

# Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas,  
Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería  
Biotecnológica



**EVALUACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* (AJENJO) Y *Schinus molle* (MOLLE) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA IN VITRO FRENTE AL *Macrosiphum euphorbiae* (Hemíptera: Aphididae) (PULGÓN DE LA PATATA).**

Tesis presentada por el Bachiller:  
**Chambilla Miranda, Luis Felipe**

Para optar el Título Profesional de  
**Ingeniero Biotecnólogo**

**Asesora:**

Dra. Zambrano Salas, Jesús María

**Arequipa- Perú**

**2021**

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA  
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas  
y Biotecnológicas  
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N° 20180000049195

N° Trámite en Fac. 413-2018

Fecha Recep. Fac. 13-11-2018

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

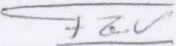

DE: **CHAMBILLA MIRANDA, Luis Felipe**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

"EVALUACION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE AJO (*Allium sativum*) Y MOLLE (*Schinus molle*) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA FRENTE AL PULGON (*Aphididae*)"

DICTAMINADORES: **Q. F. Fernando Torres Vela** 2) **Ing. Cinthia Córdova Barrios**

**DICTAMEN DE PLAN** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, sugerimos que el título debe cambiar a: "EVALUACION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* (AJENJO) Y *Schinus molle* (MOLLE) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA IN VITRO FRENTE AL *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) (PULGON DE LA PATATA)", después de lo cual consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente  
FIRMAS:  

FECHA 23-12-19

ASESOR: **Dra. María Jesús Zambrano Salas**

**DICTAMEN ASESORÍA:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como asesora del trabajo de investigación presentado por el recurrente, tengo a bien informar que luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes y debiendo cambiar el título a: "EVALUACION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* (AJENJO) Y *Schinus molle* (MOLLE) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA IN VITRO FRENTE AL *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae)", considero que el presente trabajo está APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad


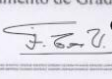
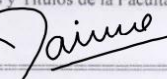
Atentamente  
FIRMA 

FECHA 31-01-2020

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) **Mgter. Cinthia Córdova Barrios** 3) **Mgter. Jaime Barreda del Carpio**  
2) **Q. F. Fernando Torres Vela**

**DICTAMEN FINAL:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por el recurrente, debiendo cambiar el título a "EVALUACION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Artemisia absinthium* (AJENJO) Y *Schinus molle* (MOLLE) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA in vitro FRENTE AL *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) (PULGON DE LA PATATA)"; luego de lo cual y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente Trabajo de Investigación se encuentra APTO para continuar con el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente  
FIRMA   

FECHA 31/08/2021

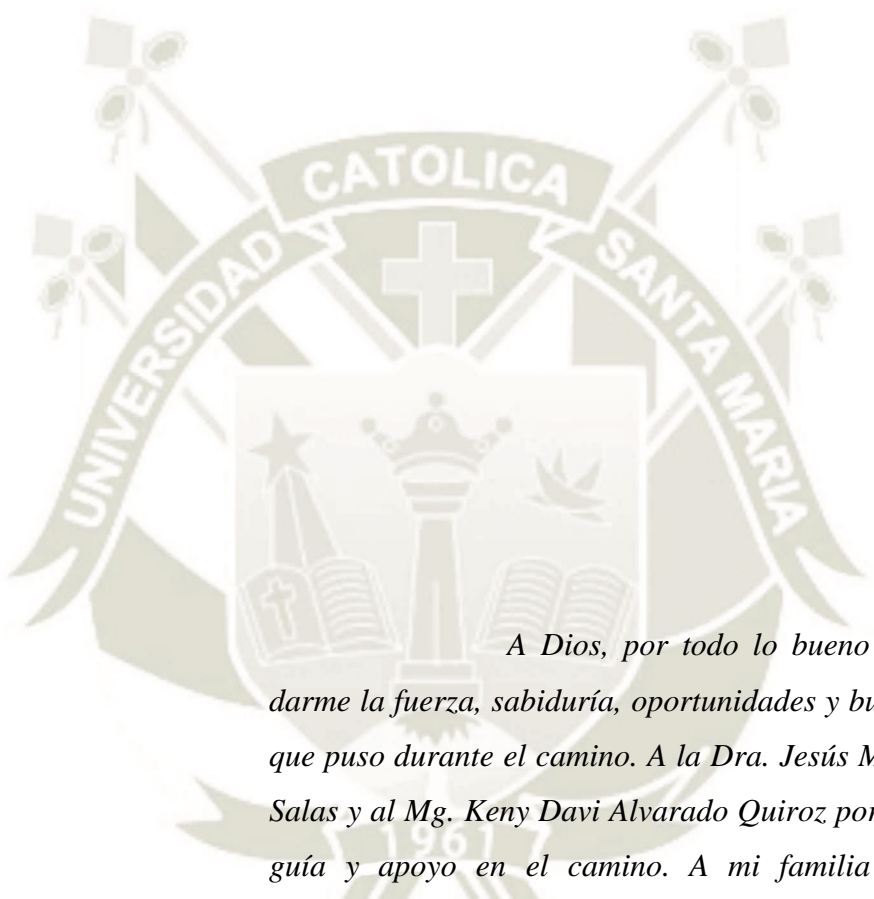
JURADOS: PRESIDENTE  
VOCAL  
SECRETARIO

FECHA HORA LOCAL

FIRMA DEL DECANO

FECHA

## *Agradecimiento*



*A Dios, por todo lo bueno y lo malo, por darme la fuerza, sabiduría, oportunidades y buenas decisiones que puso durante el camino. A la Dra. Jesús María Zambrano Salas y al Mg. Keny Davi Alvarado Quiroz por su supervisión, guía y apoyo en el camino. A mi familia por el apoyo, comprensión, guía y tiempo que tuvieron conmigo. A mi amigo José Mauricio Conde Sánchez por ayudarme en todo este proyecto.*

*Dedicado a la memoria del Ingeniero Químico Ciro Renato Miranda Rivera quien propuso la idea de este proyecto.*

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>I</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>II</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>5</b>
<b>CAPITULO I MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>6</b>
1.1. Material vegetal.....	6
1.1.1. <i>Artemisia absinthium</i> (Ajenjo).....	6
1.1.2. <i>Schinus molle</i> (Molle) .....	8
1.2. <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Hemiptera: Aphididae) (Pulgón de la patata) 10	
1.2.1. Ciclo biológico.....	11
1.2.2. Ciclo reproductivo.....	12
1.2.3. Condiciones para proliferación .....	13
1.2.4. Cultivos mayormente afectados .....	13
1.2.5. Resistencia a los insecticidas .....	13
1.3. Biocida.....	14
1.3.1. Clasificación.....	14
1.3.2. Aceites esenciales como biocidas .....	15
1.3.3. Formas de aplicación.....	16
1.3.4. Ventajas y desventajas .....	16
1.4. Sistema de cultivo hidropónico .....	17
1.4.1. Sistemas más exitosos .....	17
1.4.2. Cultivo hidropónico de <i>Lactuca sativa</i> (Lechuga).....	19
1.4.3. Enfermedades en sistemas hidropónicos.....	21
1.4.4. Plagas en sistemas hidropónicos .....	23
1.5. Bioensayos de toxicidad .....	23
1.5.1. Bioensayo de fumigación.....	24
1.5.2. Bioensayo de contacto directo .....	25
<b>CAPITULO II MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
2.1. Lugar de ejecución .....	26

