

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), “polilla de papa”. Ayacucho - 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por la:
Bach. GARCÍA MALLQUI, Diana Carolina

AYACUCHO – PERÚ
2019

*A mis padres Martha y Gregorio,
símbolos de trabajo y perseverancia,
por ser el pilar fundamental en mi
vida y por enseñarme que rendirse
no es una opción.*

*A mis hermanos Diego y Jean Marko,
por su infaltable apoyo y cariño.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *alma máter*, por brindarme la oportunidad de formarme como profesional de la salud para ahora servir en la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, quienes me impartieron sus importantes conocimientos durante mi formación profesional.

Al Mg. Q. F. Hugo Roberto Luna Molero, por su tiempo, su positivismo, sus oportunas orientaciones y valiosa asesoría académica en la realización del presente trabajo de investigación.

A la Facultad de Ciencias Económicas, Administrativas y Contables por permitirme recolectar la muestra vegetal de sus jardines, que fueron empleados en la investigación y a todas las personas que me apoyaron de manera desinteresada en el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	4
2.3. Bases teóricas	9
2.3.1. <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip.	9
2.3.2. <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen)	11
2.3.3. Bioensayo en <i>Artemia salina</i>	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Población y muestra	17
3.2.1. Población	17
3.2.2. Muestra	17
3.2.3. Unidad de análisis	17
3.3. Metodología y recolección de datos	17
3.3.1. Recolección y mantenimiento del material biológico	17
3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip.	19
3.3.3. Determinación de parámetros fisicoquímicos e identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip.	19
3.3.4. Diseño experimental	20
3.3.5. Evaluación de la toxicidad del extracto	20
3.4. Análisis de datos	21
3.4.1. Determinación del porcentaje de mortalidad de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen)	21
3.4.2. Determinación de la concentración letal media (CL50) de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen)	22

IV.	RESULTADOS	23
V.	DISCUSIÓN	33
VI.	CONCLUSIONES	41
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
	ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de toxicidad según CYTED para <i>Artemia salina</i> .	20
Tabla 2. Características físicas del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	25
Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	26
Tabla 4. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	27
Tabla 5. Mortalidad de nauplios de <i>Artemia salina</i> obtenidas a las 24h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	28
Tabla 6. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de papa” obtenidas durante tres días de evaluación al ser expuestas a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Concentración letal media (CL ₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común” sobre nauplios de <i>Artemia salina</i> .	30
Figura 2. Concentración letal media (CL ₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común” sobre larvas del V Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de papa” Vs tiempo.	31

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de <i>Argyranthemum frutescens</i> “magarza común”, según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988.	51
Anexo 2. Fotografía de la planta y flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. “magarza común”.	52
Anexo 3. Principales zonas productoras de papa y países con ocurrencia reportada de las tres especies de plagas más importantes.	53
Anexo 4. Ciclo de vida de la polilla andina de la papa, <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de la papa”; A) Adulto; B) Huevo; C y D) Larvas de primer y último estadio; E) Pupa (temperatura promedio de 20,3 °C).	54
Anexo 5. Recolección de muestras de papas infestadas por la especie <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de la papa”, en almacenes de papa del Centro poblado de Manallasacc – Chiara.	55
Anexo 6. Esquema de la identificación fitoquímica según el modelo de Miranda M, Cuellar A. 2000.	56
Anexo 7. Modo de acción de los metabolitos secundarios sobre insectos	57
Anexo 8. Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”	58
Anexo 9. Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. “magarza común”.	59
Anexo 10. Proceso de maceración y obtención del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. “magarza común”.	60
Anexo 11. Procedimiento del bioensayo de toxicidad del extracto hidroalcohólico de <i>Argyranthemum frutescens</i> en <i>Artemia salina</i> .	61
Anexo 12. Procedimiento del ensayo de toxicidad sobre larvas del V Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de la	

	papa” desde su obtención.	62
Anexo 13.	Fotografía del ensayo de toxicidad sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de la papa” a las 72h de exposición.	63
Anexo 14.	Toxicidad por contacto en larva de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de la papa”.	64
Anexo 15.	Conteo del número de larvas muertas a las 24 horas de exposición del extracto hidroalcohólico de <i>Argyranthemum frutescens</i> “margarza común”.	65
Anexo 16.	Análisis de varianza.	66
Anexo 17.	Mortalidad de larvas del V Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 24h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	67
Anexo 18.	Mortalidad de larvas del V Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 48h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	68
Anexo 19.	Mortalidad de larvas del V Instar de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 72h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip “magarza común”.	69
Anexo 20.	Matriz de consistencia	70

RESUMEN

Symmetrischema tangolias, especie de los andes de Perú, Bolivia y Colombia (2000 - 3500 msnm), se ha constituido en una de las principales plagas del cultivo de papa por su rápida dispersión. El presente trabajo de investigación corresponde al de tipo experimental básico, donde se evaluó la actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. "magarza común" sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), "polilla de papa", en condiciones de laboratorio. La muestra vegetal recolectada fue identificada en el "*Herbarium huamangensis*" de la UNSCH. Las larvas se obtuvieron de papas infectadas de almacenes de papa del distrito de Chiara - Huamanga. El extracto resultó ser soluble en etanol y poco soluble en agua. Se obtuvo un 10,32% de humedad y 0,18% de cenizas. Respecto a los metabolitos secundarios, se identificó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, esteroides y saponinas. Se realizó un ensayo preliminar: Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*, donde la CL₅₀ obtenida fue de 31,9%. La actividad insecticida se realizó por toxicidad de contacto frente a larvas del V Instar de *S. tangolias* a las concentraciones de: 1,0; 2,0; 4,0 y 8,0mg/mL, donde el máximo porcentaje de mortalidad obtenido fue 72,22% a 8mg/mL y un mínimo de 37,78% a 1mg/mL, que según el ANOVA y la prueba de Duncan ($p < 0,05$) son significativamente diferentes. La concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico frente a las larvas fueron: 16,6% (24h), 4,3% (48h) y 3,6% (72h). Por lo que se concluye que el extracto hidroalcohólico de las flores *A. frutescens* "magarza común" tiene actividad insecticida.

Palabras clave: insecticida, extracto hidroalcohólico, *Argyranthemum frutescens*, magarza común, *Symmetrischema tangolias*, polilla de papa, *Artemia salina*.

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país cuenta con especies vegetales de gran potencial biocida que han sido y son utilizadas por los agricultores para el control de plagas¹. Las plantas son consideradas las fuentes más importantes de compuestos químicos y durante millones de años de evolución han desarrollado mecanismos defensivos para contrarrestar el ataque de los insectos². En algunos países de América Latina se han desarrollado interesantes líneas de investigación, que buscan en las plantas compuestos químicos con menor impacto ambiental y con potencial para el control de plagas agrícolas³, tal es el caso de las piretrinas que poseen un efecto rápido, inducen poca resistencia en organismos tratados, no son inflamables, son de mínima residualidad, y principalmente, son de baja toxicidad para el hombre y animales de sangre caliente^{4,5}. No obstante, el auge de la agricultura moderna se ha debido en gran medida a la utilización de plaguicidas sintéticos de amplio espectro, para reducir las pérdidas que plagas y enfermedades causan en los cultivos⁶; pero a pesar de su gran impacto, el uso irracional de los compuestos orgánicos sintéticos ha provocado serios problemas globales², ha contribuido al aumento de la contaminación ambiental del agua, suelo y aire, al aumento en los niveles de toxicidad, al debilitamiento de los sistemas de protección natural por el impacto negativo sobre los organismos benéficos y también sobre la salud del ser humano⁵.

El Perú es el centro de origen de la papa, pero por esta razón también es el centro de la presencia de muchas plagas y enfermedades a nivel nacional⁷. La polilla de la papa es una de las plagas de mayor importancia económica para el cultivo. El daño lo causa la larva, penetrando el tubérculo para alimentarse y haciendo galerías, primero superficiales para luego barrenar más profundamente, disminuyendo de esta manera su calidad⁸.

Symmetrischema tangolias (Gyen) “polilla de papa” es considerada como plaga de importancia en el cultivo de la papa, encontrándose generalmente en áreas

con alturas de hasta 3000 msnm, en las zonas altas de Perú, Bolivia y Colombia. Los daños producidos por esta especie llegan a ser mucho más severos que los producidos por *P. operculella*⁹.

Argyranthemum frutescens (L.) Sch. Bip. “magarza común”, corresponde a una especie vegetal mayormente empleada como ornamental, se clasifica por otros investigadores como *Chrysanthemum frutescens*. El género *Chrysanthemum* es conocido por sus propiedades insecticidas, ya que de las flores de *Chrysanthemum cinerariifolium* se extrae el piretro o pelitre, uno de los primeros insecticidas vegetales descubiertos¹⁰. Cabe mencionar que hasta la fecha no se ha estudiado el efecto insecticida de la especie *A. frutescens*, lo cual motivó a realizar un estudio de la actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”, la cual se ha constituido en una de las principales plagas del cultivo de papa y dada la importancia que el cultivo de la papa tiene por su carácter alimenticio, potencial, económico y de subsistencia⁷, y a la búsqueda de moléculas bioactivas de diversas fuentes naturales, en especial de plantas⁵ que pueden servir de base para el desarrollo de nuevos productos fitosanitarios más selectivos y menos contaminantes¹⁰, se plantearon los siguientes objetivos para la investigación:

Objetivo General

Evaluar la actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”.

Objetivos Específicos

1. Evaluar los parámetros fisicoquímicos y realizar la identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.
2. Evaluar el porcentaje de mortalidad de las larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) provocado por el extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.
3. Determinar la concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

De acuerdo al gran interés que importa el empleo de plantas para su aprovechamiento como insecticida, en la actualidad se siguen realizando nuevas investigaciones para disminuir el uso irracional de los plaguicidas sintéticos y de esta manera ayudar a la calidad de la agricultura, disminuir problemas de salud y evitar la constante contaminación del medio ambiente. Seguidamente se plasman diversos trabajos, los que se detallan a continuación:

En la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Villanueva¹¹ determinó el efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” sobre larvas del III instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen), resultando 26,7% de mortalidad a 2,5; 3,0 y 4,0 mg/L y un mínimo de 10% a 0,75 mg/L. Por otra parte, la concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico frente a las larvas fue de 6,14%, concluyendo que el extracto investigado tiene efecto biocida sobre las larvas de *S. tangolias*.

En la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco se evaluó el efecto de tres especies de lamiáceas: *Clinopodium brevicalyx* (cjuñu-muña), *Hedeoma mandoniana* (pampa muña), *Minthostachys spicata* (muña) y tubérculos verdeados de papa frente a *Symmetrischema tangolias* (Gyen), donde los aceites esenciales evidenciaron su mayor toxicidad respecto a los extractos vegetales, ya que las larvas del V estadio murieron inmediatamente al contacto con los tubérculos tratados con los aceites. Los tubérculos verdeados (30, 60 y 90 días) afectaron la oviposición de adultos y retrasaron el desarrollo de larvas en menor proporción que los extractos. Los aceites esenciales de *M. spicata* y *C. brevicalyx* mostraron una DL₅₀ de 26.96 y 38.92 ppm respectivamente a las 24 horas de exposición.¹

En la Universidad César Vallejo de Trujillo, León³ evaluó el efecto biocida de una mezcla de polvos vegetales de boldo (*Peumus boldus*) y crisantemo amarillo

(*Chrysanthemum morifolium*) para el control del gorgojo de arroz (*Stitophilus oryzae* L.), donde el polvo de crisantemo amarillo puro a 4% y 5%, presentó 27% y 60% de mortalidad, por lo que el polvo vegetal de crisantemo amarillo se presenta como una planta prometidora con potencial insecticida cuando se aplica a concentraciones mayores que 5%. Así mismo, la proporción del polvos de Boldo:Crisantemo (70:30) fue mayor: a 4% y 5% resultó 70% y 90% de mortalidad a 96h de exposición.

En Murcia - España, Villalobos¹⁰ realizó una investigación sobre la actividad insecticida de los extractos de hojas y tallos de *Chrysanthemum coronarium*, y profundizó sobre distintos tipos de actividad mostrados al utilizar como patrón el coleóptero *Tribolium castaneum*, plaga de productos almacenados; de los cuales una de las pruebas corresponde al bioensayo de toxicidad por contacto con discos de papel de filtro, detectándose metamorfosis precoz de larvas. Por lo que concluyó que los compuestos presentes en *C. coronarium* presentan actividad plaguicida en otros organismos.

Respecto a los metabolitos secundarios, Bolaños⁴ en su investigación: diseño de un proceso para la obtención de piretro a partir de *chrysanthemum parthenium* a usarse como insecticida doméstico en mosquitos, mencionó que dicha especie contenía piretrinas, las cuales eran responsables de su actividad insecticida, Así mismo, la actividad biológica de los sesquiterpenos del tipo lactona que son abundantes en las especies de la familia Compositae¹⁰.

En tanto Naranjo¹², evaluó en Cotopaxi – Ecuador, la descripción etológica de tres especies de lepidóptera de la familia Gelechiidae: *Phthorimaea operculella*, *Symmetrischema tangolias* *Tecia solanivora*, del cultivo de papa (*solanum tuberosum* L.) variedad leona blanca en condiciones de laboratorio.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Papa

Uno de los cultivos ancestrales y de gran riqueza genética en nuestro país es la papa, *Solanum tuberosum*⁹, que pertenece a la familia Solanaceae. Es el cuarto principal producto alimenticio en el mundo, después del trigo, el arroz y el maíz⁷. Hoy en día la papa constituye un alimento fundamental en la dieta del hombre⁹, se cultiva en 19 departamentos del Perú, hasta los 4,100 msnm⁷, su producción anual asciende a más de 320 millones de toneladas y constituye la base de la alimentación del poblador especialmente de la sierra¹².

2.2.2. Plaga

El Perú es el centro de origen de la papa, pero por esta razón también es el centro de la presencia de muchas plagas y enfermedades a nivel nacional⁷.

Plaga en términos generales se define plaga a toda criatura que reduce la disponibilidad, calidad o valor de un recurso importante para la humanidad³. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) define plaga como cualquier especie, raza, biotipo vegetal, animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales¹³.

2.2.3. Polilla de papa

Se conoce con el nombre de “polillas de la papa” a un complejo de especies pertenecientes a la familia Gelechiidae¹⁴. Es una de las plagas de mayor importancia económica para el cultivo. El daño lo causa la larva, penetrando el tubérculo para alimentarse y haciendo galerías, primero superficiales para luego barrenar más profundamente, disminuyendo de esta manera su calidad. El ataque puede ser tanto en campo como en almacén, se ha reconocido hasta el momento que el tubérculo de papa es el único hospedero de la polilla⁸. Tres son las especies pertenecientes a la familia Gelechiidae en Sudamérica: *Phthorimaea operculella* (Zeller), *Symmetrischema tangolias* (Gyen) y *Tecia solanivora* (Povolny)⁷. De las cuales, una de las principales plagas es la polilla *S. tangolias*, que puede llegar a alcanzar hasta un 100 % de daños en almacén, afectando su rendimiento y reduciendo la calidad del tubérculo¹.

