadendreno	tr
α -terpineno	0.2	(E)-geranil acetona	0.3
p-cimeno	0.3	(E)- β -farnesano	0.4
Limoneno	1.0	α -humuleno	0.3
γ -terpineno	0.4	γ -curcumeno	20.3
<i>cis</i> -sabineno hidrato	0.4	germacreno D	18.7
Terpinoleno	1.3	β -selineno	0.2
2,6-dimetil fenol	4.2	Bicidlogermacreno	0.5
Nonanal	Tr	α -muroleno	tr
Crisantenona	20.9	(E,E)- α -farnesano	0.8
α -campolenal	Tr	β -bisaboleno (germacreno A)	0.2
<i>cis</i> -verbenol	Tr	10-epi-italiceno éter	0.3
Crisantenol	Tr	δ -cadineno	0.2
4-terpineol	0.2	β -sesquifelandreno	tr
α -terpineol	Tr	acor-4-eno-6,11-oxido (italiceno éter)	0.6
<i>trans</i> -carveol	Tr	Espatuleno	0.5
timol metil éter	Tr	cariofileno oxido	0.2
cumin aldehído	Tr	Carotol	0.5
(E)-2-decanal	Tr	tau-cadinol	Tr
Piperitenona	Tr	α -cadinol	0.2
Eugenol	Tr	epi- α -bisabolol	0.2
Ciclosativeno	Tr	Total	88.4
			%

ANEXO 05



Leyenda:

- *Symmetrischema tangolias*
- *Phthorimaea operculella*
- *Ticio colcnivora*

Figura 5: Principales zonas productoras de papa y países con ocurrencia reportada de *Symmetrischema tangolias* en tubérculo de la papa.¹³

ANEXO 06

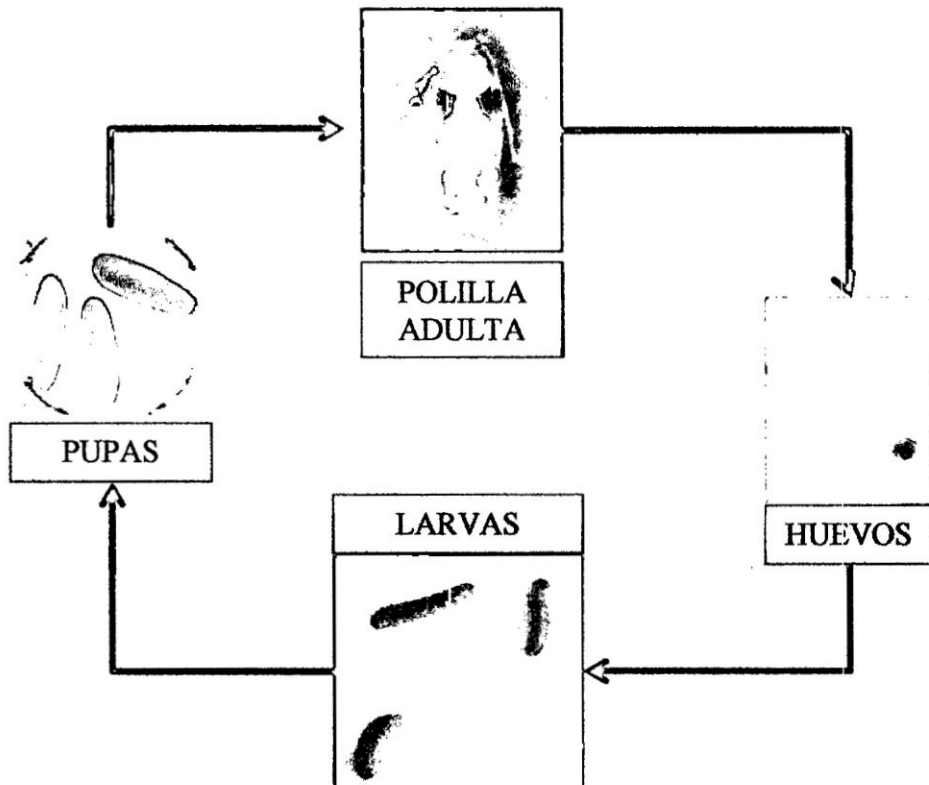


Figura 6: Ciclo biológico de *Symmetrischema tangolias*, o ciclo homotabolo: huevo, larva, pupa, polilla adulta.

ANEXO 07

Tabla 6: Modo de acción de los metabolitos secundarios sobre insectos.¹⁶

COMPUESTO	MODO DE ACCIÓN
Alcaloides	Interferencia con la replicación del DNA
	Interferencia con el transporte en membranas
	Inhibición de enzimas
	Agonista de la acetil colina
Flavonoides	Inhibición de la NADH deshidrogenasa en el transporte respiratorio de e ⁻
	Repelentes y disuasorios
Terpenoides	Interfieren en la producción de la hormona de la muda y de la hormona juvenil
	Inhibidores de la síntesis de quitina
	Inhibición de enzimas digestivas
Glicosidos cianogénéticos	Inhibición de la citocromo oxidasa en el transporte respiratorio de e ⁻
Glucosinolatos	Repelentes y disuasorios
Cumarinas	Reaccionan de forma irreversible con el ADN
Taninos y ligninas	Reductores de la digestibilidad
Quinonas	Reductores de la digestibilidad
Piretrinas	Actúan sobre los canales de sodio de las neuronas interfiriendo con la transmisión de impulso nervioso
Saponinas	Repelentes y disuasorios
	Alteran la estructura de membranas