2.2.	Materiales.....	26
2.2.1.	Material biológico .....	26
2.2.2.	Material vegetal.....	27
2.2.3.	Material de laboratorio .....	28
2.2.4.	Reactivos .....	28
2.2.5.	Equipos.....	29
2.3.	Métodos .....	29
2.3.1.	Extracción de los aceites por arrastre de vapor .....	29
2.3.2.	Diseño y construcción del sistema hidropónico.....	31
2.3.3.	Análisis por cromatografía de gases con espectrometría de masas.....	32
2.3.4.	Bioensayo de toxicidad por fumigación.....	32
2.3.5.	Bioensayo de toxicidad por contacto directo .....	33
2.3.6.	Análisis estadístico.....	34
<b>CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>		<b>35</b>
3.1.	Rendimiento de la extracción del aceite esencial .....	35
3.2.	Diseño, construcción y puesta en marcha del sistema hidropónico para el cultivo del pulgón.....	35
3.2.1.	Programación de parámetros.....	35
3.2.2.	Aclimatación de lechugas .....	36
3.2.3.	Propagación de los pulgones.....	36
3.2.4.	Problemas durante el trabajo.....	37
3.3.	Caracterización de los aceites esenciales por GC/MS .....	39
3.4.	Determinación de la dosis letal mediante la evaluación de toxicidad ...	42
3.4.1.	Toxicidad por Fumigación .....	43
3.4.2.	Toxicidad por Contacto Directo.....	45
3.5.	Resultado del análisis estadístico .....	47
<b>CONCLUSIONES.....</b>		<b>52</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>		<b>54</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>		<b>55</b>
<b>ANEXOS .....</b>		<b>60</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Clasificación taxonómica de <i>Artemisia absinthium</i> .....	6
<b>Tabla 2:</b> Clasificación taxonómica de <i>Schinus molle</i> .....	8
<b>Tabla 3:</b> Macronutrientes requeridos para cultivo hidropónico .....	20
<b>Tabla 4:</b> Micronutrientes requeridos para cultivo hidropónico.....	20
<b>Tabla 5:</b> Identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial de ajeno y molle.....	39
<b>Tabla 6:</b> Pulgones muertos después de 24 horas.....	42
<b>Tabla 7:</b> Mortalidad de los pulgones sometidos a seis concentraciones de ajeno y molle a 24 horas de exposición por el método de Fumigación .....	43
<b>Tabla 8:</b> Mortalidad de los pulgones sometidos a seis concentraciones de ajeno y molle a 24 horas de exposición por el método de Contacto directo .....	45
<b>Tabla 9:</b> Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según la concentración de ajeno a las 24 horas de exposición por el método de Fumigación	47
<b>Tabla 10:</b> Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de molle a las 24 horas de exposición por el método de Fumigación	48
<b>Tabla 11:</b> Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de ajeno a las 24 horas de exposición por Contacto directo .....	49
<b>Tabla 12:</b> Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de molle a las 24 horas de exposición por Contacto directo.....	50

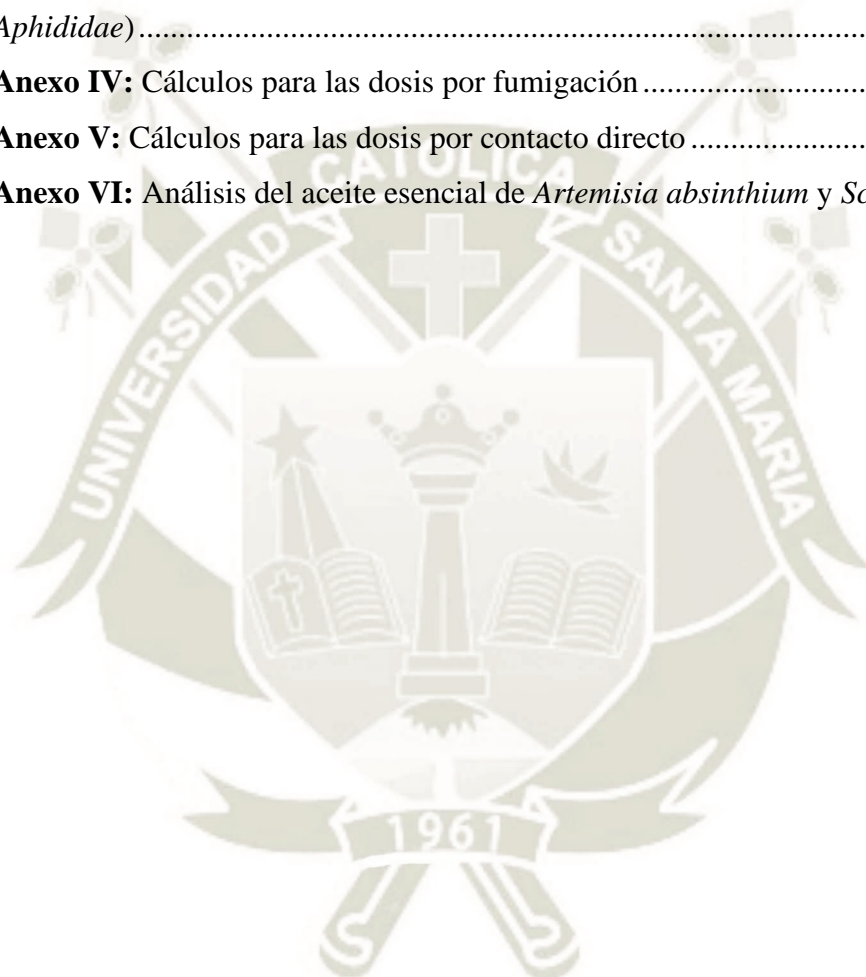
## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> <i>Artemisia absinthium</i> .....	7
<b>Figura 2:</b> alfa-Tujona y beta-Tujona.....	7
<b>Figura 3:</b> <i>Schinus molle</i> .....	9
<b>Figura 4:</b> D-limoneno.....	10
<b>Figura 5:</b> alfa-Felandreno.....	10
<b>Figura 6:</b> <i>Macrosiphum euphorbiae</i> .....	11
<b>Figura 7:</b> Ciclo vital de <i>M. euphorbiae</i> .....	12
<b>Figura 8:</b> Diferencia entre pulgón sin alas y con alas .....	13
<b>Figura 9:</b> Pulgones en <i>Lactuca sativa</i> .....	13
<b>Figura 10:</b> Aparato tipo Clevenger .....	15
<b>Figura 11:</b> A) Sistema de riego por goteo, B) Técnica de película nutritiva, C) Aeroponía.....	19
<b>Figura 12:</b> Infección por pudrición gris .....	21
<b>Figura 13:</b> Infección por Mildiu.....	22
<b>Figura 14:</b> Infección por Oídio .....	22
<b>Figura 15:</b> Infección por pudrición de raíz .....	23
<b>Figura 16:</b> A) Método por fumigación; B) Método por contacto directo .....	25
<b>Figura 17:</b> Lechuga con cuatro semanas de vida .....	27
<b>Figura 18:</b> A) Ajenjo seco, B) Molle seco .....	28
<b>Figura 19:</b> Diagrama del equipo de arrastre de vapor de la UCSM.....	29
<b>Figura 20:</b> A) Equipo de arrastre de vapor, B) Pera de decantación con aceite de ajenjo .....	30
<b>Figura 21:</b> A) Aceite esencial de ajenjo, B) Aceite esencial de molle.....	31
<b>Figura 22:</b> Modelo del sistema hidropónico a fabricar .....	32
<b>Figura 23:</b> Placa Petri para bioensayo por fumigación .....	33
<b>Figura 24:</b> Placa Petri para bioensayo por contacto directo.....	33
<b>Figura 25:</b> Sistema hidropónico ensamblado.....	36
<b>Figura 26:</b> Lechugas de seis semanas infestadas con pulgón .....	37
<b>Figura 27:</b> Etiolación de la lechuga .....	38