2.2.4. Plaguicida

La FAO (en inglés Food and Agriculture Organization: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) los define como “cualquier sustancia o mezclas de sustancias usadas para prevenir, destruir o controlar una plaga, incluyendo vectores de enfermedades humanas o de otros animales, especies no deseadas de plantas o animales que causen daños o interfieran con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y o alimentos para animales, sustancias que pueden administrarse a los animales, para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos¹³”.

2.2.5. Insecticida

Se estima que aproximadamente 5000 especies de insectos se alimentan de las hojas, tallos, raíces, flores y frutos³. Las plagas de insectos son responsables de grandes pérdidas anuales en la producción de los cultivos agrícolas². Por

definición, un insecticida es aquella sustancia o mezcla de sustancias (naturales, sintéticos o xenofóbicos)⁴ que provocan la muerte del insecto debido a la naturaleza de su estructura química².

2.2.6. Biocida

Los biocidas pueden ser sustancias químicas sintéticas, naturales o de origen biológico o de origen físico están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier microorganismo considerado nocivo para el hombre. Los biocidas por lo general actúan a nivel de la membrana celular del microorganismo, penetrándola y destruyendo los sistemas que permiten vivir al microorganismo. El biocida provoca la lisis de la pared proteica o lipoprotéica del organismo y penetra en su interior interrumpiendo las reacciones bioquímicas que sustentan la vida en el organismo.

Se pueden presentar de tres formas:

- Físico, fuentes de radiación de alta energía (luz UV) que oxidan la pared proteica y prácticamente queman al microorganismo.
- Biológicos, sustancias creadas por organismos superiores para autodefensa (metabolitos secundarios), generalmente son de tipo proteico y se denominan enzimas.
- Químicos, inorgánicos o de síntesis orgánica, el coeficiente fenólico, es un valor experimental que se realiza a las sustancias que tienen propiedades biocidas, tomando como referencia la capacidad biocida del fenol¹.

2.2.7. Las plantas y sus propiedades insecticidas

La utilización de plantas con propiedades biocidas es muy importante dentro del marco de manejo ecológico. Las plantas son consideradas las fuentes más importantes de compuestos químicos y durante millones de años de evolución han desarrollado mecanismos defensivos para contrarrestar el ataque de los insectos², inhibiendo o minimizando sus efectos sobre los cultivos³.

Así mismo se menciona que las plantas con propiedades biocidas son todas aquellas que han desarrollado sustancias aleloquímicas, como mecanismo frente al ataque de insectos. Estos pueden actuar como atrayentes, estimulantes, toxinas, repelentes o inhibidores de la alimentación o de la ovoposición. La gran abundancia de estas plantas ofrece excelentes perspectivas para su extracción, identificación y uso como plaguicidas³.

2.2.8. Insecticida natural

Los insecticidas naturales presentan en forma general la ventaja de degradarse con mayor velocidad que los sintéticos y no dejan residuos en el ambiente. Para que un insecticida natural sea comercialmente viable debe cumplir, además con una serie de requisitos tales como selectividad, baja toxicidad para los enemigos naturales y mamíferos, biodegradabilidad, baja fitotoxicidad¹⁵. Así mismo que deben ser de fácil obtención, aplicación y económicas³.

2.2.9. Manejo de las plagas

En la actualidad, la aplicación de plaguicidas es la práctica más común para el control de plagas de productos almacenados, debido a su eficacia y bajo costo. Los insecticidas convencionales más empleados a nivel mundial son organofosforados como clorpirifosfometil, pirifosfometil, fenitroion; y entre los piretroides (deltametrina) en ocasiones sinergizado con butóxido de piperonilo. En las últimas décadas los estrictos requerimientos para el registro de nuevas materias activas con acción insecticida, el aumento de la resistencia en insectos plaga, y los efectos colaterales sobre el ambiente, particularmente sobre organismos no blanco (especies benéficas y polinizadoras) incrementaron el interés en la búsqueda de plantas con propiedad plaguicida. Se cree que en la mayoría de los casos los productos naturales de origen vegetal pueden presentar ventajas sobre los plaguicidas sintéticos en términos de menor toxicidad para mamíferos, rápida degradación y disponibilidad local¹⁵.

2.2.10. Mecanismo de acción de insecticidas vegetales

Está determinado por la ruta metabólica en la que interfiere. Los insecticidas pueden actuar como tóxicos físicos (aceites minerales), tóxicos respiratorios, neurotóxicos (carbamatos, fosforados, piretroides), tóxicos protoplásmicos, reguladores del crecimiento de los insectos (reguladores de la hormona juvenil y de la muda), inhibidores de la síntesis de quitina, reguladores del comportamiento, inhibidores de la fosforilación oxidativa, entre otras¹⁵. Según su efecto en el comportamiento de los insectos, se definen cinco tipos:

- a. Repelentes, las cuales alejan a los insectos de la planta.
- b. Supresores, que inhiben la iniciación de la alimentación o la oviposición del insecto en el hospedante.
- c. Disuasivos, que interrumpen la continuación de la alimentación y oviposición.
- d. Antibióticos, interfieren metabólicamente en el crecimiento y desarrollo.
- e. Anorexigénicos, que producen pérdida del apetito².

Los aceites esenciales y otros extractos vegetales ensayados pueden actuar como insecticidas de contacto, repelentes, antialimentarios, esterilizantes, o afectando diferentes parámetros biológicos como la oviposición, tasa de desarrollo y duración del ciclo de vida. Entre los productos de origen botánico más utilizados para el control de insectos están las piretrinas, la rotenona, extractos del árbol del Neem y los aceites esenciales¹⁵.

Las piretrinas, del piretro se obtienen a partir de las flores secas del crisantemo, *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Compositaceae); están compuestos por seis esteroides, formados por la combinación de los ácidos crisantémico y los alcoholes de piretrolona, cinerolona y jasmolona. Su aplicación es limitada (plagas domésticas y productos almacenados) debido a que se degradan fácilmente por la luz y el calor. La actividad insecticida se debe a su acción sobre la bomba de sodio de las neuronas en los insectos. Estas moléculas inhiben el cierre del canal de sodio de la membrana celular, de manera que producen una transmisión continua del impulso nervioso presentándose como temblores, parálisis muscular ("efecto derribo" o "knock-down", característico de las piretrinas II) y, eventualmente, la muerte (específica de las piretrinas I)⁴.

2.2.11. Toxicidad

La toxicidad es una medida usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos. La toxicidad puede referirse al efecto de ésta sobre un organismo completo, como un ser humano, una bacteria o incluso una planta, o a una subestructura, como una citotoxicidad¹.

2.2.12. Bioensayo de toxicidad

Los bioensayos toxicológicos tienen por finalidad determinar las concentraciones de un tóxico dado que ocasionen efectos dañinos o nocivos en un organismo modelo. Estos efectos pueden incluirse en las siguientes categorías: afectación del término de vida, alteración de la tasa de crecimiento, cambios de los parámetros reproductivos. Cuando se produce algún efecto se anota el efecto y la concentración del compuesto químico. Si el organismo de prueba muere se anota la concentración letal. Si a bajas concentraciones de un compuesto químico muchos de los animales de prueba mueren, entonces el compuesto en cuestión es muy tóxico¹⁶.

2.2.13. Concentración letal 50

Concentración letal 50 (CL₅₀) es la concentración, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte, durante la exposición o en un plazo definido después de ésta, del 50% de los animales

expuestos a dicha sustancia durante un periodo determinado. El valor de la CL₅₀ se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L)¹⁶.

2.2.14. Probit

El Probit se basa en la cuantificación probabilística de la vulnerabilidad, en este caso de larvas de polilla de papa, ante efectos físicos de una magnitud determinada que se suponen conocidos. Dicho método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre la población u otros elementos vulnerables a los fenómenos físicos peligrosos. El método de análisis Probit permite estimar la CL₅₀ ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit¹⁶.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Argyranthemum frutescens*

Se trata de un arbusto utilizado con mucha frecuencia como ornamental, procedente de las islas Canarias (Macaronesia). Esta especie ha sido reportada como invasora en una serie de países de Europa, en EEUU y en Australia¹⁷.

2.3.1.1. Clasificación taxonómica: 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 : *Argyranthemum*

ESPECIE : *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip.

SINONIMIA : *Chrysanthemum frutescens*

N.V. : "magarza común" (Anexo 01)

2.3.1.2. Descripción

Se trata de una especie de las islas Canarias, crece en la parte baja de las islas desde el nivel del mar hasta unos 700 m de altitud. El arbusto crece de 0,5 a 1,50 m de altura, es muy ramificado, con la copa globosa. Follaje glauco. Sus hojas son simples, glabras, pecioladas, de ámbito oblongo a obovado,

bipinnatisectas, de 5-10 cm de longitud¹⁷, se caracterizan por ser profundamente lobuladas, poseen 2-6 lóbulos primarios, segmentos linear-lanceolados o lanceolados¹⁸. Las inflorescencias corresponden a capítulos florales, cabezuelas terminales, de 3-5 cm de diámetro, con pedúnculos largos por lo que sobrepasan al follaje; brácteas del involucre anchas, con el borde pajizo, dispuestas, a su vez, de 2-6 en corimbos. Flores liguladas, periféricas (femeninas), y tubulares (hermafroditas), centrales, amarillas¹⁹. Aquenios (cipselas) externos alados, vilano coroniforme. Presenta numerosas subespecies y cultivares ornamentales los que varían tanto en el tamaño de las cabezuelas y en el color de las flores liguladas: blanco, amarillo, lila y púrpura¹⁷. (Anexo 02)

Su crecimiento es muy rápido, floreciendo en 8-9 meses. Es una planta de la zona costera y tolera bien las altas temperaturas, no tolera bien los sitios con poco sol²⁰. Crece en campos, márgenes de caminos y bosques abiertos¹⁹.

2.3.1.2. Usos

- Medicinal. Las flores o capítulos florales se utilizan en fitoterapia. Se cosechan las flores entre mayo y junio y se conservan como tónico estomacal y para el asma.
- Decoración de jardines. La planta entera se utiliza con fines ornamentales, debido a su bonita flor¹⁹.

2.3.1.3. Etimología

- ***Argyranthemum***. Nombre genérico que procede del griego *argyros*, que significa "plateado" y *anthemom*, que significa "planta de flor", aludiendo a sus flores radiantes pálidas.
- ***Frutescens***. Procedente del latín *frutescere*, que significa "echar o producir vástagos o renuevos". Hace referencia a su ramificación exuberante¹⁸.
- **Nombre común**. Se conoce como magarza común (*ssp. frutescens*), magarza Gran Canaria de costa (*ssp. Canariae*), magarza gomera de costa (*ssp. foeniculaceum*), magarza común grácil (*ssp. gracilescens*), magarza de flor chica (*ssp. parviflorum*), magarza chica (*ssp. pumilum*) o magarza carnosa (*ssp. succulentum*)¹⁸, margarita amarilla, mariposa amarilla, margarita de Canarias, margaritón, margarita leñosa¹⁹ en Chile es conocida como paqueret¹⁷.

2.3.1.4. Variedades

Argyranthemum frutescens es una especie muy variable y con varias subespecies en las Islas Canarias: *ssp. frutescens*; *ssp. canariae* (Christ)

Humphries, ssp. *foeniculaceum* (Pit. & Proust) Humphries, ssp. *gracilescens* (Christ) Humphries, ssp. *parviflorum* (Pit. & Proust) Humphries, ssp. *pumilum* Humphries y ssp. *succulentum* Humphries^{18, 20}.

2.3.1.5. Sinonimia

- *Chrysanthemum frutescens*
- *Pyrethrum frutescens*
- *Anthemis frutescens* Voss
- *Chrysanthemum floridum* Salisb.
- *Chrysanthemum foliosum* Brouss. ex
- *Chrysanthemum fruticosum* Buch
- *Matricaria frutescens* (L.)²¹

2.3.1.6. Aspectos químicos

De acuerdo a la información química se comprueba la presencia de piretrinas en muchas de las especies de la familia Asteraceae²². Hoy, unos 40 géneros de Asteráceas son relevantes en alimentación humana y animal, fuentes de aceites fijos, aceites esenciales, forraje, miel y polen, edulcorantes, especias, colorantes, insecticidas, caucho, madera, leña o celulosa. Otras son importantes malezas y/o plantas tóxicas para el hombre y el ganado, algunas causan alergia y otras resultan ornamentales. En terapéutica son usados gran número de metabolitos secundarios sintetizados por Asteráceas²³.

2.3.2. *Symmetrischema tangolias* (Gyen)

S. tangolias es una polilla de 6 a 7 mm de largo y alas grisáceas. Considerada como plaga de importancia en el cultivo de la papa. Es una especie típica del área andina y se le encuentra en Perú, Bolivia y Colombia, desde los 2,000 a 3500 msnm, daña la parte aérea de la planta (tallos) y los tubérculos en el campo y el almacén⁹. Se ha constituido en una de las principales plagas del cultivo de papa debido a su rápida dispersión^{8,9}. Esta polilla demuestra mayor rusticidad y agresividad en comparación con *Phthorimaea operculella*, a la cual desplaza cuando ambas se presentan en un mismo hábitat, el principal daño lo realiza las larvas durante el periodo de almacenamiento de tubérculos-semilla⁸, ya que pueden llegar al 100%, por lo que las pérdidas económicas son cuantiosas^{8,9}.

2.3.2.1. Clasificación taxonómica

Según ESSIG (1942), citado por Mamani (2008)⁹, *Symmetrischema tangolias* (Gyen) tiene la siguiente clasificación:

REYNO	: ANIMALIA
PHYLUM	: ARTHROPODA
CLASE	: HEXAPODA
ORDEN	: LEPIDOPTERA
SUB ORDEN	: FRENATAE
DIVISIÓN	: HETERONEURA
SUPERFAMILIA	: GELECHIOIDEA
FAMILIA	: GELECHIIDAE
TRIBU	: GNORISMOSCHEMINI
GÉNERO	: <i>Symmetrischema</i> (POVOLNY, 1967)
ESPECIE	: <i>Symmetrischema tangolias</i> (GYEN, 1913)

2.3.2.2. Ciclo biológico de la polilla de papa

Como todos los lepidópteros, *Symmetrischema tangolias* pasa por cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto.

a. Fase de huevo

Los huevos son algo aplanados y elípticos, la superficie externa presenta estrías, en promedio mide 0.5 mm (largo) y 0.26 mm (ancho)¹⁴. Una hembra puede depositar alrededor de 108 huevos durante su vida. Los huevos son depositados con preferencia cerca o sobre las yemas de los tubérculos y pueden ser colocados en forma aislada o en grupos⁹. La duración promedio del periodo de incubación es de 10.6 días. Desde el momento de la oviposición hasta el cuarto día, el huevo es amarillo claro a intenso, para posteriormente tener un color anaranjado brillante, y por último un plomo claro y se puede observar un punto negro (cabeza de la larva). La eclosión se inicia en uno de los polos del huevo¹⁴.

b. Fase de larva

Las larvas recién eclosionadas se desplazan lentamente, en el campo ingresan al tallo, barrenan y se alimentan de la médula perjudicando el flujo de la savia en la planta, luego penetran al tubérculo mediante orificios pequeños que realizan especialmente cerca de las yemas⁹. Al final del estadio, se transformará en pupa^{24,25}. Presenta cinco estadios larvales, estos son¹:

- **Larva I.** Blanco cremoso, cabeza ligeramente más ancho en relación al cuerpo. Está provisto de pelos y setas, apenas perceptibles a simple vista y mide aproximadamente 1mm.
- **Larva II.** Cremoso brillante y liso, próximos a la muda es notorias la presencia de tres franjas rojizas en el dorso que se extienden hasta la mitad del octavo

segmento, el escudo protorácico es bruno-oscuro a café oscuro brillante, cuya longitud es de 1.5mm.