ANEXO 08

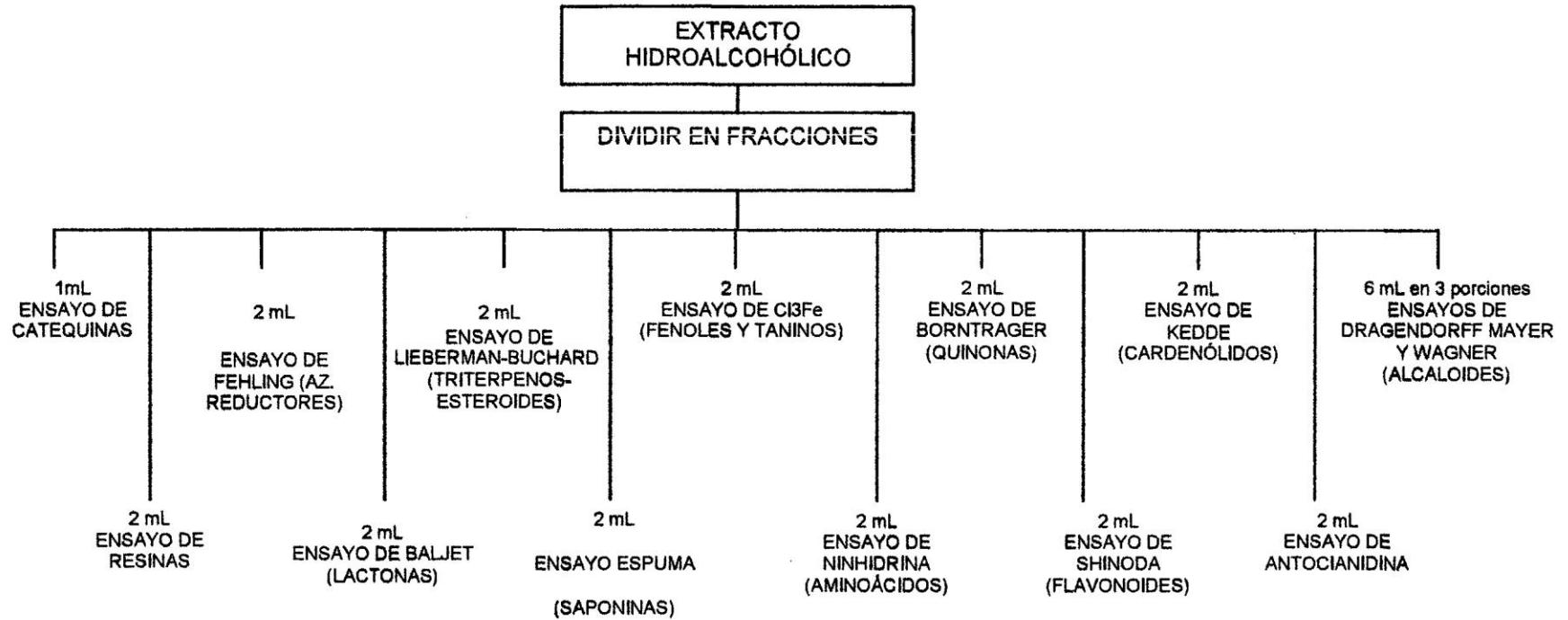




Figura 7: Esquema de caracterización química del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill "marco" (screening fitoquímico preliminar).^{32, 33}

ANEXO 09



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
INSTITUTO DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y RECURSOS NATURALES+
SECCION QUIMICA ORGANICA APLICADA A LA FARMACIA
TAMIZAJE FITOQUIMICO


Muestra : Extracto hidroalcohólico

ANALITO	RESULTADOS
Alcaloides	+++
Triterpenos y Esteroides	++
Saponinas	++
Compuestos fenólicos	+
Taninos	++
Aminoácidos libre	+
Quinonas	+
Lactonas sesquiterpénicas	+
Glicósidos	+++
Flavonoides	++

Leyenda (+) (-) (+) (+) (+) (-)

Trazas	Cantidad moderada	Cantidad abundante	No detectable
--------	-------------------	--------------------	---------------

Lima, 09 Septiembre del 2013



Q.F. Fritz Choquesillo Peña
Jefe Laboratorio Terpenos y Esteroides

Figura 8: Tamizaje fitoquímico de los componentes hidroalcohólicos solubles presentes en las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill "marco".

ANEXO 10

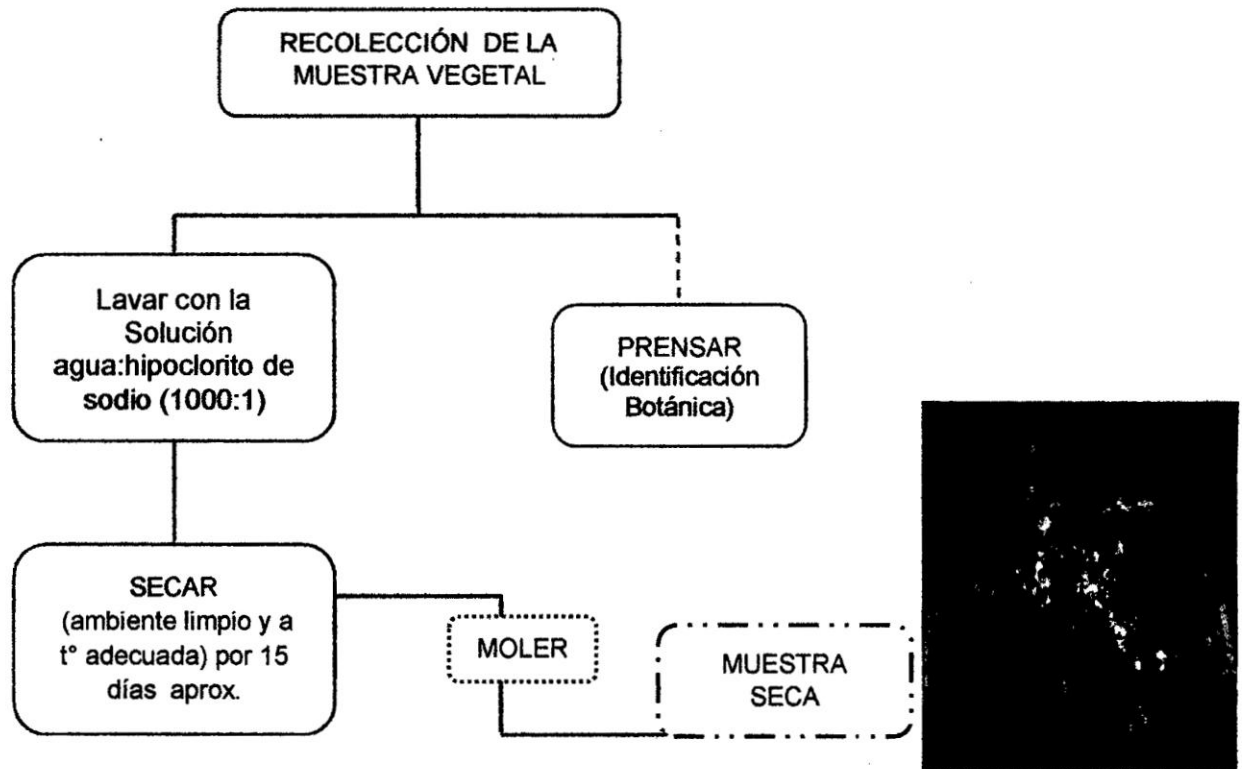


Figura 9: Proceso de recolección de la muestra vegetal *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", hasta la obtención de la muestra seca.