<b>Figura 28:</b> Pudrición por la raíz .....	39
<b>Figura 29:</b> Compuestos químicos presentes en el ajeno. 1) Óxido de etileno, 2) Acetato de mirtenilo, 3) $\beta$ -Tujona, 4) $\alpha$ -Tujona, 5) Ciclopentano metanol, 6) Cedr-8-en-13-ol .....	40
<b>Figura 30:</b> Compuestos químicos presentes en el molle. 1) 1-Tetradeceno, 2) 1-Dodecanol, 3) Undecanol, 4) 1-Deceno, 5) D-limoneno, 6) Dodecano, 7) $\alpha$ -Felandreno, 8) 3,6-Dimetil decano, 9) 2,4-Decadienal .....	40
<b>Figura 31:</b> Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ aire) del aceite de ajeno a las 24 horas de aplicación por el método de Fumigación .....	44
<b>Figura 32:</b> Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ aire) del aceite de molle a las 24 horas de evaluación por el método de Fumigación .....	44
<b>Figura 33:</b> Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ ) del aceite de ajeno a las 24 horas de evaluación por Contacto directo .....	46
<b>Figura 34:</b> Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ ) del aceite de molle a las 24 horas de evaluación por Contacto directo .....	46
<b>Figura 35:</b> Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de ajeno a las 24 horas de bioensayo .....	47
<b>Figura 36:</b> Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de molle a las 24 horas de bioensayo .....	48
<b>Figura 37:</b> Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de ajeno a las 24 horas de bioensayo .....	49
<b>Figura 38:</b> Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de molle a las 24 horas de bioensayo .....	50

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo I:</b> Clasificación taxonómica de <i>Artemisia absinthium</i> (Ajenjo).....	60
<b>Anexo II:</b> Clasificación taxonómica de <i>Schinus molle</i> (Molle) .....	61
<b>Anexo III:</b> Determinación taxonómica de <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Hemiptera: <i>Aphididae</i> ).....	62
<b>Anexo IV:</b> Cálculos para las dosis por fumigación.....	63
<b>Anexo V:</b> Cálculos para las dosis por contacto directo .....	64
<b>Anexo VI:</b> Análisis del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Schinus molle</i> ...	66



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es evaluar los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Schinus molle* como potenciales biocidas contra el *Macrosiphum euphorbiae*. Para esto se criaron en un sistema hidropónico cerrado una sola variedad de pulgón para ser aislada e identificada, seguidamente se extrajo el aceite esencial por arrastre de vapor, el cual se caracterizó en un cromatógrafo de gases con espectrometría de masas (GC-MS), el resto del producto fue aplicado sobre las muestras objetivo usando las técnicas de toxicidad por fumigación y contacto directo. Los resultados indican que la eficiencia es diferente según la técnica siendo el ajeno mejor para la toxicidad por fumigación (DL50 201.83  $\mu\text{L/L}$  aire y DL95 465.43  $\mu\text{L/L}$  aire) y el molle para la toxicidad por contacto directo (DL50 5.14 mL/L y DL95 44.04 mL/L); además que el GC-MS señaló como los compuestos biocidas del ajeno al óxido de etileno (37.21%),  $\beta$ -tujona (18.61%) y  $\alpha$ -tujona (13.17%), y para el molle el 1-dodecanol (22.84%), D-limoneno (4.53%) y  $\alpha$ -felandreno (4.24%). Por lo tanto, el trabajo concluye que es beneficiosa la aplicación de los aceites esenciales de *A. absinthium* y *S. molle* contra *M. euphorbiae* según el método de toxicidad a elegir.

**PALABRAS CLAVE:** Aceites esenciales, *Artemisia absinthium*, *Schinus molle*, *Macrosiphum euphorbiae*, GC-MS, Toxicidad.

## ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate the essential oils of *Artemisia absinthium* and *Schinus molle* as potential biocides against *Macrosiphum euphorbiae*. For this, a single variety of aphids was reared in a closed hydroponic system to be isolated and identified, then the essential oil was extracted by vapor drag, which was characterized in a gas chromatograph with mass spectrometry (GC-MS), the rest of the product was applied on the target samples using the techniques of toxicity by fumigation and direct contact. The results indicate that the efficiency is different according to the technique, being the wormwood better for the toxicity by fumigation (LD50 201.83  $\mu\text{L} / \text{L}$  air and LD95 465.43  $\mu\text{L} / \text{L}$  air) and the molle for the toxicity by direct contact (LD50 5.14 mL / L and LD95 44.04 mL / L); In addition, the GC-MS indicated as the biocidal compounds of wormwood ethylene oxide (37.21%),  $\beta$ -thujone (18.61%) and  $\alpha$ -thujone (13.17%), and for molle 1-dodecanol (22.84%), D-limonene (4.53%) and  $\alpha$ -phellandrene (4.24%). Therefore, the work concludes that the application of the essential oils of *A. absinthium* and *S. molle* against *M. euphorbiae* is beneficial according to the chosen toxicity method.

**KEY WORDS:** *Essential oils, Artemisia absinthium, Schinus molle, Macrosiphum euphorbiae, GC-MS, Toxicity.*



## INTRODUCCIÓN

Los pulgones o también llamados áfidos son una familia de insectos variada, pueden tener variedad de colores (verde, rosa, negro) y modificaciones corporales (presencia o no de alas, largo de las patas, tamaño final del adulto) pero todos comparten la presencia de una probóscide que es utilizada para alimentarse de la savia producida por la planta a través de la picaduras, eligiendo lugares blandos y muy irrigados como son los brotes de hojas, botones de flor y en el envés de las hojas cerca a la base.