- **Larva III.** Cremoso amarillento, Cabeza de color bruno brillante presenta tres franjas rosadas opacas en el abdomen dos laterales y una dorsal en los últimos segmentos; próximos a las mudas las tres franjas se diferencian notablemente sobre un fondo cremoso amarillento llegando a cubrir todo el abdomen y provistas de diferentes setas visibles, mide 3.5 mm.
- **Larva IV.** Coloración similar al estadio anterior y de apariencia vigorosa, presenta cinco líneas o franjas longitudinales rojizo intenso, tres dorsales y dos laterales llegando al protórax, al final del estadio la larva adquiere una coloración ligeramente verdosa y franjas latero dorsales se engrosan, mide 5 mm – 10mm.
- **Larva V.** Las larvas construyen su capullo a base de hilos de seda, residuo vegetal, partículas de tierra, dentro del cual se desarrolla la pupa. La coloración varía de crema amarillento a verde celeste y finalmente verde ligeramente oscuro. Las franjas dorsales y laterales son rojizas, en el dorso se observan tubérculos setíferos pigmentados de donde emergen setas o pelos, en los últimos segmentos sólo se observan 3 franjas rojizas que se prolongan a través de todo el cuerpo. Mide 7 mm al inicio del estadio y 13 mm en su máximo desarrollo^{1,12}.

c. Pupa

Una vez que la larva completa su desarrollo, abandona el tubérculo y se dirige a la arena para empupar, forma un capullo de seda, al cual se pegan partículas de arena²⁴. A este primer período se le denomina prepupa. La larva se vuelve inactivo, sus procesos metabólicos se reducen al mínimo y se reduce de tamaño formando un capullo para empupar; en promedio mide 9,2 mm (largo) y 2,5 mm (ancho). Este estado dura 2.7 días. La pupa al inicio del ciclo es verde, es momificada, las patas, alas y antenas se encuentran pegadas al cuerpo¹⁴. Las pupas son de color café claro cuando se aproxima la emergencia de adultos se tornan de color negro, la emergencia de los adultos se realiza por la parte superior de la pupa. Los machos miden 7.79mm (largo) y las hembras 8.04mm²⁴.

d. Adulto

El adulto es una pequeña polilla de color pajizo²⁴, presenta una expansión alar de 17.8 – 20.2 mm (hembras) y 17.8 – 18.5 mm (machos), con finas escamas grisáceas que cubren todo el cuerpo. En el margen costal de las alas anteriores

se tiene una mancha triangular marrón oscuro, que permite diferenciar del género *Phthorimaea*. El aparato bucal es de tipo chupador y en estado de reposo se enrollan en forma de espiral¹⁴. Los adultos viven de 23 a 25 días con dieta miel (de abeja) al 5 % las hembras comienzan a colocar huevos a los 3 días de haber emergido de la pupa²⁴.

2.3.2.3. Duración del ciclo de vida

S. tangolias posee un período de incubación que varía de 7 días (23°C) a 17 días (12°C) mientras que el período larvario 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 huevos²⁵. (Anexo 04)

2.3.2.4. Polilla de papa y su incidencia en la agricultura y economía

La polilla de la papa *S. tangolias* es una especie que ha adquirido mucha importancia en los últimos años debido a su rápida dispersión. Se constituyen en un gran problema para los pequeños, medianos y grandes agricultores. Su incidencia de daño causado está directamente relacionado a factores climáticos (altas temperaturas, sequías), manejo del cultivo en campo (deficientes labores culturales), manejo de post cosecha (almacenamiento inadecuado). Los daños causados por esta plaga son mucho más severos que los producidos por *Phthorimaea operculella*, y pueden llegar al 100% durante el almacenamiento; por lo que las pérdidas económicas son cuantiosas. Uno de los problemas más serios derivados de la alta incidencia de esta plaga es el uso inadecuado de insecticidas en el campo como en el almacén, la que ha ocasionado numerosos casos de intoxicación. Así mismo el agricultor conoce muy poco sobre esta plaga, no reconoce las especies, sus ciclos de vida, ni su comportamiento, razones por las que no se puede mejorar sus métodos de control⁹.

2.3.3. Bioensayo en *Artemia salina*

El camarón de *Artemia salina* Leach, Anostraca: Artemiidae, se ha utilizado por varias décadas como organismo de prueba en la investigación de productos naturales y para evaluar el efecto de los químicos en ambientes acuáticos. Este ensayo es usado en laboratorios alrededor del mundo para la preselección de extractos de plantas con potencial medicinal, para fraccionamiento bioguiado de componentes bioactivos de la planta y para la detección de efectos citotóxicos.

La razón principal de su amplio uso para las pruebas de toxicidad de los extractos de plantas se debe a la disponibilidad comercial de huevos latentes (quistes) que permanecen viables durante muchos años y, por lo tanto, son una fuente biológica adecuada para bioensayos rápidos, simples y económicos. Sin embargo, un inconveniente de este bioensayo es que el medio salino disminuye la solubilidad y la biodisponibilidad de algunas sustancias, lo que limita la detección de posibles constituyentes bioactivos de las plantas²⁶. En el presente estudio, se realizó el bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* como biomodelo en la etapa preliminar de la investigación sobre larvas de *S. tangolias*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de química de la salud “Francisco del Castillo” y en el Centro de Investigación en Bioquímica Clínica y Molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, ubicado en la ciudad universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el distrito de Ayacucho, políticamente ubicado en la provincia de Huamanga de la Región Ayacucho.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

- Flores de la especie *Argyranthemum frutescens*. “magarza común” que crecen en los jardines, parques y cercos de la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

- 3Kg de flores de la especie *Argyranthemum frutescens* “magarza común”, que fueron identificadas en el *Herbarium huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.3. Unidades de análisis

- Larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”, cantidad necesaria para el ensayo.

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Recolección y mantenimiento del material biológico

a. Obtención de la muestra vegetal

La muestra vegetal consistente en flores de la especie ornamental *Argyranthemum frutescens* “magarza común”, fueron recolectadas durante el mes de marzo – 2018 del área verde de la Facultad de Ciencias Económicas

Administrativas y Contables de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga del departamento de Ayacucho, a 2 670 msnm, con coordenadas: 13°8'36"S; 74°13'13"O (Anexo 02).

La selección se realizó de forma manual, mediante un muestreo no probabilístico a primeras horas de la mañana, teniendo en cuenta la forma, tamaño, textura y buen estado de floración. Fueron colocadas en bolsas de plástico para transportarlas al laboratorio de química de la salud "Francisco del Castillo" de la E.P. de Farmacia y Bioquímica.

Una vez en el laboratorio, se procedió a seleccionar sólo las flores en óptimo estado para proceder con la extracción.

La identificación taxonómica se realizó en el "*Herbarium huamangensis*", Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, para lo cual se llevó una muestra vegetal completa. (Anexo 1).

b. Obtención de la unidad de análisis

Las larvas de la especie *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de papa" fueron colectadas en el mes de agosto - 2017 a partir de papas infestadas (papas de la variedad blanca) con *Symmetrischema tangolias* de los almacenes de papa del Centro Poblado de San Antonio de Manallasacc, distrito de Chiara (Anexo 05), provincia de Huamanga, ubicada en el departamento de Ayacucho, perteneciente a la Región Ayacucho, ubicado a 60 min de la ciudad de Ayacucho a una altitud de 3 512 msnm (Coordenadas:13°52'05"S; 73°40'03"O); constituido en gran parte de extensiones de cultivos de papa, aprovechadas por los agricultores del lugar²⁷.

En tápers rectangulares, que contenían una base de arena fina lavada y desinfectada con agua hervida, se colocaron de manera ordenada las papas infestadas que fueron colectadas para su crianza y obtención de adultos de polilla de papa. Posteriormente, obtenidas las polillas adultas, se seleccionaron cuidadosamente procediéndose a colocar entre machos y hembras en los envases de plásticos de crianza individual de 1000 cm³ conteniendo papas sanas de variedad peruanita, las cuales fueron previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1,5%. Finalmente desarrolladas las larvas, se realizó el aislamiento de larvas del V instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) "polilla de papa" de los nuevos tubérculos infestados, los cuales se extrajeron cuidadosamente para las pruebas experimentales. 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 biológico¹¹ (Anexo 12).

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip.

Se emplearon 3Kg de la muestra vegetal fresca, seleccionadas de acuerdo a limpieza, forma, tamaño, integridad, textura y a un adecuado estado de floración (entre los 5 y 10 días después de abiertas)³. Una vez pesados, fueron sometidos a una técnica de maceración con etanol al 70%, empleando tres frascos adecuados para su extracción (de 4L de capacidad). Este procedimiento se realizó por 3 días, donde se mantuvo en constante agitación y conservados en un lugar oscuro. Cumplido los días, el extracto obtenido fue filtrado y luego evaporado en el equipo de baño maría a una temperatura no mayor a 40°C hasta llegar a una mínima concentración o concentración alcohólica de 0° (Anexo 11).

3.3.3. Determinación de los parámetros fisicoquímicos, analíticos e identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”

3.3.3.1. Identificación fitoquímica

El reconocimiento de metabolitos secundarios se realizó por medio de pruebas fitoquímicas preliminares, las cuales son pruebas químicas de caracterización consistentes en una reacción química que produce alteración rápida en la estructura molecular de un compuesto²⁸.

El análisis de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la especie vegetal se realizó siguiendo los procedimientos descritos por Miranda et al.²⁹ y Look³⁰ (Anexo 08).

3.3.3.2. Determinación de solubilidad, humedad, residuos

a. Solubilidad. Se determinó en base a los términos descriptivos que se encuentran establecidos en la USP 36. Se determinó con solventes polares y apolares³¹ (Anexo 09).

b. Humedad. Se determinó el porcentaje de pérdida por secado de la muestra vegetal, de acuerdo al procedimiento de Miranda et al.²⁹

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

W₀=Placa de Petri vacío.

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

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

c. Residuos. Se determinó el porcentaje de residuos por incineración de la muestra vegetal, de acuerdo al procedimiento de Miranda et al.²⁹

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

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 A x B; donde:

A=Unidad de análisis.

B=Diluciones del extracto hidroalcohólico.

3.3.5. Evaluación de la actividad tóxica del extracto

3.3.5.1. Ensayo preliminar: Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*

Para este propósito se compraron quistes de *Artemia salina* de un acuario de la ciudad de Lima, los cuales se incubaron en agua de mar en condiciones de luz y oxígeno. Las concentraciones trabajadas fueron diluciones de 1000, 100 y 10 ppm preparadas a partir de una solución madre y se aplicaron a cada vial la cantidad de 500, 50 y 5uL respectivamente²⁶. El desarrollo del bioensayo duró cuatro días y se encuentran especificadas en el Manual de técnicas de Investigación (CYTED)³² que se encuentra detallado en el Anexo 11.

El conteo del número de sobrevivientes y muertos se realizó al cabo del cuarto día del bioensayo. Los datos se analizaron con el programa Probit para determinar los valores de CL₅₀.

Finalmente, el resultado se clasificó de acuerdo a las recomendaciones del CYTED, para ello se consideró la tabla de toxicidad para *Artemia salina*.

Tabla 1. Clasificación de toxicidad según CYTED para *Artemia salina*³³.

Grado	Clasificación	CL ₅₀	Unidades
I	Extremadamente tóxico	1-10	ug/mL
II	Altamente tóxico	10-100	ug/mL
III	Moderadamente tóxico	100-500	ug/mL
IV	Ligeramente tóxico	500-1000	ug/mL
V	Prácticamente no tóxico	1000-1500	ug/mL
VI	Relativamente inocuo	>1500	ug/mL

3.3.5.2. Toxicidad por contacto sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”

Para este propósito se acondicionó una estructura de madera con 15 espacios circulares para tápers limpios de 3oz con tapas cuadradas de vidrio, en los cuales se colocaron círculos de papel de filtro en la base (uno por cada táper) así como un trozo de papa de 3g. Se prosiguió con la separación de 10 larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) del V instar por táper, que equivale a un grupo de tratamiento, realizando tres repeticiones por grupo¹¹. Las dosis evaluadas fueron: 1,0; 2,0; 4,0 y 8,0 mg/mL (siguiendo una constante creciente), las cuales fueron aplicadas con un asperjador, la cantidad de 10 puff de cada dosis del insecticida vegetal (correspondiente a 0,5 mL). Para el control del ensayo se realizó el mismo procedimiento; reemplazando el extracto por agua.

El bioensayo fue evaluado durante 3 días para determinar la mortalidad y/o susceptibilidad de las larvas del V instar de *S. tangolias*, por grupo de tratamiento. Las larvas fueron consideradas muertas a los 3 días y se identificaron por su inmovilidad y la coloración negruzca.

El bioensayo se realizó bajo condiciones de cría: 30°C y oscuridad¹⁰, esta última para evitar la interferencia de luz o fotólisis de los plaguicidas³⁴ (Anexo 12).

3.4. Análisis de datos

3.4.1. Determinación del porcentaje de mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen)

Se calculó la mortalidad para cada dosis formulada a través de la aplicación de la siguiente ecuación:

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

Con la finalidad de establecer si existen diferencias estadísticas en las mortalidades generadas en cada una de las dosis del extracto de actividad insecticida evaluado, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza ($p < 0.05$). En vista de hallarse significancia en la respuesta evaluada y a fin de determinar la concentración con mayor mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias*, se realizó una prueba de Duncan por comparación de medias a un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$), utilizando el procedimiento del paquete estadístico SPSS 25.

Así mismo se elaboraron cuadros y gráficos estadísticos descriptivos de tendencia central y de dispersión de la mortalidad hallada en cada dosis del extracto evaluado³⁵.

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 SPSS 25.