ANEXO 11

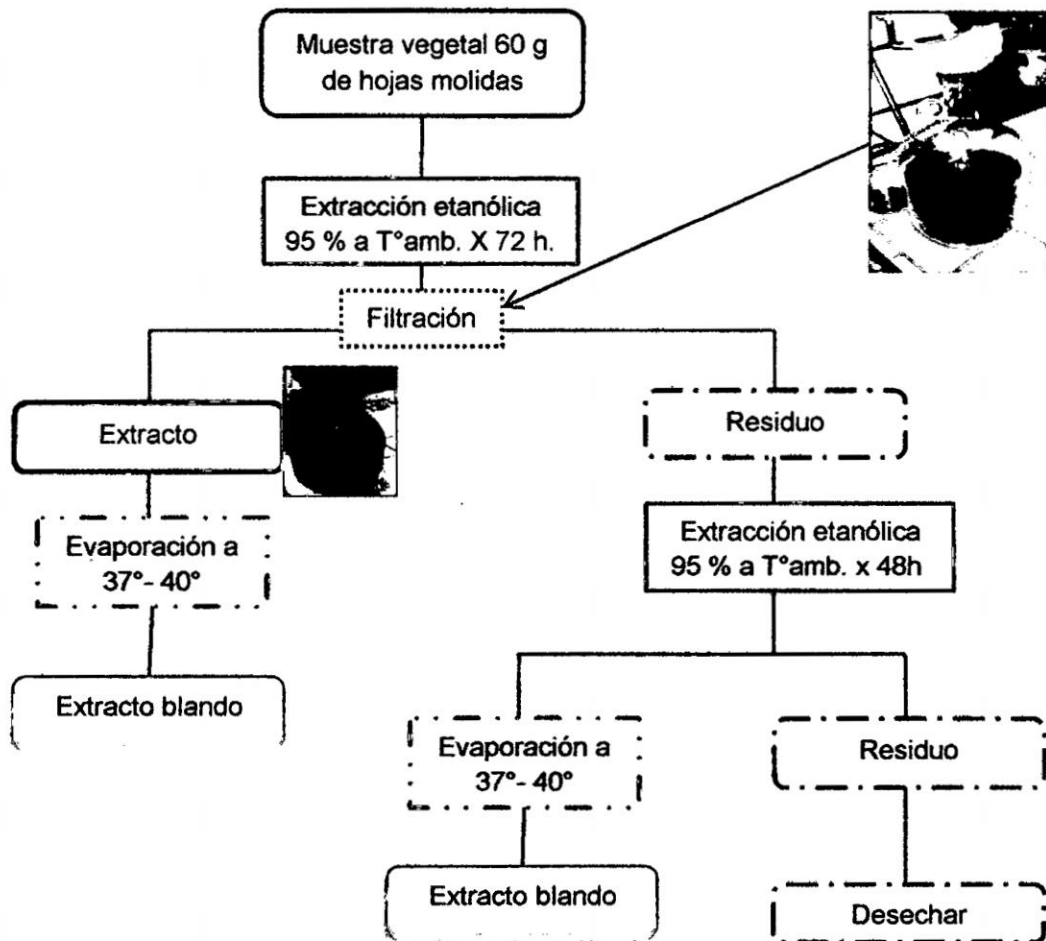


Figura 10: Diagrama del proceso de maceración y obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

ANEXO 12



Figura 11: Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

ANEXO 13

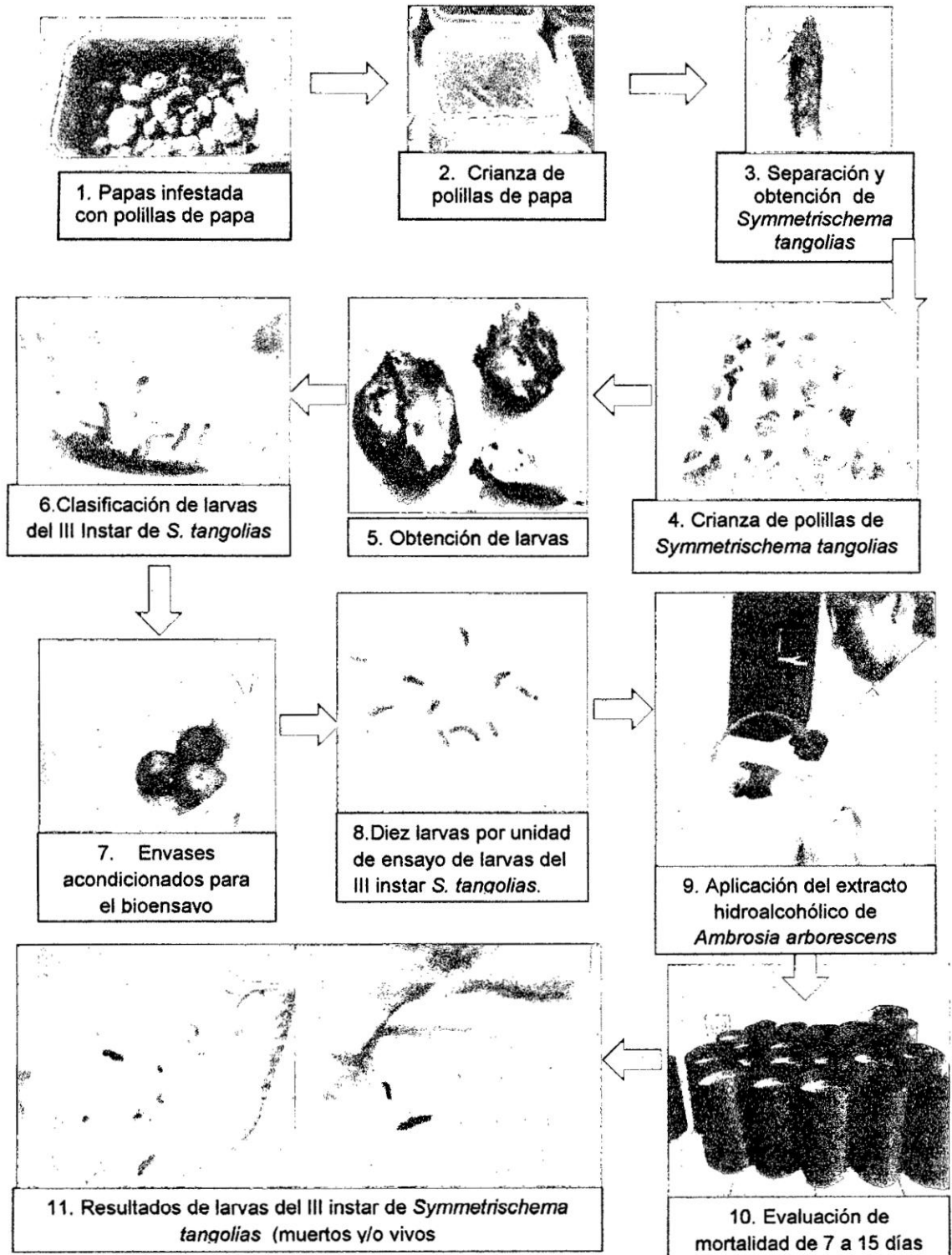


Figura 12: Esquema de crianza de *S. tangolias*, obtención de larvas de III instar de *S. tangolias*, bioensayo por contacto para el desarrollo de los datos de mortalidad.