Entre algunas de las especies de pulgones más relevantes tenemos al *Myzus persicae* (Pulgón del melocotonero), *Aphis fabae* (Pulgón negro del haba), *Aphis gossypii* (Pulgón del algodón), etc. Al momento de ingerir la savia rica en azúcar el pulgón por orificios ubicados en la parte baja del abdomen secreta una melaza dulce la cual es alimento preferido por diversas especies de *Formicidae spp* (Hormiga), éstas la recolectan para alimentarse y se encargan de proteger a los pulgones de su depredador principal la *Coccinellidae spp* (Mariquita). Por otro lado, en esta misma melaza el *Cladosporium spp* crece; siendo un problema para la planta al extenderse por la hoja, impidiendo su fotosíntesis y reduciendo el valor comercial.

Una consecuencia de esta plaga es el deterioro de diversos cultivos con calidad para exportación (cebolla, frejol, algodón, papa, tabaco, tomate)(1), plantas ornamentales (retama, geranio, rosales) y plantas utilizadas con fines diversos (marihuana). Sin mencionar las pérdidas económicas producidas, esta plaga llega al punto de reducir o eliminar cultivos completos en áreas puntuales.

Comúnmente esta plaga es “controlada” por agricultores locales con la aplicación de mezclas artesanales (jabón diluido en agua, infusión de ortiga, vinagre disuelto en agua, mezcla de diferentes plantas, corte y eliminación de las partes afectadas en la planta) pero ninguno de estos tiene un efecto a largo plazo como biocida, sino que funcionan como repelente, lo que no es una solución definitiva al pulgón.

Se conoce que los insecticidas químicos mal dosificados y aplicados han provocado que este insecto genere resistencia haciendo que sean ineficientes. Se ha demostrado que con las malas prácticas y el tiempo prolongado se vuelven resistentes a los pesticidas químicos tradicionalmente usados (*Imidacloprid*, *Cihalotrina*, *Carbosulfán*)(2).

Además que esta mala aplicación conlleva a una acumulación en el ambiente, contaminando los suelos y ríos cerca de donde son aplicados(3).

El mal uso de estos insecticidas causa que los pequeños productores agrícolas no puedan ingresar sus productos al mercado extranjero debido a que no cumplen con las normas fitosanitarias internacionales, lo que conlleva a que se vendan en el mercado local a un precio inferior a la inversión. También estos químicos (*organofosforados*, *organoclorados*, *organosulfurados*, *dicarboximidaz*, *carbamatos*)(4) pueden producir enfermedades respiratorias, gástricas, desórdenes mentales y diferentes tipos de cáncer afectando principalmente a los aplicadores por no usar apropiadamente los equipos de protección personal (EPP)(5).

El presente trabajo busca la extracción de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Schinus molle* mediante la extracción por arrastre de vapor, simultáneamente se diseñará y construirá un sistema hidropónico cerrado para la

propagación del pulgón. Posteriormente se caracterizarán los aceites esenciales mediante GC-MS y finalmente se determinará la dosis letal de cada aceite por separado usando ensayos de toxicidad por fumigación y contacto directo.



## OBJETIVOS

### GENERAL:

Evaluar los aceites esenciales extraídos de *Artemisia absinthium* (Ajenjo) y *Schinus molle* (Molle) para determinar la dosis letal frente al *Macrosiphum euphorbiae* (Hemíptera: Aphididae) (Pulgón de la patata) en condiciones *In vitro*.

### ESPECÍFICOS:

1. Extraer los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (Ajenjo) y *Schinus molle* (Molle) mediante la extracción por arrastre de vapor (EAV).
2. Diseñar, construir y puesta en marcha de un sistema hidropónico cerrado con lechugas hidropónicas para la propagación del pulgón.
3. Caracterizar los aceites esenciales obtenidos mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS).
4. Determinar la dosis letal de cada aceite por separado usando ensayos de toxicidad por fumigación y contacto directo.



## HIPÓTESIS

Si existen compuestos en *Artemisia absinthium* (Ajenjo) como en *Schinus molle* (Molle) que presentan capacidad biocida es posible evaluar su potencial como bioinsecticida aplicando diferentes dosis de cada extracto por separado en el *Macrosiphum euphorbiae* (Hemíptera: Aphididae) (Pulgón de la patata) *in vitro*.

## CAPITULO I MARCO TEÓRICO

### 1.1. Material vegetal

#### 1.1.1. *Artemisia absinthium* (Ajenjo)

*Artemisia absinthium*, descrito taxonómicamente en la Tabla 1 (*Anexo I*) es también llamado jengibre verde, ajenjo americano u occidental, mosto silvestre, salvia de ajenjo; en inglés: *Wormwood*; en francés: *Armoise Amère*, *Herbe aux Vers*, *Herbe d'Absinthe*; en alemán: *Wermut*, *Wermutkraut*, *Bitterer Beifuß*(6). Proveniente del hemisferio norte (Europa, Asia) siendo predominante en lugares montañosos, hoy en día se puede encontrar en cualquier ambiente, incluyendo al Perú ya que puede tolerar el frío.

**Tabla 1:** Clasificación taxonómica de *Artemisia absinthium*(7)

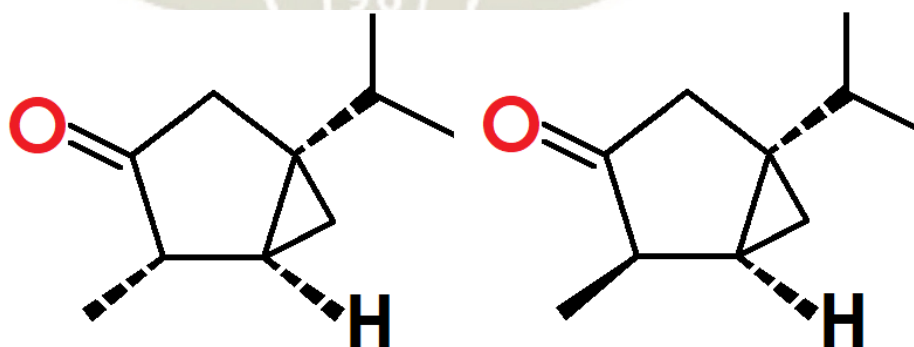
<i>Reino</i>	Plantae
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Orden</i>	Asterales
<i>Familia</i>	Asteraceae
<i>Genero</i>	<i>Artemisia</i>
<i>Especie</i>	<i>Artemisia absinthium</i>

Fisiológicamente es una planta herbácea y perenne de aroma fuerte y sabor amargo. Las hojas son de un color verde plateado, largas (20 cm largo x 3-7 cm ancho), creciendo en espiral con dos o tres bulbos, poseen glándulas productoras de aceite. Los tallos son rectos y frondosos, en sus bases son leñosos y resistentes pudiendo alcanzar los 1.5 metros de altura. Las hojas y tallos están cubiertos por un fino pelaje dándole su tono grisáceo. Las flores son esféricas, pequeñas y compactas con pétalos pequeños de color amarillo claro. La raíz principal es corta, muy ramificada y cubierta de pelos absorbentes (*Ilustración 1*).



*Figura 1: Artemisia absinthium(6)*

Químicamente se conoce que poseen muchos compuestos como los pinenos, linalol y las tujonas (alfa y beta). A este último se le atribuyen propiedades insecticidas.