La regresión Probit es un tipo particular de regresión lineal que se construye para conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración de tóxico) y una variable dependiente (la respuesta=mortalidad) para una especie y un tiempo de exposición al tóxico (normalmente 48 o 96 horas). Para ello la respuesta acumulada de los organismos (mortalidad acumulada) se transforma a unidades Probit (eje Y) y la concentración de tóxico 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)³⁶.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Características físicas del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.

Ensayo	Extracto
Descripción organoléptica del extracto	Extracto de consistencia viscosa, de color ámbar, olor dulce y sabor amargo.
Peso de extracto	48.73g
Humedad	10,32%
Cenizas	0,18%

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.

Componentes químicos	Resultados	Observaciones*
Antocianinas	(+++)	Abundante
Taninos	(+++)	Abundante
Flavonoides	(+++)	Abundante
Cardiotónicos	(+)	Trazas
Alcaloides	(+++)	Abundante
Quinonas	(+++)	Abundante
Triterpenos y esteroides	(+++)	Abundante
Cumarinas	(+++)	Abundante
Azúcares reductores	(+++)	Abundante
Saponinas	(+)	Trazas

Leyenda: (+) trazas, (++) moderado, (+++) abundante.

(*) Los términos descriptivos empleados se encuentran establecidos en artículos de la USP 36 y del NF³¹.

Tabla 4. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.

Disolvente	Observación (Término descriptivo)*
Agua	Moderadamente soluble
Etanol	Fácilmente soluble
n-hexano	Muy poco soluble
Acetona	Prácticamente insoluble
1-butanol	Prácticamente insoluble
Propanol	Prácticamente insoluble
Cloroformo	Prácticamente insoluble

Leyenda: muy soluble, fácilmente soluble, soluble, moderadamente soluble, poco soluble, muy poco soluble, prácticamente insoluble.

(*) Los términos descriptivos empleados se encuentran establecidos en artículos de la USP 36 y del NF³¹.

Tabla 5. Mortalidad de nauplios de *Artemia salina* obtenidas a las 24h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.

Concent. (mg/L)	Dosis (uL)	Cant. larval inicial (N°)	Mortalidad de nauplios (%)			Promedio de mortalidad (%)
			Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	
10	5	10	0	10	0	10
100	50	10	100	90	100	96.66
1000	500	10	100	100	100	100
Control (agua + DMSO)		10	0	10	0	10

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” obtenidas durante tres días de evaluación al ser expuestas a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.

Concentración (mg/mL)	Cantidad larval inicial (N°)	Porcentaje de mortalidad (%)			Promedio de mortalidad (%)
		24h	48h	72h	
	10	0	50	50	
1,0 mg/mL	10	10	40	80	37,78
	10	10	30	70	
	10	0	60	100	
2,0 mg/mL	10	10	60	80	50
	10	10	60	70	
	10	10	60	90	
4,0 mg/mL	10	20	70	90	57,78
	10	10	70	100	
	10	30	100	100	
8,0 mg/mL	10	20	90	100	72,22
	10	20	90	100	
	10	0	10	10	
Control (agua)	10	0	0	20	6.67
	10	0	0	20	
	10	0	0	20	

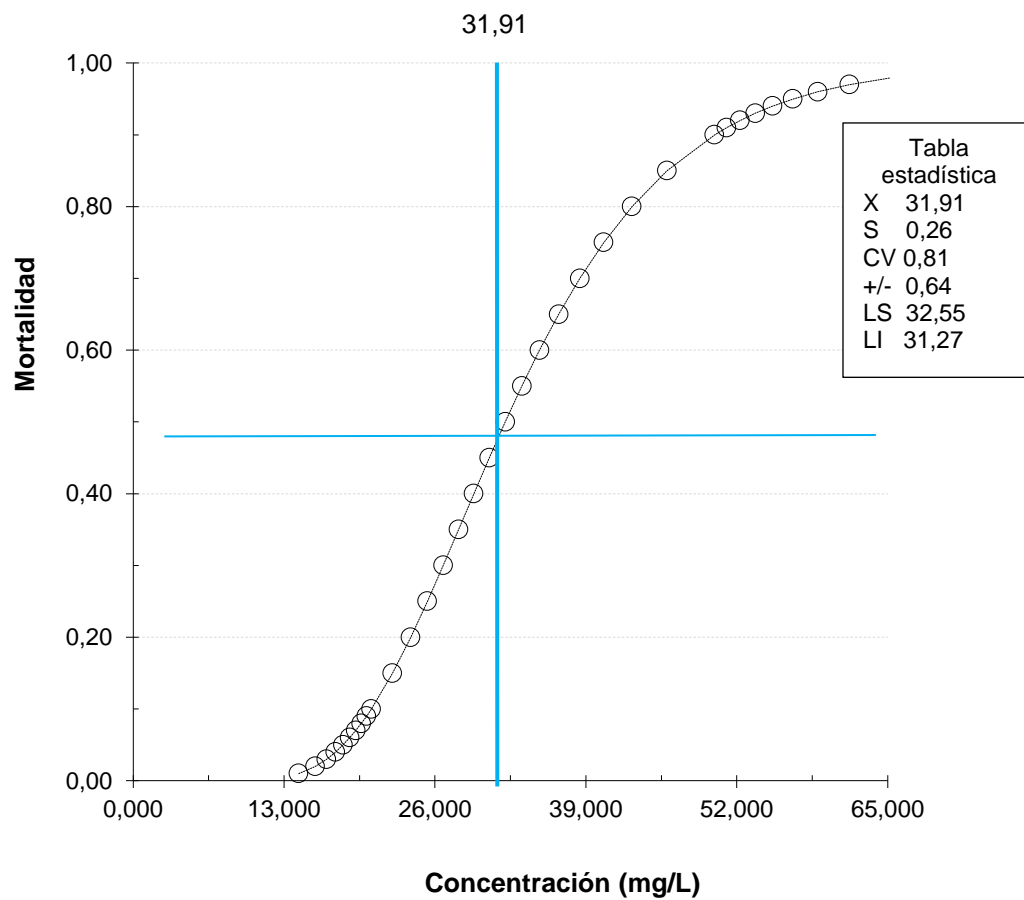


Figura 1. Concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común” sobre nauplios de *Artemia salina*.

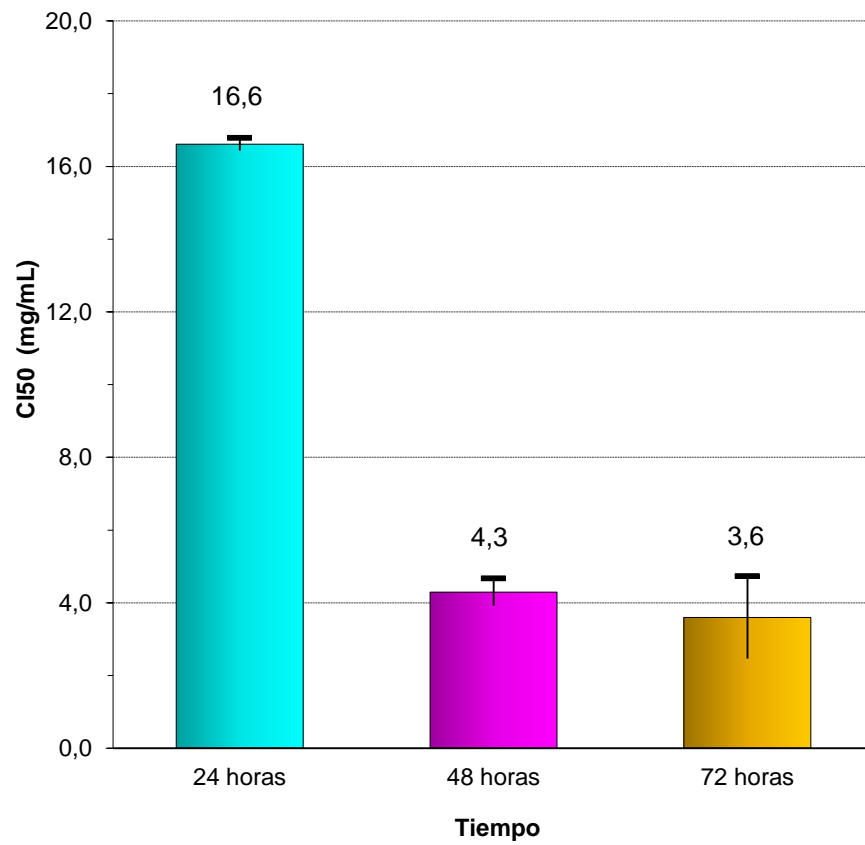


Figura 2. Concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyanthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común” sobre larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” Vs tiempo.

V. DISCUSIÓN

Argyranthemum frutescens (L.) Sch. Bip. “magarza común” es un arbusto perenne que se adapta a una extensa variedad de condiciones climáticas (Anexo 2). Una característica particular de la planta y sus flores en especial es que muestran un olor intenso propio de la especie. Bolaños⁴ en su investigación empleó la flor de *Chrysanthemum parthenium*, una especie similar a la evaluada y mencionó que el olor fuerte y penetrante que presentaban sus flores mantenía alejadas a las abejas de la planta.

La determinación de las propiedades organolépticas se mide a través del análisis sobre las sensaciones que producen³⁷. El extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* se describe como un extracto de consistencia viscosa, debido a las resinas de las flores y a la evaporación de los solventes; de color ámbar, por diferentes pigmentos de las flores; de olor dulce e intenso, propio de las flores y de sabor amargo; debido a que las plantas se protegen a sí mismas de los insectos secretando pesticidas naturales o metabolitos secundarios con cierto sabor amargo como los flavonoides³⁷.

En la evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* se obtuvo un porcentaje de humedad de 10,32% (Tabla 2), el cual se encuentra dentro de los límites establecidos en la USP 36 para las drogas (8-14%)^{31, 37}, así mismo se debe tener en cuenta que el exceso de agua en drogas vegetales es responsable del crecimiento de bacterias y hongos, además de la hidrólisis de sus constituyentes^{37, 38}.

Determinar el contenido de cenizas totales es importante porque nos indica la cantidad de materia inorgánica presente en la muestra, brindando indicios de su calidad⁴⁰. Castillo³⁷ menciona que la cantidad total del material restante de la ignición de la droga incluye tanto ceniza fisiológica, que es aquella que proviene de los componentes minerales de la propia planta y ceniza no fisiológica, que es el residuo de la materia extraña que se adhiere a ella por su contacto con el

suelo, como tierra y arena. En la investigación se determinó el porcentaje de cenizas, resultando 0,18% (Tabla 2), lo cual responde a un valor positivo porque las farmacopeas establecen valores límites menores al 12%³⁷.

El extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* se realizó de la muestra vegetal fresca (flores), puesto que los metabolitos secundarios contenidas en las flores pierden su actividad insecticida. Bolaños⁴ menciona que ello ocurre al ser expuestas a temperaturas superiores a 60°, así como a tiempos prolongados de exposición en caso de someterse a secado. Así mismo, en la investigación se utilizó como solvente el etanol de 70° y agua. Castillo³⁷ menciona que éstos modifican el pH del medio con el fin de obtener los metabolitos secundarios de acuerdo a la solubilidad. El etanol de 70°, como solvente de polaridad intermedia extrae los fitoconstituyentes afines, anulando las interacciones que mantienen atraídos a los principales activos hacia los sistemas hidrofílicos. El agua extrae los principios activos más hidrosolubles, debido a su elevada polaridad; ésta es capaz de extraerlo en sus formas ionizadas. El peso del extracto obtenido fue de 48,73g.

El estudio fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta³⁸. Los metabolitos secundarios vegetales son determinantes en la resistencia de las plantas y del comportamiento general de los insectos fitófagos en su relación con las diferentes especies vegetales.¹ En ese sentido, las pruebas de identificación del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. (Tabla 3) mostraron la presencia de metabolitos secundarios como: antocianinas, taninos, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos y esteroides, cumarinas y azúcares reductores en cantidades abundantes (+++), mientras que otros componentes como cardiotónicos y saponinas se obtuvieron en trazas (+). Dichas cantidades se representan en cruces de acuerdo a lo indicado en la USP 36³¹. Así mismo, Marquez³⁹ mencionó que la composición química de las especies vegetales está sujeta a cambios dependientes de la localización geográfica, altitud, temperatura, entre otras.

El extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común” resultó ser fácilmente soluble en etanol y moderadamente insoluble en agua (Tabla 4), de acuerdo a los criterios establecidos en la USP 36³¹. Bolaños⁴ encontró que el extracto de *Chrysanthemum parthenium* es

prácticamente insoluble en agua, pero son solubles en solventes orgánicos como alcoholes, hidrocarburos clorados, nitrometano, queroseno.

En el presente trabajo, se realizó una evaluación preliminar de toxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*, ya que corresponde a uno de los biomodelos más utilizados en las etapas preliminares de la investigación fitoquímica, así mismo, la toxicidad en vivo de un organismo animal puede usarse como método conveniente para el seguimiento y fraccionamiento en la búsqueda de nuevos productos naturales bioactivos; por tal razón, en este trabajo se decidió realizar el bioensayo de letalidad sobre nauplios de *Artemia salina*⁴⁰ (Anexo 11), donde al ser sometidas a la acción biocida del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común” se obtuvo un porcentaje de mortalidad de: 100% a 1000 mg/L; 96,6% a 100 mg/L y una de 10% a 10 mg/L (Tabla 5).

De acuerdo a este resultado, se realizó la evaluación de la mortalidad de larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” sometidas por el extracto. Las larvas fueron criadas artificialmente en tápers especiales, luego adecuadas a las condiciones de laboratorio una vez conseguidas la presencia de larvas. Al cabo de los 3 días de evaluación al ser expuestas a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”, se obtuvieron los porcentajes de: 37,78% a 1,0 mg/mL, 50% a 2,0 mg/mL, 57,78% a 4,0 mg/mL y un máximo de 72,22% a 8,0 mg/mL, lo cual se describe en la (Tabla 6).