ANEXO 14

Tabla 7: Análisis de varianza ($p < 0,05$) de la mortalidad de larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* en relación a la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

	SUMA DE CUADRADOS	GL	MEDIA CUADRÁTICA	F	SIG.
Entre grupos	1057,143	6	176,190	6.167	0.002
Dentro de grupos	400,000	14	28,571		
Total	1457,143	20			

ANEXO 15

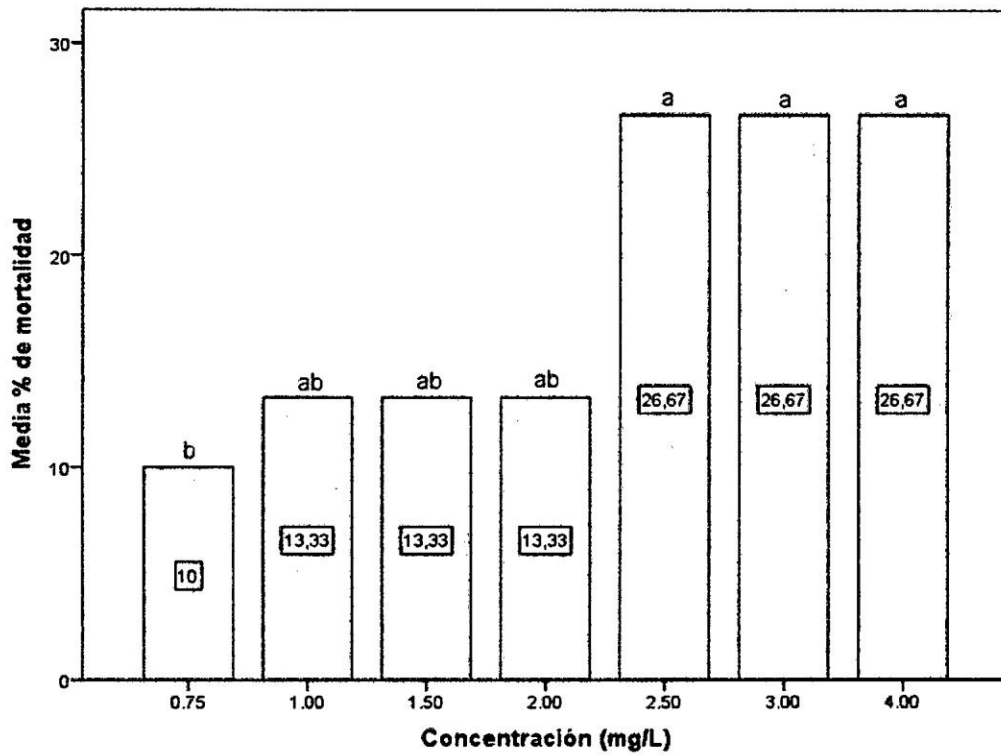


Figura 13: Media del porcentaje de mortalidad de larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* Vs concentración (mg/L) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" – Prueba de Tuckey.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de la papa", Ayacucho 2012.</p>	<p>¿Tendrá efecto biocida el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" sobre las larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa"?</p>	<p>GENERAL:</p> <p>Determinar el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" sobre larvas de polilla de la papa <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen), en condiciones de laboratorio.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>-Evaluar los parámetros fisicoquímicos: solubilidad, componentes químicos, humedad, cenizas, del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco".</p> <p>-Evaluar la susceptibilidad y el porcentaje de mortalidad de las larvas de tercer Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen), al ser sometidas a la acción biocida del extracto hidroalcohólico.</p> <p>-Determinar la CL₅₀ del extracto de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" sobre larvas de tercer Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen).</p>	<p>INSECTICIDA:</p> <p>Etimológicamente, deriva del latín y significa literalmente matar insectos²⁷. Los insecticidas son sustancias con propiedades biocidas para los insectos. Su efecto sobre la fisiología de estos organismos es complejo y tiene una serie de reacciones físico-químicas que afectan a una especie de insecto en particular²⁸.</p> <p><i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco":</p> <p>Arbusto de 1-1.5 m de altura, rústico, verde y poco lignificado¹⁹, sufrútices o hierbas; toda la planta presenta glándulas, aromáticas. Hojas alternas, pinnatidisectas. Flores masculinas y femeninas en cabezuelas separadas a menudo en la misma planta. Aquenios prismáticos, con pelos uniseriados, formando complejos con el involucro⁴.</p> <p><i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen):</p> <p><i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen), es una plaga relativamente nueva en el Perú y Bolivia, se encuentra entre los 2000 a 3500 m.s.n.m., disminuyendo a mayores altitudes². Su importancia ha aumentado rápidamente en los últimos años, por ello se considera ahora como una plaga de papa económicamente importante en nuestro país. El daño que ocasiona es en estado de larva que puede afectar hasta el 100 % de los tubérculos almacenados.</p> <p>El ciclo biológico dura alrededor de un mes, y al año se pueden reproducir hasta ocho generaciones⁶. Durante su ciclo de vida, pasa por una metamorfosis completa (holometábolo) que comprende cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto²⁶.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" tiene efecto biocida sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa", en condiciones de laboratorio.</p>	<p>INDEPENDIENTE Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"</p> <p>Indicadores: Concentraciones expresadas en ppm.</p> <p>DEPENDIENTE: Efecto insecticida en larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen).</p> <p>Indicadores: Número de larvas muertas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen).</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN: Experimental básico.</p> <p>POBLACIÓN: Hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" del anexo de Anchac-huasi, distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 3300 m.s.n.m.</p> <p>MUESTRA: 6 Kg de hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco", que fueron identificados y clasificados en el Laboratorio de Botánica de la E.F.P. de biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.</p> <p>Unidad de análisis: Larvas del III instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa", cada 10 a 15 larvas del III instar representaran una repetición.</p> <p>Análisis estadístico: Los resultados serán analizados por regresión Probit para determinar la CL₅₀, ANOVA para ver si difieren significativamente entre sí, y Duncan para la comparación de todas las medias.</p>

Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de la papa”. Ayacucho 2012.