*Figura 2: alfa-Tujona(8) y beta-Tujona(9)*

La tujona llamada por la *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC)  $\alpha$ : (1R,4S,5S)-4-metil-1-propan-2-ilbicyclo[3.1.0]hexan-3-ona y  $\beta$ :

(1R,4R,5S)-4-metil-1-propan-2-ilbicyclo[3.1.0]hexan-3-ona. Ambas tienen una estructura conformada por una cetona monoterpeneo y posee dos formas estequiométricas: (+)-3-thujone o  $\alpha$ -thujone y (-)-3-thujone o  $\beta$ -thujone (*Ilustración 2*). El punto de ebullición es a 203 °C (476.15 K), insoluble en agua pero soluble en alcohol y otros solventes orgánicos(8). Posee un sabor mentolado, está presente en la absenta y los aceites esenciales de ajeno. La alfa-tujona posee una capacidad neurotóxica ampliamente reportada(10). La beta-tujona solo se le reportaron propiedades tóxicas, no se hicieron ensayos más a profundidad(9).

Ancestralmente el ajeno es usado para preparar licores como la absenta. A pesar de poseer compuestos neurotóxicos (tujonas); investigaciones recientes reportaron propiedades hepatoprotectoras, digestivas, diuréticas, antisépticas, antiparasitarias, antipiréticas y antimicrobianas(6).

#### 1.1.2. *Schinus molle* (Molle)

*Schinus molle*, descrito taxonómicamente en la Tabla 2 (*Anexo II*), es también llamado pimentero, pimienta del diablo, falso pimiento; en inglés: *rose pepper*, *peper tree*. Proviene del continente sudamericano donde tiene más de 30 especies(11). En el Perú esta reportado en la sierra baja, predominante en climas templados a fríos.

**Tabla 2:** Clasificación taxonómica de *Schinus molle*(12)

<i>Reino</i>	Plantae
<i>División</i>	Magnoliophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Orden</i>	Sapindales
<i>Familia</i>	Anacardiaceae
<i>Genero</i>	Schinus
<i>Especie</i>	<i>Schinus molle</i>

Fisiológicamente es una planta arbórea y perenne de aroma herbáceo. Las hojas son siempre verdes, largas (1.5-5 cm largo x 0.5 cm ancho), creciendo de forma alternada, forma lanceada, ápice agudo o redondeado, poseen glándulas productoras de aceite. Los tallos son delgados y frondosos, en sus bases se ensanchan. Corteza

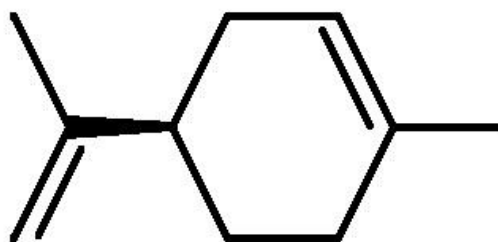
resistente café o gris, muy áspera y exfoliante, el árbol en total puede alcanzar 15 m de altura. Los frutos son esféricos, pequeños y numerosos con un color de rosado a rosado-rojizo al madurar, tiene una semilla pequeña y compacta (*Ilustración 3*).



**Figura 3:** *Schinus molle*(11)

Químicamente se identificaron muchos compuestos como los pinenos (alfa y beta), sabineno, limoneno y alfa-felandreno. A estos dos últimos se le atribuyen propiedades insecticidas.

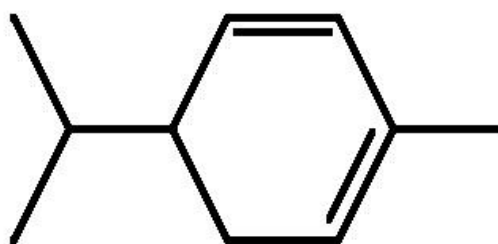
El limoneno (D-limoneno) llamado por la *IUPAC* como 1-metil-4-(1-metileténil)-ciclohexeno. Tiene una estructura conformada por un monoterpeno sustituido por un grupo metilo en la posición 1 y un grupo prop-1-en-2-ilo en la posición 4 (*Ilustración 4*). El punto de ebullición es a 176 °C (449.15 K), insoluble en agua, soluble en alcohol, miscible en benceno, éter y cloroformo(13). Posee el aroma clásico del limón, está presente abundantemente en la cascara y hojas de diversos cítricos, pero en menor porcentaje en otras plantas. Es reportado como un potente insecticida por la Unión Europea(14).



**Figura 4:** *D-limoneno*(13)

El alfa-felandreno llamado por la IUPAC 2-metil-5-(1-metiletil)-1,3ciclohexadieno. Este conforma uno de un par de isómeros (*alpha-phellandrene* y *beta-phellandrene*) de doble enlace monoterpene cíclicos de felandreno en los que ambos enlaces dobles son endocíclicos (beta-felandreno tiene un doble enlace exocíclico), es un felandreno unido a un ciclohexadieno (*Ilustración 5*). El punto de ebullición es a 172 °C (445.15 K), insoluble en agua pero soluble en alcohol(15). Está presente en cítricos, madera y pimienta. En algunas investigaciones asocian su consumo con vómitos y diarrea, además de irritación en la piel.

Las hojas del molle son usadas como un repelente efectivo contra los mosquitos. En Perú se tiene registro que desde la época del Tawantinsuyo se usaban sus semillas para la elaboración de una cerveza con fines religiosos o políticos.(16)

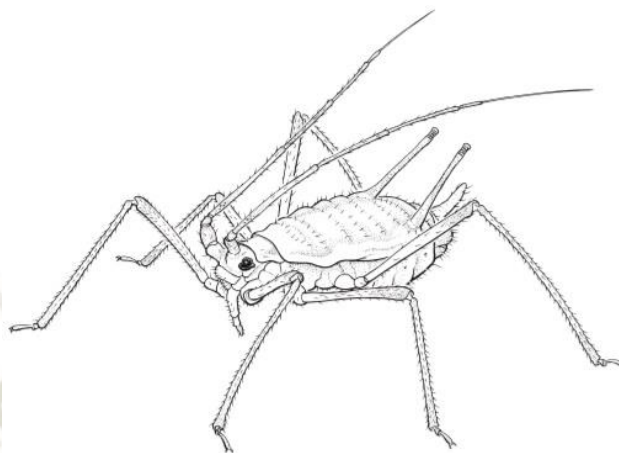


**Figura 5:** *alfa-Felandreno*(15)

## 1.2. *Macrosiphum euphorbiae* (Hemíptera: Aphididae) (Pulgón de la patata)

*Macrosiphum euphorbiae* (Hemíptera: Aphididae) (*Anexo III*), también llamado pulgón de la patata. Es un pequeño insecto blando con apéndices bucales chupadores. Se reconocen más por el par de aberturas dorsales en la parte posterior del

abdomen, generalmente situadas en el extremo de los apéndices tubulares llamados sifúnculos (*Ilustración 6*). Los pulgones se encuentran en todo el mundo, pero el mayor número de especies se encuentra en regiones cálidas a templadas.