Villanueva¹¹ en su trabajo obtuvo porcentajes de mortalidad a: 0,75 mg/L (10%), mientras que a la concentración de 2,5 mg/L, 3,0mg/L y 4,0mg/L presentaron 26,7% de mortalidad de larvas del III Instar de la misma especie estudiada con un extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens*, lo cual también demuestra una tendencia de dosis dependiente. Villalobos¹⁰ en su investigación detectó actividad en disoluciones de los extractos de *Chrysanthemum coronarium* a la concentración de 10 mg/ml, pero no en las de 1 mg/ml. La mortalidad causada en larvas a los 6 días de colocarlas en contacto con los discos fue del 50% y 52,5% para los extractos de hexano y de acetona respectivamente, aunque el porcentaje aumentó a los 10 días. Al incorporar extractos crudos a la dieta a dosis de 0,1 y 0,05% se obtuvo una mortalidad alta (60-100%) y se detectó inhibición del desarrollo en larvas supervivientes. Las aplicaciones tópicas causaron mortalidad en larvas y pupas. Así mismo menciona que la actividad por

contacto en larvas se ha manifestado por parálisis y necrosis de las mismas, causando la muerte. Estos efectos son, probablemente, consecuencia de la actividad reguladora del crecimiento de los extractos, que produce una metamorfosis precoz en larvas ocasionando la muerte. Por su parte, Dominguez⁴⁰ también menciona que los resultados en laboratorio pueden ser distintos a lo obtenido en los bioensayos, modificado por diferentes factores como: modo de alimentación de los insectos, tipo de exposición, modo de acción del extracto - insecticida, desarrollo fenológico del cultivo y factores climáticos como la humedad y la temperatura, siendo estos uno de los más importantes. En tanto, León³ evaluó el efecto biocida de una mezcla de polvos vegetales de boldo (*Peumus boldus*) y crisantemo amarillo (*Chrysanthemum morifolium*) para el control del gorgojo de arroz (*Stitophilus oryzae* L.), donde el polvo de crisantemo amarillo puro a 4% y 5%, presentó 27% y 60% de mortalidad, por lo que el polvo vegetal de crisantemo amarillo se presenta como una planta prometedora con potencial insecticida cuando se aplica a concentraciones mayores que 5%. Así mismo, la proporción del polvos de Boldo:Crisantemo (70:30) fue mayor: a 4% y 5% resultó 70% y 90% de mortalidad a 96h de exposición.

De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 16) realizado con el software SPSS15, el porcentaje de mortalidad de las larvas del V Instar de *S. tangolias* muestra una significancia de $3,09 \times 10^{-9}$ que es menor de 0,05 lo cual indica que existe una diferencia significativa alta entre las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens*, por lo que se puede mencionar que la propiedad insecticida del extracto es óptima.

Se recalca que los bioensayos se realizaron únicamente sobre el estadio larval de desarrollo del insecto, y se emplearon larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen); Laupa¹ menciona que se realiza en ésta la última etapa la ingesta de alimentos, siendo por ello importante, pasando luego a estados de inactividad (pupas). Así mismo en cuanto a su investigación, los aceites esenciales de *H. mandoniana* no se registró ningún individuo en estado de pupa o pre-pupa, ya que las larvas del quinto estadio murieron inmediatamente al contacto con los tubérculos tratados con estos aceites, lo cual evidencia su alta toxicidad. Durante la investigación, en su crianza se pudo observar la agilidad con las que se desplazan fuera de los tubérculos, barrenando varios de ellos, por lo que se puede decir que es el estadio en el que se produce mucha más pérdida de tubérculos sanos en almacén. Así mismo, la composición estructural

(como los aminoácidos) y bioquímica de la superficie del integumento de las larvas varían según el estadio larval en el que se encuentren⁴¹. Por tanto estos resultados deberán ser tomados como preliminares para futuras investigaciones. En consecuencia, respecto a la acción tóxica del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* sobre las larvas de *Symmetrischema tangolias* probablemente se deba a la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, triterpenos y otros, por ejemplo Villalobos¹⁰ menciona que la actividad biológica de los sesquiterpenos del tipo lactona son abundantes en las especies de la familia Compositae y que este tipo de compuestos puede tener actividad inhibidora de alimentación, del desarrollo y de la oviposición en insectos, aunque no tienen actividad por contacto. En *Chrysanthemum macrophyllum* las lactonas del tipo sesquiterpeno son deterrentes de alimentación en adultos y larvas de *Tribolium confusum* y *Sitophilus granarius*.

En el estudio, la concentración letal media (CL₅₀), en primera instancia se realizó una evaluación preliminar de la acción toxica del extracto hidroalcohólico sobre los nauplios de *Artemia salina*, el resultado fue de 31,9mg/L (Figura 1). Éste resultado fue comparado con valores establecidos en la tabla de clasificación del grado de toxicidad según el CYTED para *Artemia salina*³⁴ (Tabla 1), encontrándose con la clasificación II, altamente tóxico, lo cual indica un efecto insecticida óptimo del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* sobre los quistes de *Artemia salina*. De acuerdo con estos resultados se puede decir que la muestra evaluada manifestó toxicidad frente a la *Artemia salina*, por lo que es notable la importancia de la utilización de este ensayo como prueba alternativa de toxicidad.

En un estudio, Sánchez³³ se centró en la evaluación y verificación de la letalidad de las fracciones acetato de etilo obtenida de los extractos etanólicos de los frutos en estado de madurez, verde y pintón, utilizando la cáscara y pulpa de las especies guayaba (*Psidium guajava* L) y Choba (*Psidium guineense* Sw), donde muestra resultados promisorios del ensayo de letalidad en *Artemia salina*, aplicado a las fracciones de acetato, en lo que se refiere a actividad biológica preliminar; ya que se encontraron valores de CL₅₀ de 181,4 y 221,30 g/mL, los cuales se clasifican según el CYTED como moderadamente tóxicos (entre 500-100 g/mL).

Ya realizado la evaluación preliminar, la CL₅₀ del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* sobre larvas de *Symmetrischema tangolias*

fueron obtenidas a las 24h, 48h y 72h de exposición a diferentes concentraciones del extracto y se realizó de acuerdo al análisis Probit con un límite de confianza de 95%. Los resultados obtenidos fueron: 16,6mg/L a las 24h; 4,3mg/L a las 48h y de 3,6mg/L a las 72h, por lo que se puede mencionar que a medida que pasa el tiempo la mortalidad en las larvas será óptima, siendo este último resultado el más recomendable para generar una mortalidad del 50% de la población de larvas (Figura 2). Villanueva¹¹ en su investigación estableció la CL₅₀ en 6,14mg/L del extracto de *Ambrosia arborescens* para la población de larvas de *Symmetrischema tangolias* como la más recomendable, también con un límite de confianza al 95%, por lo que indica que 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 que 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, en la investigación de Laupa¹, se determinó que la DL₅₀ después de 24 horas de exposición de las larvas al aceite esencial de *M. spicata* es de 26.96 ppm, para *C. brevicalyx* es de 38.92 ppm y para *H. mandoniana* es de 13.46 ppm. Así mismo se encontró que los aceites esenciales son altamente tóxicos, tienen un efecto biocida, llegando a matar al 100 % de la población de polillas en un corto período de tiempo. Los extractos alcohólicos tienen menor efecto que los aceites esenciales, presentan un efecto de antibiosis afectando la oviposición de adultos y el desarrollo de larvas de la polilla de la papa, en adición de un efecto biocida.

Las observaciones que se tuvieron después de la aplicación de las dosis disueltas del extracto fueron que al cabo de media hora, las larvas tenían unos movimientos involuntarios por unos segundos, similares a los calambres y luego se desplazaban con normalidad. Al cabo de dos horas las larvas perdieron movilidad por unos minutos y luego se desplazaban con normalidad, a diferencia de las larvas que sólo recibieron agua; así mismo, durante los días de investigación se observó el cambio de coloración de un color verduzco a uno oscuro o negruzco, color que indicaba su muerte (Anexo 14). Por otra parte, se observó la disminución de tamaño a medida que pasaba el tiempo y las larvas de las concentraciones mayores no se alimentaron de los trozos de papas. Por su parte, Villalobos¹⁰ menciona que la actividad por contacto en larvas se ha manifestado por parálisis y necrosis de las mismas, causando la muerte. Estos

efectos son, probablemente, consecuencia de la actividad reguladora del crecimiento de los extractos, que produce una metamorfosis precoz en larvas ocasionando la muerte. Otros estudios indican que los reguladores del crecimiento de insectos también tienen acción por ingestión, interfiriendo con la alimentación de los insectos.¹⁰ Bolaños⁴ menciona en su investigación que, las piretrinas son muy tóxicas para mosquitos, produciendo en ellos una acción rápida de parálisis conocida como efecto derribe. Mientras tanto, Laupa¹ indica que los extractos alcohólicos tienen menor efecto que los aceites esenciales y presentan un efecto de antibiosis afectando la oviposición de adultos y el desarrollo de larvas de la polilla de la papa, en adición de un efecto biocida. Así mismo, afectan el desarrollo normal de las larvas, no permitiendo que estos puedan alimentarse normalmente o al ser consumido el tubérculo inhibe su metabolismo, o genera repelencia.

La revalorización de las plantas como fuente de sustancias con propiedades insecticidas se viene difundiendo desde los últimos 35 años y en algunos países de América Latina como Brasil, México, Ecuador y Chile, se han desarrollado líneas de investigación que buscan en las plantas, compuestos químicos con menor impacto ambiental y potencial para el control de plagas agrícolas³. Sin embargo investigaciones previas mencionan que el uso de insecticidas químicos sólo debe ser una medida complementaria dentro del manejo integrado de plagas en el cultivo de la papa y su aplicación debe ser oportuna y satisfacer las necesidades de los productores, para obtener una mayor efectividad y asegurar el éxito de las cosechas de este cultivo de gran importancia para la región andina⁴⁰.

Es conveniente hacer un balance en el cual se establezca qué resulta más costoso a la larga: si seguir utilizando productos insecticidas sintéticos que producen daños al ambiente, aunque el producirlos en grandes cantidades o establecer un proceso que monetariamente puede ser costoso, pero que el producto de interés permita ya no sanear la problemática actual de contaminación del medio, si no al menos contribuir a la reducción del mismo⁴.

Para finalizar, los resultados de este bioensayo permitieron obtener una referencia de susceptibilidad de esta plaga al extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común” el cual es de conocimiento útil futuras investigaciones y su posible aplicación de en las áreas de mayor infestación de la plaga en el cultivo de la papa.

VI. CONCLUSIONES

Luego de analizar los resultados de la presente investigación se ha obtenido las siguientes conclusiones.

1. El extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” es soluble en etanol; los principales componentes hallados fueron las antocianinas, taninos, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos y esteroides, cumarinas y azúcares reductores. Así mismo, las flores contienen 10,32% de humedad y 0,18% de cenizas.
2. Por efecto tóxico del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”, las larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) presentaron un máximo porcentaje de mortalidad de 72,22% a 8,0 mg/mL y un mínimo de 37,78% a 1,0mg/mL.
3. La concentración letal media (CL₅₀) del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” frente a las larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) fueron: 16,6mg/L a 24h, 4,3mg/L a las 48h y 3,6mg/L a las 72h. Así mismo se obtuvo una CL₅₀ de 31,91mg/L en una evaluación preliminar del efecto tóxico del extracto sobre nauplios de *Artemia salina*.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para un mejor estudio, llevar a cabo pruebas químicas para la identificación de compuestos activos: espectrofotometría de masa, ultravioleta visible (UV-Vis), infrarrojo (IR), cromatografía en capa fina y otros, tanto a las flores como a las hojas de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.
2. Realizar futuras investigaciones del efecto de la aplicación de insecticidas botánicos, biológicos, químicos, en cultivos de papa para determinar si el producto botánico de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común” mantiene sus buenos resultados para el control de la especie *Symmetrischema tangolias* (Gyen), “polilla de papa” u otras especies.
3. Determinar el ciclo de vida de la plaga en laboratorio, observar sus características en cada estadio e identificar correctamente el espécimen de la plaga y compararlos con investigaciones en otros países.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Laupa J, Vengoa B. Efecto de tres especies de lamiáceas y tubérculos verdeados de papa sobre *Symmetrischema tangolias* (Gyen) en condiciones de laboratorio. [Tesis]. Cusco Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2013 [acceso 10 de junio del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/887>
2. Montesino M, López H, Hernández J. y De Zayas E. Insecticidas botánicos como alternativas para el manejo de plagas en sistemas agroforestales. Agricultura orgánica. [Revista en internet] 2009. [acceso 15 de junio del 2017]; 1: 24 – 26. Disponible en: http://www.actaf.co.cu/revistas/revista_ao_95-2010/Rev%202009-1/13-insecticidas.pdf
3. León M, Centurión J. Efecto biocida de una mezcla de polvos vegetales de boldo (*Peumus boldus*) y Crisantemo amarillo (*Chrysanthemum morifolium*) para el control del gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae* L.) en laboratorio. Tecnología y desarrollo. [Internet]. 2015 [acceso 15 de junio del 2017]; 13(1): 007-012. Disponible en: <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/RTD/article/view/746/585>
4. Bolaños E, Medina M, Murrieta R. Diseño de un proceso para la obtención de piretro a partir de *Chrysanthemum Parthenium* a usarse como insecticida doméstico en mosquitos [Tesis]. Veracruz-México: Instituto Tecnológico de Veracruz; 2011 [acceso 10 de noviembre del 2017]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/93987421/Diseno-de-un-proceso-para-la-obtencion-de-piretro-a-partir-de-Chrysanthemum-Parthenium-A-usarse-como-insecticida-domestico-en-mosquitos>
5. Murillo W, Salazar D. Tendencias verdes en la agricultura para el manejo y control de plagas. Revista Tumbaga [Internet] 2011. [acceso 02 de noviembre del 2017]; 6: 63-92. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3944184.pdf>
6. Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CIDA). Evaluación y selección de especies vegetales productoras de compuestos naturales con actividad insecticida. [Internet] Murcia. [acceso 02 de noviembre del 2017]; 1997. Disponible en: <http://www.inia.es/gcontrec/Proyectos/resultados-97/Agricola/sc94-039.pdf>
7. Ministerio de agricultura. La papa. Principales aspectos de la cadena agroproductiva. [Monografía en internet]. Perú: Centro de documentación agraria; 2012 [acceso 01 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/54/papa.cadena%202012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Vera V, Gonzales M, Chambilla C, Garrett K. Efecto de las variaciones climáticas en el comportamiento de dos polillas (*Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*) en el cultivo de papa en comunidades del Altiplano Central. [Monografía en internet]; 2009 [acceso 01 de diciembre del 2017]. Disponible en: <https://sanremcrsp.cired.vt.edu/wp-content/uploads/2013/11/0109DosPolillas.pdf>
9. Mamani D. Control biológico e interacción de baculovirus PoGV, y *Bacillus thuringiensis* var Kurstaki sobre polilla de la papa: *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen) (Lepidoptera: Gelechiidae) [tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Lima-Perú; 2008 [acceso 10 de setiembre del 2016]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/227/Mamani_sd.pdf?sequence=1