Violeta Villanueva Bautista¹, Marco Arones Jara¹, Yuri Ayala Sulca².

¹E.F.P. Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias de la Salud, UNSCH. Ayacucho, Perú.

²E.F.P. Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, UNSCH. Ayacucho, Perú.

RESUMEN

La *Symmetrischema tangolias* “polilla de papa” es una de las principales plagas de importancia económica relativamente nueva en Perú y Bolivia, entre los 2000 a 3500 msnm, afecta la producción de tubérculos como la papa, una de las especies cultivadas de mayor importancia en la producción agrícola del país. Dentro de la concepción del manejo ecológico de esta plaga, el uso de recursos botánicos con propiedades biocidas constituye una alternativa. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), en condiciones de laboratorio. El material vegetal se recolectó en el Centro Poblado de Anchacchuasi, distrito de Vinchos de la región de Ayacucho, y las larvas *S. tangolias* de los almacenes de papa de los pobladores del distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La identificación de la especie vegetal se realizó en el “Herbarium Huamangensis”, Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNSCH, y las larvas del III Instar de *S. tangolias* se criaron e identificaron en el laboratorio de Zoología. La evaluación de la actividad biocida del extracto hidroalcohólico de *A. arborescens* se realizó por toxicidad de contacto frente a las larvas, a distintas concentraciones: 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 y 4 mg/L. El análisis de datos se realizó mediante el ANVA y Probit. Resultando que, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* es soluble en etanol; los principales metabolitos hallados fueron los alcaloides, con moderada presencia los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides. Asimismo las hojas de *Ambrosia arborescens* contienen 13,189 % de humedad y 0,163 % de cenizas. Las larvas de III instar de *S. tangolias* presentaron susceptibilidad frente al extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* “marco”, con un máximo porcentaje de mortalidad, de 26,7%, a 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L, y con un mínimo de 10% a 0,75 mg/L, que según el ANVA y la Prueba de Tuckey ($p < 0,05$) son significativamente diferentes. La concentración letal media (CL_{50}) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* “marco” frente a las larvas de *Symmetrischema tangolias* fue 6,14%. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* tiene efecto biocida sobre las larvas de *S. tangolias*.

Palabras claves: Biocida, extracto hidroalcohólico, *Symmetrischema tangolias*, *Ambrosia arborescens* Mill.

SUMMARY

Symmetrischema tangolias also called “potatoe’s moth” is one of the major and newest plagues with economical implications in Peru and Bolivia, between 2000 – 3500 meters above sea level. It affects the production of tubers like potatoes, which is an important crop in our agriculture. Currently, botanical sources with biocide activity offer an interesting alternative to ecologically fight those plagues. This work due to determine the biocide activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”. against *Symmetrischema tangolias* (Gyen) grubs under lab conditions. The row material was collected in Anchacchuasi town, District of Vinchos. And, *Symmetrischema tangolias* grubs comes from warehouse in Chiara town, Huamanga Province, both in the Region of Ayacucho. *Herbarium Huamangensis* – UNSCH identified the botanical specie. The grubs of the II Instar were raised and identified in the Zoology lab. The biocide activity was assess by contact toxicity against the grubs in different concentrations: 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 y 4 mg/L, the data were analyzed by ANOVA and Probit. The extract is soluble in ethanol. Alkaloids, moderate presence of triterpenoids and steroids, saponins, tannins and flavonoids were identified as secondary metabolites. The leaves of *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” contain 13,189 % moisture and 0,163 % ash. The grubs of the II Instar of *Symmetrischema tangolias* express susceptibility in face of the hydroalcoholic extract of *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” leaves with a maximum mortality percentage of 26,7% in 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L and an minimum of 10 % in 0,75 mg/L ($p < 0,05$). The median lethal concentration (LC_{50}) was 6,14%. To conclude we can said that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” has biocide activity against *Symmetrischema tangolias* grubs.

KEY WORDS: Biocide, hydroalcoholic extract, *Symmetrischema tangolias*, *Ambrosia arborescens* Mill.

INTRODUCCIÓN

Los extractos de origen vegetal han sido usados como productos insecticidas desde la antigüedad. En muchas regiones del mundo, especialmente en las comunidades indígenas, donde se produce para el autoconsumo, esta práctica se ha seguido usando a través de generaciones y representan un recurso renovable, más accesible y económico que los insecticidas químicos sintéticos. El uso de los recursos botánicos se considera, no solo como una acción curativa, sino también preventiva de las plagas y enfermedades. En este sentido el uso de los recursos botánicos con propiedades biocidas dentro de la concepción del manejo ecológico de plagas es un medio para prevenir la presencia de los organismos dañinos.¹ La abundancia de metabolitos secundarios en las plantas ofrece excelentes perspectivas para su extracción, identificación estructural y evaluación, como en este caso determinar su actividad biocida. Estos productos, además de su alta selectividad y baja persistencia ambiental, tienen especial interés debido a que podrían retrasar la aparición de resistencia, ya que están constituidos por una mezcla de varios compuestos con distinto modo de acción. Puesto que los insecticidas químicos sintéticos para el control de plagas, están produciendo efectos adversos sobre los organismos benéficos y el desarrollo de resistencias, por lo que es usual incrementar las dosis de aplicación, con riesgo para la salud pública y al ambiente.

Symmetrischema tangolias (Gyen), es una plaga relativamente nueva en el Perú y Bolivia,² generalmente se encuentra sobre los 3400 msnm.³ Su importancia ha aumentado rápidamente en los últimos años, por ello se considera ahora como una plaga de papa económicamente importante en nuestro país. El daño que ocasiona es en estado de larva que puede afectar hasta el 100 % de los tubérculos almacenados.²

Por lo tanto sobre la referencia de los componentes químicos de la *Ambrosia arborescens* "marco", que manifiestan poder tóxico, motivó a realizar pruebas de actividad biocida sobre larvas de *Symmetrischema tangolias*, relacionándose directamente con funciones de protección o defensa de los tubérculos, ya que son cultivos de importancia en la producción agrícola del país, que genera empleo directo a nivel rural, ingresos económicos, uso de medios de transporte, por su condición de ser la especie eje en la mayoría de los sistemas de producción de clima frío, la incidencia positiva en el crecimiento de la agroindustria nacional y destinado principalmente a la alimentación humana como producto fresco.