**Figura 6:** *Macrosiphum euphorbiae*(17)

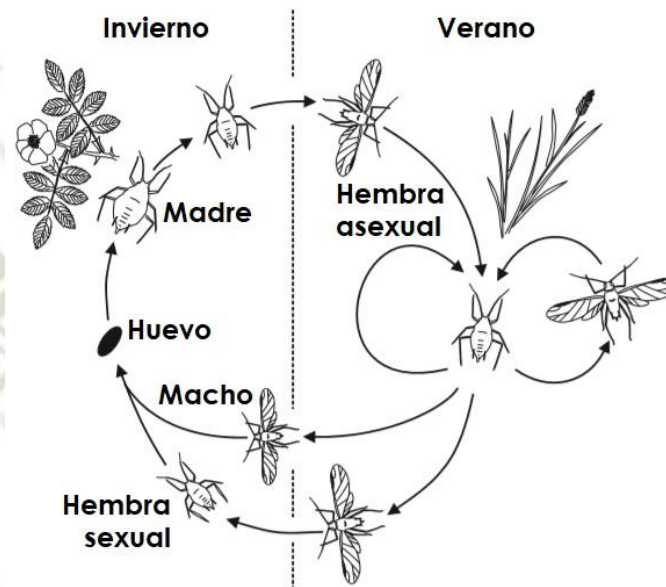
#### 1.2.1. Ciclo biológico

Descrito por Footitt(17). El ciclo biológico de la mayoría de los áfidos tiene dos características distintivas, la presencia de adultos con y sin alas en el mismo grupo; y la presencia de dos formas de reproducción marcadas por el cambio estacional siendo diferentes para verano e invierno.

La reproducción asexual es predominante en época de verano, dada a través de ninfas (partenogénesis) por nacimiento normal (vivíparo). En esta parte del ciclo los embriones surgen de células sin reducción cromosómica (meiosis), por lo tanto, las crías son todas genéticamente iguales a los padres. El desarrollo embrionario de la próxima generación comienza dentro de la larva, a veces incluso antes del nacimiento. Las larvas recién depositadas son completamente activas y son bastante similares a los adultos en todas sus formas. Pasan por cuatro mudas, produciendo finalmente adultos capaces de tener crías en tan solo 10 días.

Contrariamente en la reproducción sexual los embriones producidos en el otoño maduran en hembras y machos sexuales (los machos se producen por reducción meiótica del cromosoma X). La hembra sin alas que siendo huevo pasa el invierno suele ser morfológicamente distinta de la hembra sin alas por partenogénesis, con

apéndices más cortos e hinchados detrás de las tibiae cubiertas de glándulas aromáticas. La eclosión del individuo sin alas en la primavera (la madre de todas las generaciones) generalmente es más grande y tiene apéndices más cortos que otras hembras partenogénicas sin alas. Los machos pueden ser alados o sin alas (a veces ambas formas se encuentran en la misma especie).



**Figura 7:** Ciclo vital de *M. euphorbiae*(17)

### 1.2.2. Ciclo reproductivo

En resumidas cuentas: en otoño, las hembras partenogénicas aladas migran a un huésped de invierno (una planta leñosa), y depositan larvas que maduran en hembras sexuales. Los machos alados se producen en el huésped de verano y migran por separado al huésped de invierno, donde se aparean con las hembras. Los huevos se ponen en ramitas, generalmente cerca de las bases de los brotes. Los huevos eclosionan en la primavera aproximadamente en el momento en que los brotes comienzan a expandirse.

A principios del verano, a medida que progresa el nuevo crecimiento, se produce la migración a un huésped de verano (una planta herbácea), y las generaciones posteriores se reproducen partenogénicamente hasta el otoño, cuando se produce la emigración al huésped de invierno.



**Figura 8:** Diferencia entre pulgón sin alas y con alas(18)

### 1.2.3. Condiciones para proliferación

Está presente todo el año, aunque la densidad poblacional varía en función de las estaciones. La temperatura óptima para el desarrollo es de 26°C (clima cálido o templado), con un ciclo vital de hasta 2 semanas. Puede sobrevivir a temperaturas muy bajas, aunque a temperatura de 6°C se produce una inmovilización del áfido.



**Figura 9:** Pulgones en *Lactuca sativa*; imagen propia

### 1.2.4. Cultivos mayormente afectados

Aunque *M. euphorbiae* es considerado una plaga polífaga y cosmopolita(17), se pueden resaltar algunos cultivos como son la papa, quinua, uva, rosas y lechugas(1).

### 1.2.5. Resistencia a los insecticidas

La resistencia en los pulgones en general ha sido ampliamente reportada, teniendo más énfasis en *Myzus persicae*(19), llegando al punto de reportar dos

mecanismos de resistencia a pesticidas(20). *M. euphorbiae* reporta una resistencia a los pesticidas carbamatos producidos por una mutación puntual en el gen “*M. euphorbiae ace1*”, esto produce una enzima acetilcolinesterasa diferente. También ha reportado que el mismo mecanismo se encontró en *Aphis gossypii*. Sugiere que el uso indiscriminado de pesticidas carbamatos incitan a la mutación de dicho gen en poblaciones salvajes, volviéndolas resistentes.

### 1.3.Biocida

Un biocida según la *Real Academia Española (RAE)* es aquella sustancia o producto que destruye seres vivos, particularmente los perjudiciales para el ser humano(21).

#### 1.3.1. Clasificación

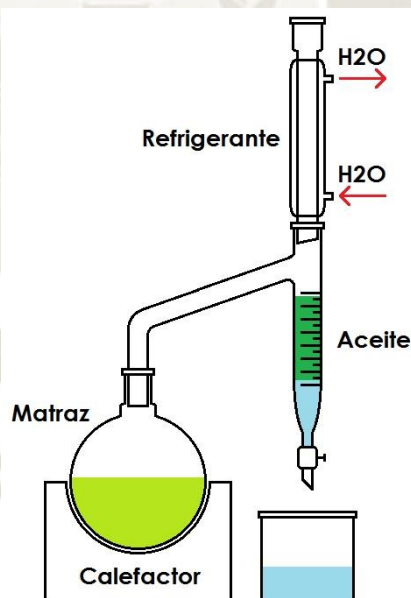
Según Michalak(22) separa los biocidas en cuatro grupos mayoritarios:

- El primer grupo de biocidas incluye los desinfectantes y productos en general usados para la higiene humana y veterinaria. Tenemos desinfectantes líquidos (alcohol etílico, ácido cítrico, ácido acético, peróxido de hidrogeno, etc.), productos de higiene bucal, jabón antimicrobial y bloqueador solar.
- El segundo grupo de biocidas incluye a los preservantes. Incluye preservantes en lata (derivados del fenol), películas preservantes (triazoles), preservantes de madera (ácido bórico), fibras y materiales polimerizados (chitosan), enfriamiento líquido y sistemas de preservación (aminas). Los biocidas en este grupo deben prevenir la proliferación de microorganismos, presencia de olor residual y producir un cambio de color.
- El tercer grupo consiste en biocidas con la capacidad de controlar plagas. Tenemos slimicidas (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol), rodenticidas (raticidas), avicidas (Avitrol), molusquicidas (hidrocarburos aromáticos), piscicidas (antimicina), insecticidas (permenthrin), acaricidas y otros controladores de artrópodos (aceite de citronela) y alguicidas.