10. Villalobos P. Evaluación de la actividad insecticida de extractos vegetales de *Chrysanthemum coronarium* L. Bol. San. Veg. Plagas [Internet] 1996 [acceso 2 de diciembre del 2017]; 22: [411-420]. 1996. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/BSVP-22-02-411-420.pdf>
11. Villanueva V. Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill “marco” sobre larva *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa”. Ayacucho 2012 [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
12. Naranjo N. Descripción etológica de la polilla del cultivo de papa (*Solanum Tuberosum* L.) variedad leona blanca en laboratorio. Ceasa, sector Salache, provincia de Cotopaxi. [Internet]. Latacunga – Ecuador; 2015. [acceso 2 de diciembre del 2017]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Descripci%C3%B3n-etol%C3%B3gica-de-la-polilla-del-cultivo-de-V%C3%A1squez-Isabel/140838a81f94bfbe2c274051505914f211d022fa>
13. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO). Glosario de términos fitosanitarios. Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF 5) [Internet]; 2016 [acceso 5 de diciembre del 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-mc891s.pdf>
14. Gómez M. Dinámica poblacional de tres especies de polilla de la papa (*Phthorimaea operculella* Z., *Paraschema detectendum* P., *Symmetrischema tangolias* t.) En tres comunidades del altiplano central. La Paz-Bolivia. [Internet]. La Paz-Bolivia; 2010 [acceso 3 de marzo del 2018]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/10101>
15. Russo S. Toxicidad, efecto antialimentario y repelente de metabolitos secundarios de *Eucalyptus globulus* (Labill) (Myrtaceae) sobre coleópteros de importancia agrícola. [Tesis]. Universidad Nacional de La Plata: Argentina; 2013. [acceso 3 de marzo del 2018]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/29819/Documento_completo___pdf?sequence=2&isAllowed=y
16. Gamez M, Ramírez E. Determinación de la concentración letal media (CL 50-48) del herbicida glifosato roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. [Tesis]. Universidad de la Salle: Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá – Colombia; 2008. [acceso 02 de enero del 2019]. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14062/T41.08%20G145d.pdf?sequence=1>
17. Teillier, S. & A. Marticorena. *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. (Asteraceae-Anthemidae) en la flora alóctona asilvestrada de Chile. *Chloris Chilensis* [revista en internet] 2011. [acceso 03 de enero del 2019]; 14: (1). Disponible en: <http://www.chlorischile.cl>
18. Gil M. Flora vascular de Canarias [Internet]; actualizado enero del 2019. [acceso 22 de enero del 2019]. Disponible en: <http://www.floradecanarias.com/>
19. El mundo de las plantas. *Chrysanthemum frutescens*. [Internet]; actualizado enero del 2019. [acceso 15 de enero del 2019]. Disponible en: https://www.botanical-online.com/margarita_chrysanthemum_frutescens.htm
20. Ministerio de Agricultura, alimentación y medio ambiente. Guía práctica de flora ornamental, aromática y medicinal autóctona de Canarias para espacios verdes urbanos. [Monografía en internet]. España. [acceso 10 de enero del 2019]. Disponible en: www.unesxograncanaria.com

21. The plant list. A working list of all plant species. [Internet] 2013. [acceso 10 de enero del 2019]. Disponible en: <http://www.theplantlist.org>
22. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de la drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega, S.A. Plató – Barcelona. 2000.
23. Del Vitto L, Petenatti E. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. Multequina – Mendoza [internet] 2009 [acceso 05 de diciembre del 2017]; 18 (2): [87-115]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-73292009000200003
24. Arenas M. R. 1995. “Fluctuación poblacional y control de la polilla de la papa (*Phthorimaea operculella*; Zeller)”. [Tesis]. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho” Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales: Ingeniería Agronómica, Tarija – Bolivia. [acceso 05 de diciembre del 2018]; pp. 1 – 91. Disponible en: http://biblioteca.uajms.edu.bo/opac_css/index.php?lvl=author_see&id=21643
25. Vargas M. Caracterización de tres cepas de *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch y su virulencia en *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen) [tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Lima-Perú; 2003 [acceso 10 de setiembre del 2018]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1419/1/Vargas_fm.pdf
26. Mayorga P, Pérez K, Cruz S, Cáceres A. Comparison of bioassays using the Anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. Rev. bras. farmacogn. [Revista en internet] 2010. 20(6) Curitiba Dec. [acceso 10 de setiembre del 2018]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000600012
27. Centros poblados. Centro poblado de Manallasacc - Distrito de Chiara [Internet] 2015 [acceso 11 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://bancodepoliticosdelperu.com/centros-poblados/centro-poblado-san-antonio-de-manallasacc-distrito-chiara-prov-huamanga-region-ayacucho/>
28. Martínez A, Valencia G, Jiménez N, Mesa M, Galeano E. Manual de Prácticas de laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica [Internet] Medellín: Universidad de Antioquía; 2008. [acceso 21 de junio del 2017]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/manual2008.pdf>
29. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Editorial Félix Valera. La Habana Cuba. 2000
30. Look O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Lima. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Lima. 1994.
31. USP 36 - Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario nacional. 2013.
32. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Manual de técnicas de Investigación, 1995.
33. Sánchez L, Neira A. Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava*. L y *Psidium guineense*. Sw. 2015
34. Lannacone 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. Entomotrópica. [Revista en internet]

2003. [acceso 12 de setiembre del 2018];18 (2): 95–105. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3317>
35. Lagunes T, Villanueva J. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados. México; 1994. P. 257.
 36. Fernández A. Probit-CL50 - Práctica módulo ecotoxicología: cálculo de las concentraciones letales 50 (CL50) a 96 horas para la toxicidad del nitrito en dos especies de invertebrados de agua dulce (*Eulimnogammarus toletanus* y *Polycelis felina*) [Internet]. Universidad de Alcalá; 2016 [acceso 12 de setiembre del 2018]. Disponible en: <https://alvaroalonsodocencia.wikispaces.com/Probit-CL50>
 37. Castillo E, Ibañes L. Características fisicoquímicas de la hoja del extracto acuoso de las hojas de *Tessaria integrifolia* procedente del distrito de Moche – Trujillo (La Libertad). 2017.
 38. Ruiz S. Contribución del estudio farmacognóstico y farmacodinámico de las hojas de *Mangífera indica* L. al usomedicinal. Trujillo – Perú. 2009
 39. Márquez I, Bastidas T, Fernández G. Estudio farmacognóstico preliminar de tallo y raíz de la especie Moringa Oleífera Lam cosechada en Machala. Rev Cub de Plant Med. 2017.
 40. Domínguez I, Carrero C, Ramírez W, Segovia P, Pino H. Evaluación del efecto de insecticidas sobre larvas de *Tecia solanivora*. [Tesis]. Agricultura Andina; 2009 (17) [acceso 12 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/32309>
 41. Nahed A, Tarek R, Iman M. Biochemical Influences of Some Volatile Oils on Potatoe Tuber Moth, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Pakistan Journal of Biological Science. [Revista en internet] 2001. [acceso 12 de marzo del 2019] 4 (8); 983 – 985. Disponible en: <https://cipotato.org/riskatlasforafrica/phthorimaea-operculella/>
 42. Kroschel J. Desarrollo y aplicación de prácticas ecológicas en el manejo de plagas para incrementar la producción sostenible de papas de los agricultores de bajos recursos en las regiones andinas de Bolivia, Ecuador y Perú. Informe de Seguimiento Técnico Anual (ISTA) y POA. [Internet]. 2009-2010 [acceso 12 de marzo del 2019]. Disponible en: https://www.fontagro.org/wp-content/uploads/2006/01/pp_ISTA_06_04_2009.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de *Argyranthemum frutescens* “magarza común”, según el Sistema de Clasificación de Cronquist A. 1988.



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Diana Carolina, GARCÍA MALLQUI, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para 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	:	<i>Argyranthemum</i>
ESPECIE	:	<i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip.
SINONIMIA	:	<i>Chrysanthemum frutescens</i>
N.V.	:	“magarza común”

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

Ayacucho, 21 de Junio del 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Laura Lucastine Méndez
JEFE

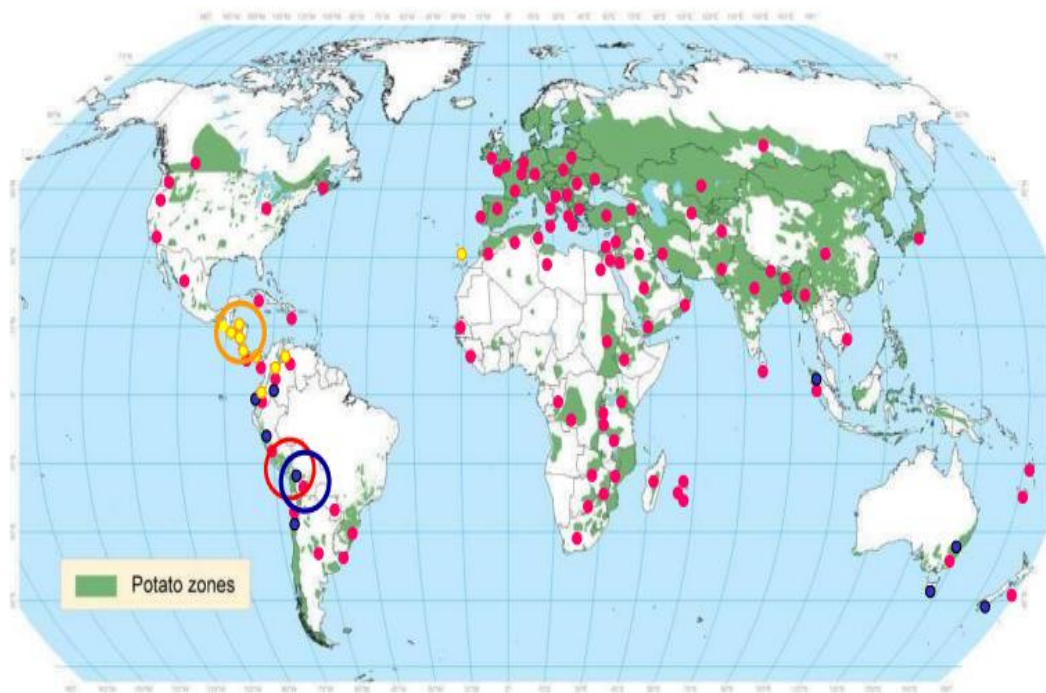
Fuente. *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Anexo 2. Fotografía de la planta y flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.



Fuente. Área verde la Facultad de Ciencias Económicas, Administrativas y Contables de la UNSCH, marzo - 2018.

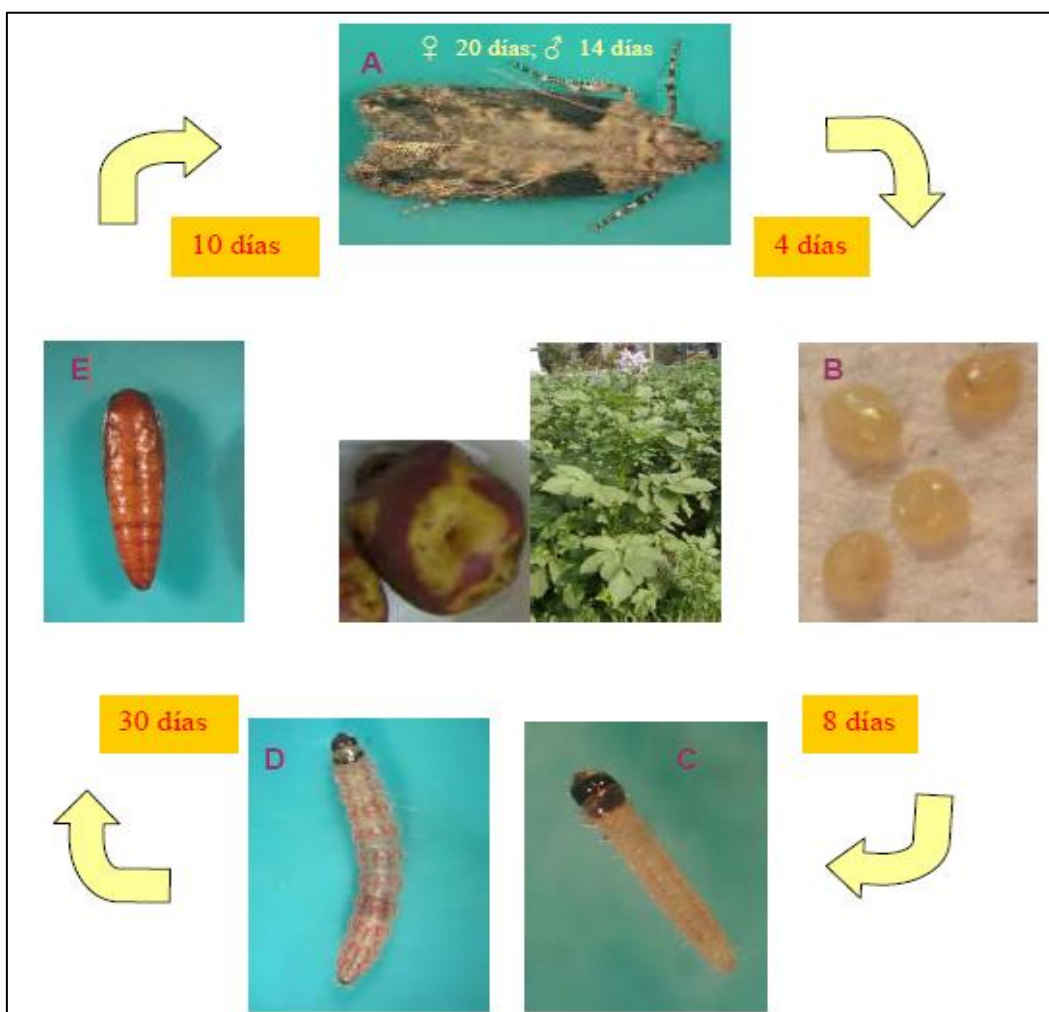
Anexo 3. Principales zonas productoras de papa y países con ocurrencia reportada de las tres especies de plagas más importantes.



- *Phthorimaea operculella*
- *Symmetrischema tangolias*
- *Tecia solanivora*

Fuente: Kroschel J. Proyecto FONTAGRO-Informe de Seguimiento Técnico Anual (ISTA) y POA 2009-2010⁴².

Anexo 4. Ciclo de vida de la polilla andina de la papa, *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de la papa”; A) Adulto; B) Huevo; C y D) Larvas de primer y último estadio; E) Pupa (temperatura promedio de 20,3 °C).



Fuente. Obtenido de un estudio realizado por PROINPA (1999), mencionado por Mamani (2008)⁹.

Anexo 05. Recolección de muestras de papas infestadas por la especie *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de la papa”, en almacenes de papa del Centro poblado de Manallasacc – Chiara.



Fuente. Fotografía realizada en un almacén de papa del Centro poblado de Manallasacc – Chiara, agosto – 2017.

Anexo 6. Esquema de la identificación fitoquímica según el modelo de Miranda M, Cuellar A. 2000²⁹.

Metabolitos Secundarios	Ensayos	Observación
Antocianinas	Antocianidina	Aparición de color rojo a marrón en la fase amíllica.
Taninos y fenoles	Cloruro férrico	Formación de una coloración negruzca.
Flavonoides	Shinoda	Color rojo carmelita intenso.
Cardenólidos	Kedde	Hay coloración azul violácea.
	Draguendorf	
Alcaloides	Mayer	Formación de precipitado en todas las reacciones.
	Wagner	
	Scheibler	
Quinonas	Solubilidad sol. NaOH 5%	Coloración roja-violeta indica un ensayo positivo de contenidos quinónicos.
Triterpenos y esteroides	Liebermann - Burchard	1. Rosado 2. Verde intenso visible 3. Verde oscuro negro
Cumarinas (Lactonas)	Baljet	Coloración o precipitado rojo.
Azúcares reductores	Fehling Benedict	Formación de precipitado rojo ladrillo.
Saponinas	Espuma	Formación de espuma en la superficie.