OBJETIVO:

Determinar el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de la papa", en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra: 5 Kg de hojas secas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", previamente identificadas en el "Herbarium Huamangensis", Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Unidad Experimental: Larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de papa", cada 10 a 15 larvas del III instar, representaran una repetición.

Diseño Metodológico:

La recolección de las hojas y tallos de la planta, se realizaron en el anexo de Anchacchuasi, distrito de

Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. En tanto la obtención del extracto se realizó a partir de las hojas desecadas, molidas, tamizadas, y maceradas, cada 60 gr en 200 mL de alcohol al 95 % durante tres días en constante agitación, hasta la obtención del extracto, que posteriormente fue evaporado en un baño maría a 40° C hasta obtener el extracto blando.

Los parámetros fisicoquímicos: solubilidad, metabolitos secundarios, humedad y cenizas, de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", se determinaron siguiendo los procedimientos descritos por Miranda *et al.*⁴ y Lock⁵.

Las larvas de *Symmetrischema tangolias* fueron obtenidos de los almacenes de papa de los pobladores, durante el mes de mayo, del distrito de Chiara, provincia de Huamanga, Región de Ayacucho: Los cuales fueron acondicionados en tapers rectangulares conteniendo en la base arena fina lavada y desinfectada con agua hervida sobre la cual se colocaron los tubérculos infestados; para la crianza y obtención polillas adultas. Luego se seleccionó polillas adultas de la especie *Symmetrischema tangolias*, procediendo a colocar entre machos y hembras en los envases plásticos de crianza individual de 1000 cm³ conteniendo papas sanas de variedad peruanita con peso promedio entre 40 a 50 g, previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1,5 %. Las polillas adultas fueron alimentadas con una solución azucarada (miel, polen, jalea y agua), mediante una tira interna ubicada en el envase, con la finalidad de generar colocación de huevos sobre las yemas de los tubérculos y así obtener larvas de acuerdo al ciclo biológico.

La evaluación de la actividad Biocida se realizó por toxicidad por contacto. Para este propósito se acondicionó envases limpios de 1000 cm³ con tubérculos sanos. Prosiguiendo con la separación de 10 larvas del III instar por vaso, equivalentes a un grupo de tratamiento, realizando tres repeticiones por grupo. Las dosis evaluadas: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L; que se aplicaron con un asperjador de 5 ml de cada dosis del biocida vegetal.

Para el Blanco del ensayo se realizó el mismo procedimiento, reemplazando el extracto por agua.

Se evaluó durante 7 a 15 días, para determinar la mortalidad y/o susceptibilidad de las larvas del III instar de *S. tangolias*, por grupo de tratamiento. Las larvas fueron consideradas muertas pasado los 7 hasta 15 días tomaban una coloración negruzca y sin movimiento.

El bioensayo se realizó bajo condiciones de oscuridad para evitar el efecto de fotólisis de los bioplaguicidas.⁶

Diseño Experimental: El diseño experimental fue adecuado a un factorial de AxB; donde A=larvas de III instar de *Symmetrischema tangolias*, B=diluciones del extracto hidroalcohólico.

Los datos obtenidos serán sometidos al análisis de varianza (ANVA), prueba de Tukey para comparar la diferencia entre grupos, para la determinación del porcentaje de mortalidad. El análisis se realizó usando el software SPSS 15 a un nivel de confianza del 95% (p<0,05). En tanto para el cálculo de la concentración letal media (CL₅₀), se utilizó el método de análisis Probit con la ayuda del paquete estadístico MINITAB 16.

RESULTADOS

Se determinó: la humedad o residuo seco obteniendo 13,19 % y el porcentaje de cenizas 0,16 %, en las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Componentes químicos	Resultados	Observaciones
Alcaloides	(+++)	Abundante
Triterpenos y esteroides	(++)	Moderado
Saponinas	(++)	Moderado
Compuestos fenólicos	(+)	Trazas
Taninos	(++)	Moderado
Aminoácidos libres	(+)	Trazas
Quinonas	(+)	Trazas
Lactonas sesquiterpénicas	(+)	Trazas
Glicósidos	(+++)	Abundante
Flavonoides	(++)	Moderado

Tabla 2: Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Disolvente	Término descriptivo
Agua	Muy poco soluble
Etanol	Soluble
Metanol	Fácilmente soluble
1-butanol	Prácticamente insoluble
Éter etílico	Poco soluble
Cloroformo	Moderadamente soluble
Cloruro de metileno	Poco soluble
Acetona	Insoluble

(*) Los términos descriptivos están establecidos de acuerdo a la descripción y solubilidad de artículos de la USP 37 y del NF.³³

Figura 1: Porcentaje de mortalidad de larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* Vs. concentración (mg/L) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

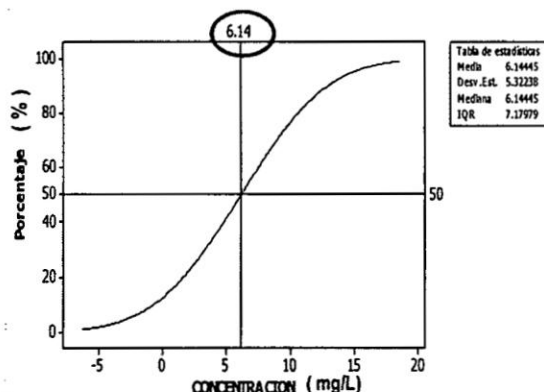


Tabla 3: Porcentaje de mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias* de 7 a 15 días de evaluación, según las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Concentración (mg/L)	Densidad larval inicial (N°)	% de mortalidad	Promedio de Mortalidad (%)
0,75	10	10	10
	10	10	
	10	10	
1	10	20	13,3
	10	10	
	10	10	
1,5	10	20	13,3
	10	10	
	10	10	
2	10	10	13,3
	10	10	
	10	20	
2,5	10	30	26,7
	10	30	
	10	20	
3,0	10	30	26,7
	10	20	
	10	30	
4,0	10	30	26,7
	10	30	
	10	20	

DISCUSIÓN:

Las hojas de *Ambrosia arborescens* muestran un porcentaje de humedad de 13,19%, valor que se encuentra dentro de los parámetros establecidos por la USP 37⁷ para las drogas (8 – 14 %) que evita el crecimiento bacteriano; en tanto se corroboró que Cruz⁸ determinó el porcentaje de humedad de 7,37%, en la misma especie vegetal. En la determinación de cenizas, el proceso de pesado se repitió dos veces sucesivas hasta obtener un peso constante y no difieran en más de 0,5 mg/g⁴.