- El último grupo incluye otros productos biocidas. Preservantes de alimentos almacenados, antifúngicos (ácido tiocianico) y productos de embalsamamiento y taxidermia (formaldehído, etanol).

### 1.3.2. Aceites esenciales como biocidas

La extracción de los aceites esenciales no es muy difícil, solo basta con tener abundante material vegetal estabilizado (de preferencia seco y almacenado); la forma más común de hacerlo es por arrastre de vapor usando un aparato de Clevenger (*Ilustración 10*). La extracción consiste en colocar en un matraz o balón el material vegetal previamente desecado y triturado, luego se agrega agua destilada hasta llenar su capacidad. Pronto el matraz se coloca en el calefactor (preferentemente acoplado a un agitador magnético), se termina de ensamblar las otras partes del aparato, se conecta el tubo refrigerante al agua, se abre la llave del agua y se empieza con la extracción encendiendo del calefactor.



**Figura 10:** Aparato tipo Clevenger; imagen propia

Después de un tiempo comenzara a hervir, el vapor liberado arrastrara los aceites presentes en el material vegetal, y al llegar al condensador ambos se enfriarán y se almacenaran en una bureta. Veremos como el agua condensada va a la parte inferior mientras que el aceite se queda en la superior. Luego de un tiempo tenemos

que abrir la bureta para soltar el agua florida (agua condensada con algunas trazas del extracto) para seguir almacenando el aceite. Al finalizar la extracción acumulamos el aceite en un frasco color ámbar rotulado y lo almacenamos.

Gonzalez-Coloma(23) nos da un compendio de aceites esenciales obtenidos de plantas utilizadas como biocidas. Cabe recalcar que *A. absinthium* reporta ser efectivo contra *Dendroctonus micans* (Gran escarabajo de corteza de abeto), *Acanthoscelides obtectus* (Gorgojo de la judía), *Spodoptera littoralis* (Rosquilla negra), *Myzus persicae* (Pulgón verde del melocotonero) y *Rhopalosiphum padi* (Pulgón de la avena).

### 1.3.3. Formas de aplicación

Los biocidas son mayormente aplicados de una manera similar a los plaguicidas químicos. La mayoría son preparados solidos presentados en polvo que son disueltos y aplicados, el resto son líquidos, siendo disueltos en agua con o sin un activador y luego aplicados.

Los aceites esenciales presentan mayores aplicaciones en dos formas(24):

- *Aplicación por Fumigación:* Consiste en esparcir un volumen determinado de aceite por litro de aire presente, esto es preferente en lugares con poca ventilación o completamente cerrados.
- *Aplicación por Contacto directo:* Consiste en aplicar un volumen de aceite determinado por área a tratar. Este tiene la complicación que con el tiempo se perderá en el aire por lo que las dosis suelen ser mucho mayores.

### 1.3.4. Ventajas y desventajas

Las ventajas de los biocidas incluyen que no generan residuos tóxicos después de aplicar, suele ser más económico que un pesticida químico cuando es producido localmente y puede ser más eficaz que uno químico con el tiempo.

Las desventajas incluyen que son altamente específicos, tienen una lenta velocidad de acción, la eficacia puede verse afectada por factores climáticos o

biológicos y que al igual que con los insecticidas químicos las plagas pueden generar resistencia si no son completamente erradicados.

#### 1.4. Sistema de cultivo hidropónico

La hidroponía según la *RAE* es el cultivo de plantas en soluciones acuosas, por lo general con algún soporte como puede ser la arena, grava, etc(25). Esta técnica de cultivo en sí es una idea simple y muy adaptada a varios sistemas que emplean diferentes requisitos (tecnológicos y complejos). Estos sistemas manejan con precisión la concentración de nutrientes, el pH, la conductividad eléctrica (CE), la aireación del medio (oxígeno disuelto), el fotoperiodo y la temperatura del medio. Las plantas se pueden cultivar con raíces directamente sumergidas en una solución nutritiva o crecer en un medio artificial (grava, turba, fibra de coco o sintética) para proporcionar un soporte para las raíces.

Los factores generales al seleccionar una técnica hidropónica son el espacio, los recursos disponibles, productividad deseada, disponibilidad de medio de cultivo adecuado, tipo de cultivo (cultivo a corto o largo plazo) y calidad de producto deseada.

Pueden clasificarse en sistemas de cultivo circulantes (de flujo continuo) y sistemas de cultivo no circulantes (estáticos). La mayoría de los productores comerciales optan por utilizar sistemas de cultivo circulante, ya que los nutrientes y el agua se reciclan alrededor del primer sistema en lugar de los sistemas estáticos que requieren el vertido periódico y la sustitución de la solución de nutrientes, aumentando el costo y reduciendo la sostenibilidad de la tecnología.

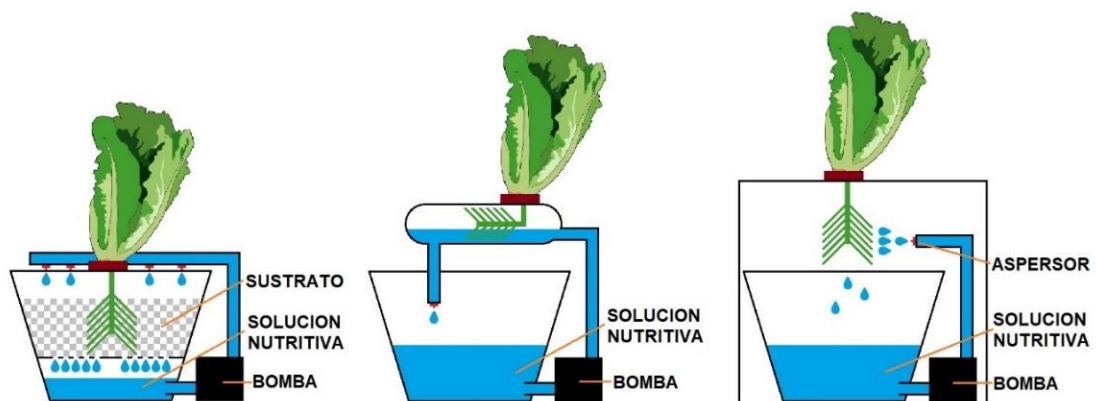
##### 1.4.1. Sistemas más exitosos

Según Lu y Grundy(26) son tres los sistemas hidropónicos más exitosos dependiendo de las condiciones que favorecen y los cultivos aplicados:

- *Sistemas de riego por goteo*: Estos son los sistemas hidropónicos comerciales más utilizados, ya que son ideales para los cultivos a largo plazo, como tomates, pepinos y pimientos. Las plantas se colocan en un sustrato, y la

solución nutritiva se gotea intermitentemente sobre el mismo en ciclos cronometrados, proporcionando nutrientes frescos, agua y oxígeno (*Ilustración 11A*).