Anexo 7. Modo de acción de los metabolitos secundarios sobre insectos¹¹.

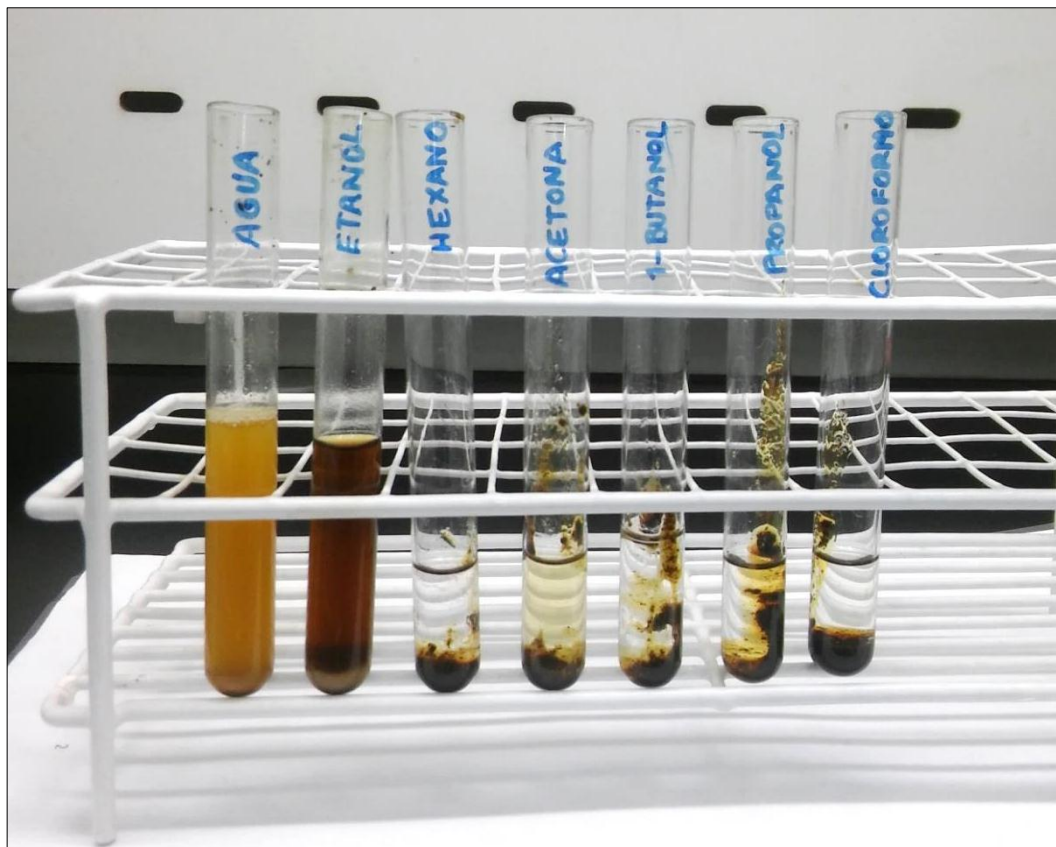
COMPUESTO	MODO DE ACCIÓN
Alcaloides	<ul style="list-style-type: none">• Interferencia con la replicación del ADN.• Interferencia con el transporte en membranas.• Inhibición de enzimas.• Agonista de la acetil colina.
Flavonoides	<ul style="list-style-type: none">• Inhibición de la NADH deshidrogenasa en el transporte respiratorio de electrones• Repelentes y disuasorios.• Interfieren en la producción de la hormona de la muda y de la hormona juvenil.
Terpenoides	<ul style="list-style-type: none">• Inhibidores de la síntesis de quitina.• Inhibición de enzimas digestivas.
Glicósidos cianogénéticos	<ul style="list-style-type: none">• Inhibición de la citocromo oxidasa en el transporte respiratorio de electrones
Glucosinolatos	<ul style="list-style-type: none">• Repelentes y disuasorios
Cumarinas	<ul style="list-style-type: none">• Reaccionan de forma irreversible con el ADN.
Taninos y ligninas	<ul style="list-style-type: none">• Reductores de la digestibilidad.
Quinonas	<ul style="list-style-type: none">• Reductores de la digestibilidad.
Piretrinas	<ul style="list-style-type: none">• Actúan sobre los canales de sodio de las neuronas interfiriendo con la transmisión de impulso nervioso.
Saponinas	<ul style="list-style-type: none">• Reductores de la digestibilidad.• Alteran la estructura de membranas.

Anexo 8. Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”



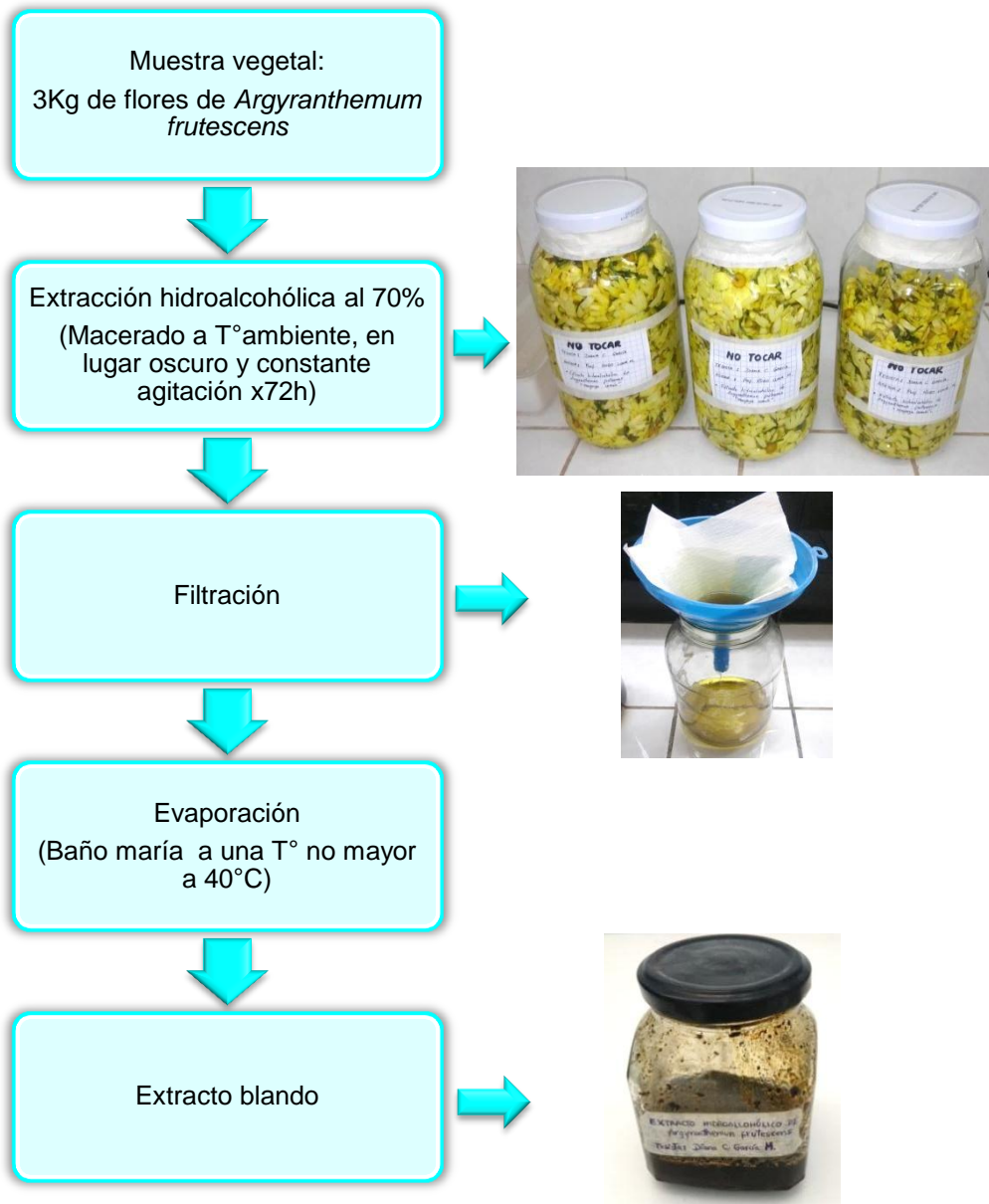
Fuente. Centro de desarrollo, análisis y control de calidad de medicamentos y fitomedicamentos “Marco A. Garrido Malo”, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, junio - 2018.

Anexo 9. Determinación de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.



Fuente. Fotografía realizada en el Laboratorio de química de la salud “Francisco del Castillo”.

Anexo 10. Proceso de maceración y obtención del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip. “magarza común”.



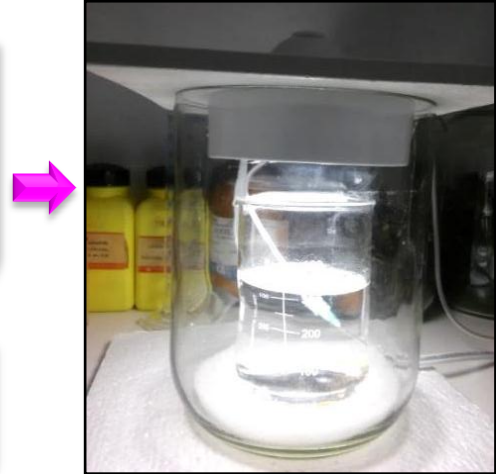
Fuente. Olga Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica – Métodos de estudio de productos naturales. 1994³⁰.

Anexo 11. Procedimiento del bioensayo de toxicidad del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* en *Artemia salina*.

Bioensayo de toxicidad del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* en *Artemia salina*
(Citotoxicidad en larvas del crustáceo)

Día 1

- Preparación de agua de mar en agua destilada (3.8g/100mL), filtrar.
- Colocar huevos de *A. salina* (aprox. 50mg) en un vaso de precipitado con 350mL de agua de mar con luz artificial y bomba de oxígeno con burbujeo lento.



Día 2

- Transferir la mayor cantidad de nauplios vivos a un vaso de precipitado con agua de mar fresca.

Día 3

- Disolver 20mg del extracto hidroalcohólico en 0.5 mL de DMSO + 1.5 mL de agua destilada, por ser poco soluble. Adicionar al control: 50uL de DMSO).
- Preparar diluciones de 1000, 100 y 10 ppm.
 - Aplicar dosis: 500, 50 y 5 uL respectivamente.

- Cada vial debe contener: 10 nauplios, la dosis del extracto, una gota de suspensión de levadura (3mg x 5mL de agua de mar) y agua de mar hasta completar 5mL..

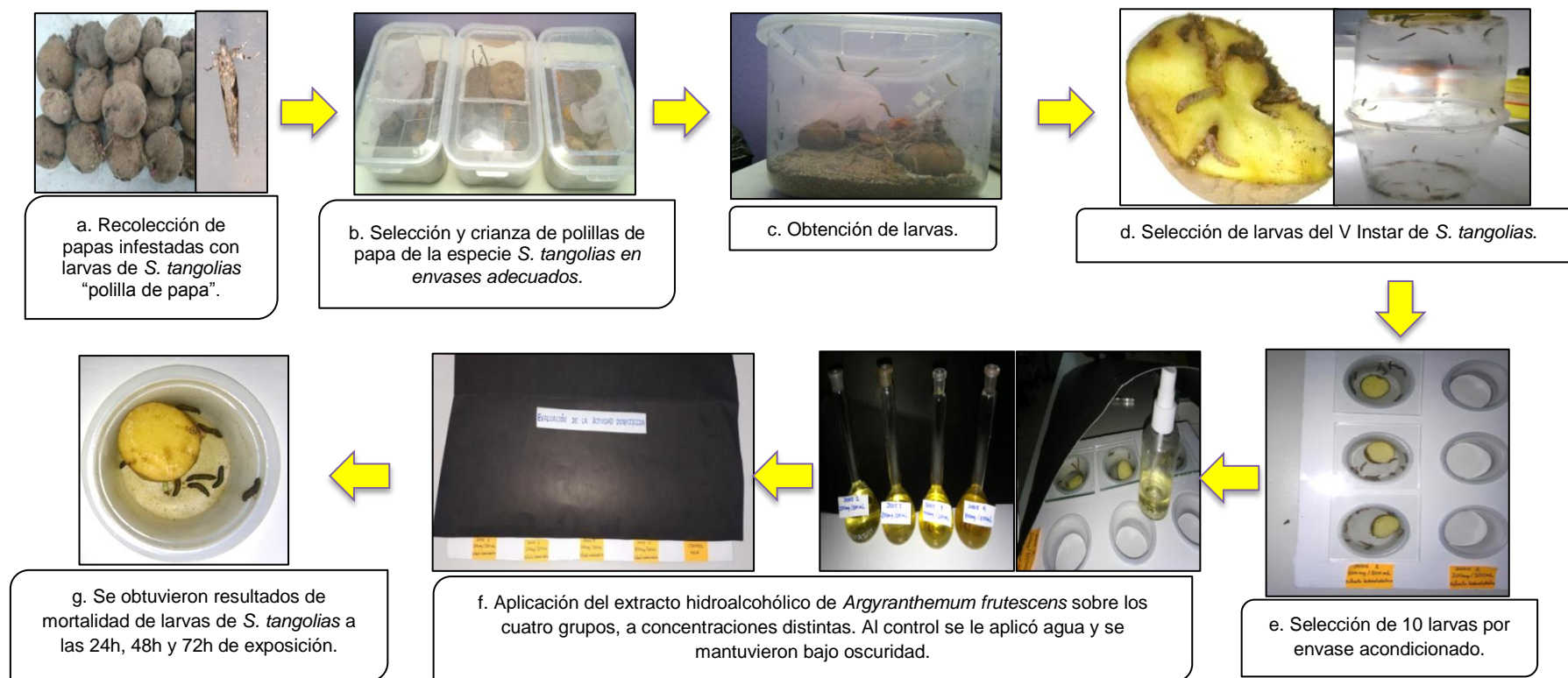


Día 4

- Conteo de los sobrevivientes de cada dilución al cabo de 24h.
- Análisis de datos, CI_{50} .

Fuente. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Manual de técnicas de Investigación, 1995³²

Anexo 12. Procedimiento del ensayo de toxicidad sobre larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de la papa” desde su obtención.



Fuente. Elaboración propia. Centro de Investigación en Bioquímica Clínica y Molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, noviembre 2018

Anexo 13. Fotografía del ensayo de toxicidad sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de la papa” a las 72h de exposición.