Gonzales *et al.*⁹ demostró que los polvos de las hojas de la planta 89-1-XIV de una especie de la familia asterácea, aplicados al 1% presentan efecto antiinsecto en el *Sitophilus zeamais*. Lo cual asoció a la presencia de compuestos, como son los grupos α -aminos, fenólicos, alcaloides, triterpenos/esteroides y taninos; lo cual avala la capacidad biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* que de acuerdo al tamizaje fitoquímico, muestra la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides y glicósidos en cantidad abundante, mientras los triterpenos, esteroides, saponinas, taninos y flavonoides en cantidad moderada y otros componentes en trazas (lactonas sesquiterpénicas, quinonas, compuestos fenólicos y aminoácidos libres).

La literatura científica revisada que se encuentra al alcance de nuestro medio, no reporta estudios sobre las concentraciones de la planta *Ambrosia arborescens*, para el control de insectos de importancia toxicológica.

Por lo que para realizar el bioensayo, las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* fueron establecidas teniendo en cuenta que, al aplicar un biocida de origen vegetal o sintético de manera directa o indirecta contra la plaga a combatir también afecta a la planta y al tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum*). Por ello se tomó como referencia al codex alimentario en relación al Límite Máximo Residual (LMR) que nuestro país sigue

como norma, ya que ésta establece el Límite Máximo de Residuos de plaguicidas dentro o en la superficie de los alimentos y, en algunos casos, en los piensos, porque tiene la finalidad primordial de proteger la salud humana y animal.¹⁰

Se utilizaron larvas del tercer instar de *Symmetrischema tangolias*, puesto que los primeros estadios de los lepidópteros son los más vulnerables, además de la composición estructural (como los aminoácidos) y bioquímica de la superficie del integumento de las larvas que varían según el estadio larval en el que se encuentren y la proximidad a la muda.¹¹

Según la literatura se ha de mostrado que en el Perú la polilla de la papa es la especie insectil más utilizada para evaluar la efectividad de diferentes plantas con propiedades biocidas,⁵ debido a que el auge de la Agricultura Ecológica en los países industrializados, autoriza el uso de estos compuestos, haciendo resurgir su interés económico y la búsqueda de plantas con nuevas actividades insecticidas.¹²

En el presente trabajo, el porcentaje de mortalidad de larvas del tercer Instar de *S. tangolias* (Gyen) al ser sometidas a la acción biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens* "marco" a: 0,75 mg/L presenta 10% de mortalidad, mientras que a las concentraciones de 2,5 mg/L, 3,0 mg/L, 4,0 mg/L presentan 26,7% de mortalidad, lo cual muestra una tendencia de dosis dependiente. Así mismo Flores,¹³ reportó porcentajes de mortalidad de 54 a 58% de larvas del III instar de *Culex quinquefasciatus* de 9,0 a 10,0 mg/L, también con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* "marco", a un volumen de 5mL por 100mL de agua de criadero.

De acuerdo al análisis de varianza realizado con el software SPSS 15, el porcentaje de mortalidad de las larvas del tercer Instar de *S. tangolias* muestra una significancia de 0,002 que es menor de 0,05 lo cual indica que existe diferencia significativa entre las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *A. arborescens*. Lo cual avala en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), siendo a 2,50; 3,00 y 4,00 mg/L significativamente diferentes y con mejores resultados, con respecto a las demás concentraciones.

Estudios recientes precisan que algunos aceites esenciales o sus constituyentes producen síntomas específicos que sugieren que estarían actuando como neurotóxicos¹⁴ y, en particular, los monoterpenos, actúan sobre los receptores de la octopamina, lo cual los convierte en productos altamente selectivos dado que este tipo de receptores no está presente en los vertebrados.¹³ De esta manera, el sistema octopaminérgico presente en los insectos se convierte en un blanco biorracional para su control.¹⁴ Por ello, informes anteriores refieren que algunos aceites esenciales afectan a la reproducción de *Phthorimaea operculella* cuando los aceites se aplican sobre larvas,¹⁵ cabe resaltar que esta especie pertenece a la misma categoría taxonómica y al complejo de plagas de la papa en el que se encuentra la *Symmetrichesma tangolias*.

En cuanto a la acción tóxica del extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* sobre las larvas de *Symmetrischema tangolias*, probablemente se deba a la presencia de los alcaloides, pues Flores¹³ menciona que los alcaloides son compuestos que muestran una estructura química variable, y que por definición se dice

que son biomoléculas que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos el cual dentro del metabolismo normal de las plantas no se transforman totalmente en proteína vegetal, sino que continúa su circulación en la savia o se fija en algunas partes de la planta, por lo que pueden combinarse con moléculas de azufre formando heterósidos cianogénicos. Muchas de estas moléculas son las que causan intoxicaciones en humanos y animales. Generalmente actúan sobre el sistema nervioso central, algunos afectan al sistema nervioso parasimpático y otras al sistema nervioso simpático.

La concentración letal media (CL₅₀) para la población de larvas de *Symmetrischema tangolias* fue establecida en 6,14mg/L como la más recomendable; de acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de Probit (Figura 1) con un límite de confianza al 95 %. Por lo tanto es factible afirmar que los metabolitos secundarios son los responsables de su actividad biocida, que responde a la acción sinérgica de los triterpenos y alcaloides; además de los glicósidos que son sustancias que intervienen en los fenómenos de óxido-reducción, así como en el crecimiento y fecundación de las plantas. Así mismo Flores¹³ determinó la concentración letal media (CL₅₀) 8,84 mg/L como la más recomendable para generar una mortalidad del 50 % de la población de larvas de III instar de *Culex quinquefasciatus* presentes en los criaderos naturales y artificiales de la ciudad de Ayacucho. En comparación a éste resultado, la CL₅₀ obtenida en el presente trabajo es a menor concentración, lo cual resulta grato y superior. Además cabe señalar que este estudio se realizó con la misma especie vegetal, pero en otra categoría taxonómica de insectos, lo cual nos ayuda a validarlo.