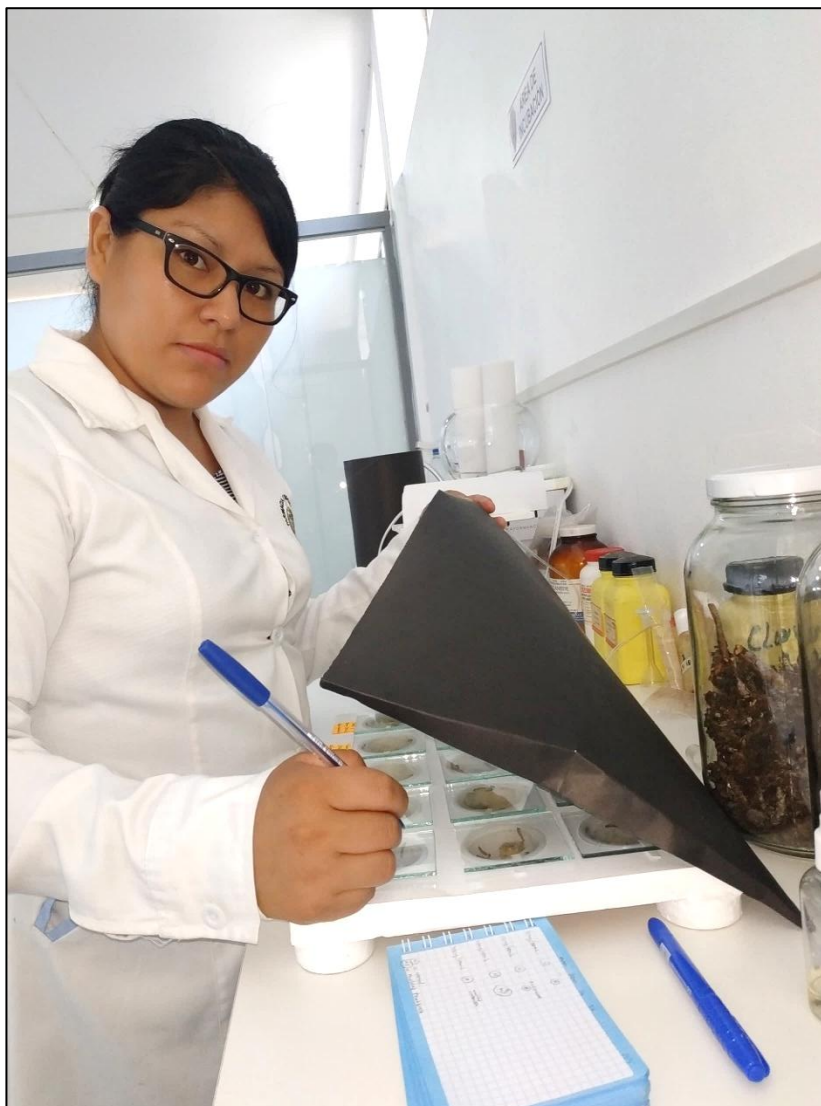
Fuente. Centro de Investigación en Bioquímica Clínica y Molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, noviembre 2018.

Anexo 14. Toxicidad por contacto en larva de *Symmetrischema tangolias* (Gyen)
“polilla de la papa”.



Fuente. Fotografía realizada en el segundo día del ensayo de toxicidad sobre larvas de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) en el Centro de Investigación en Bioquímica Clínica y Molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, noviembre 2018.

Anexo 15. Conteo del número de larvas muertas a las 24 horas de exposición del extracto hidroalcohólico de *Argyranthemum frutescens* “margarza común”.

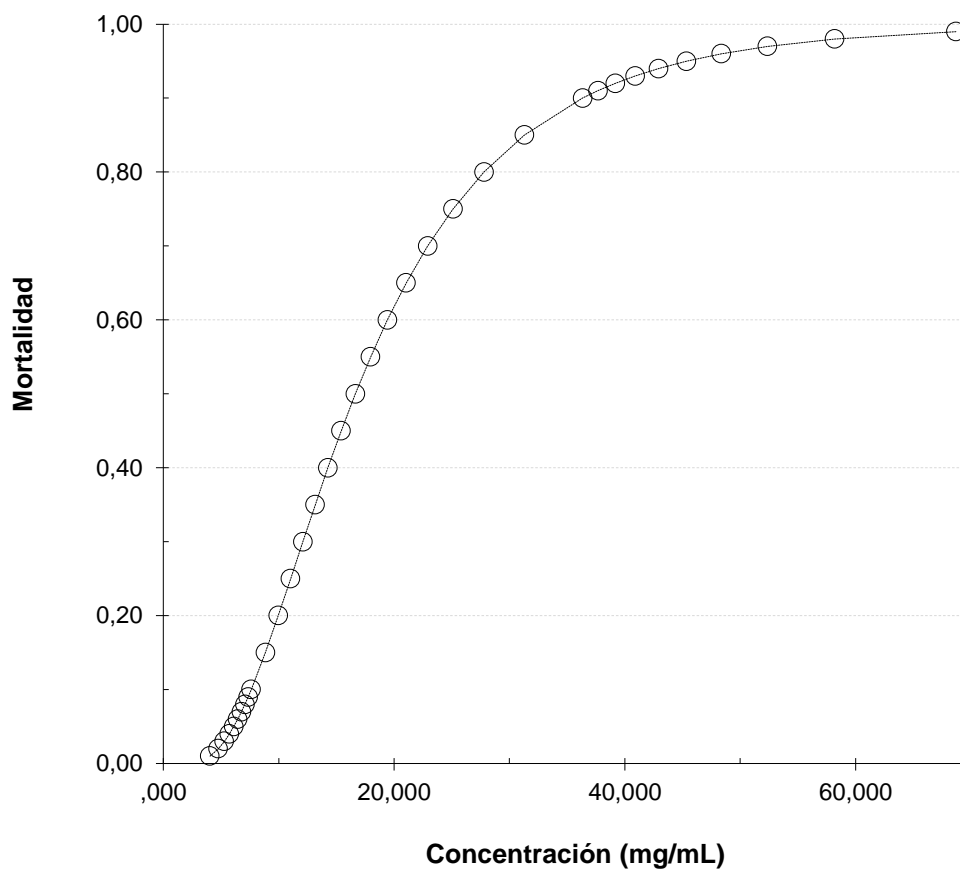


Fuente. Fotografía realizada en el Centro de Investigación en Bioquímica Clínica y Molecular de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, noviembre 2018.

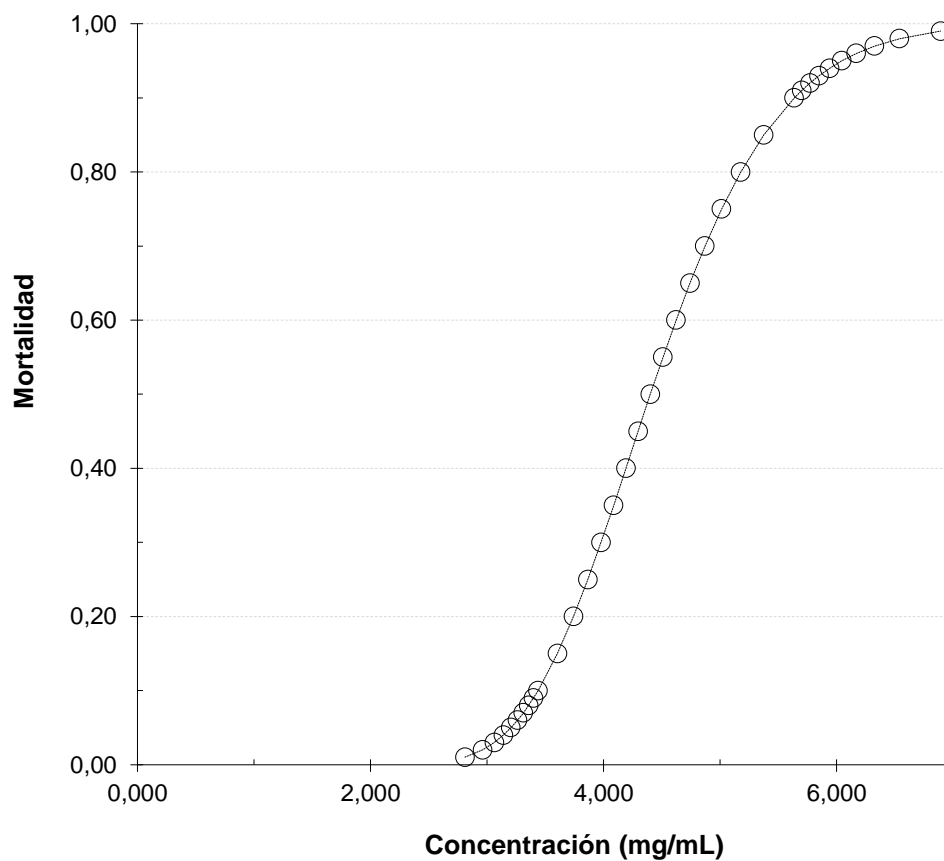
Anexo 16. Análisis de varianza

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	321,6	2,0	160,8	2055,3	$3,09 \times 10^{-9}$
Dentro de grupos	0,5	6,0	0,1		
Total	322,1	8			

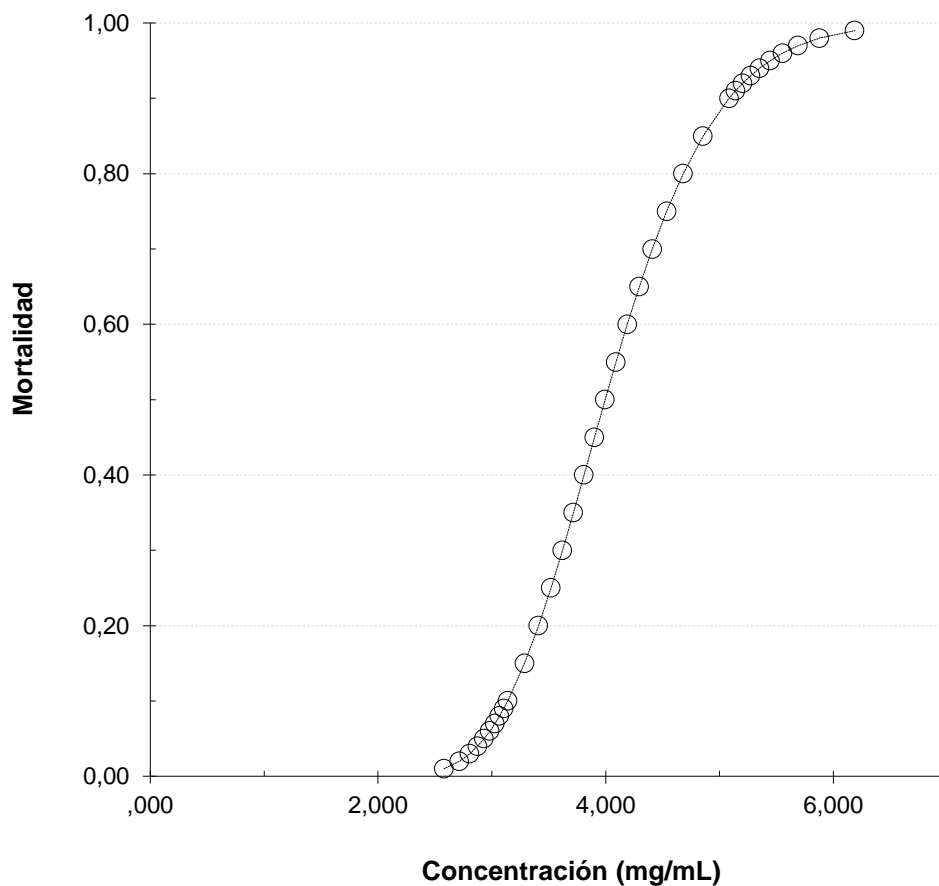
Anexo 17. Mortalidad de larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 24h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.



Anexo 18. Mortalidad de larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 48h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.



Anexo 19. Mortalidad de larvas del V Instar de *Symmetrischema tangolias* (Gyen) “polilla de papa” obtenidas a las 72h por exposición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las flores de *Argyranthemum frutescens* (L.) Sch. Bip “magarza común”.



Anexo 20. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común" sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa". Ayacucho – 2018.	¿Tendrá actividad insecticida el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común" sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa"?	<p>Objetivos Generales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común" sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa". <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar los parámetros fisicoquímicos e identificar los componentes fitoquímicos del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común". • Evaluar el porcentaje de mortalidad de las larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) provocado por el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común". • Determinar la concentración letal media (CL50) del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común" sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa". 	<p>Insecticida</p> <p>Un insecticida es aquella sustancia o mezcla de sustancias que provocan la muerte del insecto debido a la naturaleza de su estructura química².</p> <p><i>Argyranthemum frutescens</i></p> <p>Arbusto utilizado con mucha frecuencia como ornamental, se conoce como <i>Chrysanthemum frutescens</i>. Pertenece a la familia Asteraceae, en la cual existen muchas especies con propiedades insecticidas, tal es el caso de la flor del crisantemo^{17,18,20}.</p> <p><i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa"</p> <p>Considerada como plaga de importancia en el cultivo de la papa. Los daños producidos por esta especie llegan a ser mucho más severos que los producidos por <i>P. operculella</i>⁸.</p>	Las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común" tienen actividad insecticida sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa".	<p>INDEPENDIENTE</p> <p>Concentración del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> (L.) Sch. Bip. "magarza común".</p> <p>Indicadores.</p> <p>Concentraciones expresadas en ppm.</p> <p>DEPENDIENTE</p> <p>Efecto insecticida sobre larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa".</p> <p>Indicadores. Número de larvas muertas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) "polilla de papa".</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN.</p> <p>Experimental básico.</p> <p>POBLACIÓN.</p> <p>Flores de la especie <i>Argyranthemum frutescens</i> "magarza común" que crecen en los jardines, parques y cercos de la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p>MUESTRA.</p> <p>3kg de flores de <i>Argyranthemum frutescens</i> "magarza común", recolectadas del área verde la Facultad de Ciencias de la Educación y de la Facultad de Ciencias Económicas, Administrativas y Contables de la UNSCH, identificado en el "Herbarium <i>Huamangensis</i>", de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.</p> <p>UNIDAD DE ANÁLISIS.</p> <p>Larvas de <i>Symmetrischema tangolias</i> (Gyen) recolectadas de papas infestadas en almacenes del centro poblado de Manallasacc del distrito de Chiara - Ayacucho.</p> <p>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.</p> <p>Los datos serán sometidos a un análisis de varianza ($p < 0.05$), para observar significancia, a fin de determinar la concentración con mayor mortalidad. Se realizará una prueba de Duncan para la comparación de medias a un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$), utilizando el procedimiento del paquete estadístico SPSS 15. Para el cálculo de la CL₅₀ se utilizará el método de análisis Probit - MINITAB 16.</p>