Por otra parte, los metabolitos secundarios pueden cumplir también una función semioquímica, ya que constituyen un mecanismo de interacción con el resto de seres vivos de su entorno que se manifiesta en formas diversas: efectos alelopáticos, efecto atrayente o repelente de insectos, etc. lo cual constituye un factor más de heterogeneidad.^{16, 14}

Vera,¹⁶ en el estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador *Ambrosia arborescens* hace referencia a la composición rica en monoterpenos en pequeñas concentraciones, destacando una concentración muy importante de la crisantenona y en porcentajes representativos de sesquiterpenos como γ -curcumeno y D-germacreno. La presencia de estos componentes manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, contribuyendo a esta actividad la presencia de otros monoterpenos como las tujonas. Realizando así pruebas de actividad alelopática frente a otras especies, dando un resultado positivo, pudiendo estar esta actividad simultáneamente relacionada con funciones de protección o defensa de las plantas, contra ataques de microorganismos e insectos. Es por ello, que trabajos desarrollados en otras realidades y con diferentes plantas, podrían ayudarnos a entender la aplicabilidad del control biocida de los extractos de origen vegetal comparativamente con los encontrados en la presente investigación.

Mendoza,¹⁷ hace referencia a estudios realizados, con extracto etanólico de artemisa vulgar *Ambrosia cumanensis* a dosis de 100 mg mL⁻¹, que reduce el 50% de pupas de la palomilla de la papa *Phthorimaea operculella*, sin embargo para el "picudo de Chile" *Anthonomus eugenii* no hay efecto tóxico con

macerados e infusiones acuosos de hojas de *A. cumananensis*, a dosis de 100 mg mL⁻¹.

En los compuestos azufrados de los *Allium* (familia Liliáceas), como el ajo, se valora el efecto de los productos puros, pues la actividad insecticida observada es de dos órdenes: actúan sobre la fisiología del insecto y sobre el comportamiento locomotor, por ello en la especie *Phthorimaea operculella* el extracto del ajo tiene una actividad tóxica.¹⁸

Segovia *et al.*¹⁹ evaluó la actividad biocida de ocho especies vegetales sobre larvas de polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera:Gelechiidae) en almacén, tratados por inmersión e infestados con 10 larvas del primer estadio. Donde la comparación de la mortalidad promedio causada por las plantas: *Erythrina edulis* (extracto etanólico y metanólico), *Salvia styphehus* (extracto etanólico) y *Paranephelius uniflorus* (infusión) obtuvieron mayor actividad biocida, mientras la comparación de mortalidad causada por las siete concentraciones (2; 4; 8; 12; 16; 20 y 40 g/L) mostró eficiencia de los extractos, se incrementaron conforme se incrementaron las concentraciones. Es entonces preciso destacar que *S. tangolias* y *P. operculella* pertenecen a la misma categoría taxonómica (Familia Gelechiidae), por lo que las proximidades fisiológicas y evolutivas son muy cercanas una de otra, razón válida para asumir que la concentración del producto biocida estudiado podría ser funcional para ambos grupos de insectos en la concentración propuesta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Gomero OL. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas en Arming I, Velázquez H. (eds.). Plantas con potencial biocida: metodologías y experiencias para su desarrollo. Gráfica Sttefany. Lima. 2000.
2. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (DGSV-CNRF). México D.F.; 2012. Ficha de categorización: SAGARPA – SENASICA.
3. Castillo Yépez GM. Determinación del ciclo de vida de las "polillas de la papa" *Symmetrischema tangolias* (GYEN) y *Tecia solanivora* (POVOLNY) (LEPIDÓPTEROS: GELECHIDAE), bajo condiciones controladas de laboratorio [tesis de grado]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2004.
4. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Editorial Félix Varela. Universidad La Habana. La Habana-Cuba. 2000.
5. Lock de UO. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima. 1994.
6. Iannacone J, Lamas G. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. Entomotropica 2003; 18°(2).
7. USP 37. Farmacopea de los Estados Unidos revisión 37 – Formulario Nacional y sus Suplementos 2014.
8. Cruz Ati PF. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. [Tesis de pregrado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2009.
9. Gonzales S, Pino O, Herrera R.S, Valenciaga N, Fortes D, Sánchez Y. Una especie de la familia Asteraceae (89-1-XIV) con actividad antiinsecto frente a la palga *Sitophilus zeamais*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, La Habana. 2010, 44(2): 195-199
10. Síntesis de la legislación de la UE [base de datos en línea]. Europa: Límites máximos de plaguicidas para los productos destinados a la alimentación humana o animal; 2011. URL disponible en: http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/plant_health_checks/121_289_es.htm
11. Trujillo RPA, Zapata RNL, Hoyos SRA, Yepes RFC, Capataz TJ, Orozco SF. Determinación de la DL₅₀ y TL₅₀ de Extractos Etanólicos de Suspensiones Celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. Revista Facultad Ciencias Agropecuarias, Medellín. 2008, 61(2): 4564-4575.
12. Caballero GC. Efectos de Terpenoides Naturales y Hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera:Chrysomelidae) y "*Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera:Nocturnae). [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2004.
13. Flores Cisneros KS. Actividad biocida del extracto hidroalcohólico de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" (Fam. Asteraceae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). [Tesis de grado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2014.
14. Espitia YCR. Evaluación de la actividad repelente e insecticida de aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas (*Cymbopogon citratus* y *Tagetes lucida*) utilizados contra *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:tenebrionidae).[Tesis Magister]. Cartagena de Indias, D.T. y C; 2011.
15. Nahed AE, Tarek RA, Iman MH. Biochemical Influences of Some Volatile Oils on Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) [Monografía en internet]. New York: Science Alert, 2001; [accesado 5 de noviembre del 2013]. Disponible en: <http://scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2001.983.985>
16. Vera Saltos MB. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens* [Tesis de grado]. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército – Ecuador; 2008.
17. Mendoza GE. Toxicidad y repelencia de extractos vegetales para el control de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera:Aleyrodidae). [Monografía en internet]. México: Universidad Politécnica Nacional, 2010. [accesado 20 de agosto 2013]. Disponible en: http://www.ciidroaxaca.ipn.mx/pdf/posgrado/12A_EDGA_R_MENDOZA_GARCIA.pdf
18. Tello MJC, Palmero LL, García RA, De Cara GM. Biopesticidas obtenidos de las plantas, un resultado más de la coevolución. Actualidad y utilidad. En: Tello MJC, Camacho FF, coordinadores. Organismo para el control de patógenos en los Cultivos protegidos: prácticas culturales para una agricultura sostenible. España: Fundación Cajamar, 2010. p. 81-105
19. Segovia RI, Palacios LM, Lagnaoui A, Castillo VJ. Actividad Biocida de Extractos Vegetales Sobre Larvas de Polilla de la Papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera:Gelechiidae), en Cajamarca, Perú. Revista Peruana Entomológica, Setiembre 2003; 43: 89-93.