- *Técnica de película nutritiva (NFT)*: es un sistema hidropónico que se utiliza con mayor frecuencia para el cultivo de cultivos a corto plazo, como las verduras de hoja. En este sistema, las raíces están expuestas directamente a un flujo constante y poco profundo de solución nutritiva que las mantiene húmedas, pero no empapadas de agua. La solución nutritiva se bombea desde un depósito central a los canales de crecimiento, que están ligeramente inclinados para que la solución nutritiva fluya sobre las raíces de la planta y se drene de regreso al depósito. Los modernos sistemas de dosificación automatizados pueden mantener niveles de nutrientes, aireación y pH con poco esfuerzo (*Ilustración 11B*).
- *Aeroponía*: En estos sistemas las raíces de las plantas se suspenden en el aire dentro de una cámara mantenida al 100% de humedad y las raíces se empañan intermitentemente con una solución nutritiva. Las ventajas de este sistema son la ausencia de medio y la exposición directa al aire permite que las raíces absorban el oxígeno necesario para la respiración y así facilitar el crecimiento de estas. Las raíces son susceptibles de secarse rápidamente, por lo que los ciclos de nebulización suelen durar unos segundos cada dos minutos. El sistema de aeroponía ha sido probado con éxito en diferentes especies de plantas, tales como: vegetales de hoja, vegetales de frutas y plantas ornamentales (*Ilustración 11C*).



**Figura 11:** A) Sistema de riego por goteo, B) Técnica de película nutritiva, C) Aeroponía; imagen propia

#### 1.4.2. Cultivo hidropónico de *Lactuca sativa* (Lechuga)

La lechuga proveniente de algún lugar de Europa. Posee un sabor suave, hojas verdes (dependiendo de la especie puede variar), son amplias, lisas, sin vellosidades, con bordes lisos o dentados, y con abolladuras; un tallo duro, largo y poco fibroso; las hojas se desarrollan alrededor del tallo. No alcanzan más de 25 cm de altura. Son propias de climas templados, pero se adaptan a muchos ambientes siendo populares en casas, jardines e incluso invernaderos(27). Es uno de los cultivos más consumidos en la actualidad.

A pesar de su resistencia a muchos ambientes esta es totalmente intolerable a la sequía, por lo que deben usarse técnicas de riego mejoradas procurando que la superficie donde este plantada permanezca húmeda y con un drenaje eficiente. Es muy conveniente un suelo arenoso.

Son utilizadas mayoritariamente para dietas por su bajo contenido en carbohidratos, además de poseer algunas vitaminas y minerales. Generalmente esta es consumida cruda, aunque existen variedades como la lechuga china que requiere ser cocinada para ingerirse ya que es bastante dura.

Su cultivo hidropónico se popularizo con los sistemas NFT, debido a su importancia económica y que su raíz no es muy extensa ni muy delicada. Para un

correcto crecimiento los nutrientes tienen que dosificarse apropiadamente; en el suelo es difícil controlar correctamente la dosificación, mientras que en la hidroponía es más fácil monitorearlos y estabilizarlos.

Mayormente los requerimientos nutricionales son los siguientes:

- **Macronutrientes:** Tenemos al nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca) y hierro (Fe). La dosificación varía según el estadio de crecimiento, “A” desde que se siembra hasta que germina y “B” desde la germinación hasta la cosecha (*Tabla 3*).

**Tabla 3:** *Macronutrientes requeridos para cultivo hidropónico*

<b>Nutriente</b>	<b>Periodo “A”</b>	<b>Periodo “B”</b>
<i>Nitrógeno</i>	113	144
<i>Fósforo</i>	62	62
<i>Potasio</i>	199	199
<i>Magnesio</i>	50	50
<i>Calcio</i>	122	165
<i>Hierro</i>	2.5	2.5

- **Micronutrientes:** Son necesarios para el crecimiento de la planta, pero sus dosis son más reducidas. Siendo estos el ácido bórico, cloruro de magnesio, cloruro cúprico, trióxido de molibdeno y sulfato de zinc. A diferencia de los macronutrientes los compuestos antes mencionados no varían con el estadio de crecimiento (*Tabla 4*).

**Tabla 4:** *Micronutrientes requeridos para cultivo hidropónico*

<b>Nutrientes</b>	<b>Gramos por c/450 mL</b>
<i>Ácido bórico</i>	7.50
<i>Cloruro de magnesio</i>	6.75
<i>Cloruro cúprico</i>	0.37
<i>Trióxido de molibdeno</i>	0.15
<i>Sulfato de zinc</i>	1.18

### 1.4.3. Enfermedades en sistemas hidropónicos

Son ampliamente reportadas por Saavedra(28):

- *Pudrición gris*: Causada por el hongo *Botrytis cinerea*, afecta a la planta en cualquier etapa de su crecimiento. Se desarrolla en condiciones húmedas a temperaturas cercanas de 20 °C. Son lesiones acuosas que aparecen en la hoja o tallo, a medida que avanza el micelio toma un tono grisáceo y esporula profusamente, produciendo daño al cultivo irremediablemente y se esparce fácilmente. El control puede ser proporcionarle más aireación al cultivo, evitar el contacto con el medio, eliminar las plantas más afectadas y la aplicación de fungicidas con monitoreo.



*Figura 12: Infección por pudrición gris*

- *Mildiu*: Causada por el hongo *Bremia lactucae*, afecta a la planta en cualquier etapa de su crecimiento. Se desarrolla en climas de otoño-invierno, también es frecuente en invernaderos y sistemas hidropónicos cerrados. Se caracterizan por presentar manchas cloróticas delimitadas en la hoja donde luego avanzan a café y posteriormente se secan. Después de 24 o 48 horas en la parte inferior de la hoja se presenta un micelio blanco grisáceo con abundante esporulación. El control consiste en la eliminación inmediata de la sección afectada o la planta en su totalidad si es irrecuperable; por lo que se sugieren usar fungicidas desde el periodo de almácigo para evitar la aparición.



**Figura 13:** Infección por Mildiu

- *Oídio:* Causada por el hongo *Erysiphe cichoracearum*, afecta a las hojas con más frecuencia cuando ya es adulta. Se desarrolla en cultivos cálidos con alta humedad. Se caracteriza por presentar manchas pulverulentas formadas por un micelio blanquecino que cubre tanto el haz como el envés de la hoja. El control se realiza eliminando inmediatamente la planta apenas aparezca, y mantenerlas lo más ventiladas posible.



**Figura 14:** Infección por Oídio

- *Pudrición de la raíz:* Causada por un amplio grupo de hongos y mohos (mayormente *Phytophthora*), afecta únicamente la raíz de la lechuga y es exclusiva de los sistemas hidropónicos. Se caracteriza por la pudrición de la

raíz. Se torna de color café a negra y se empieza a descomponer; adicionalmente el resto de la planta empieza a morir no por culpa directa de la enfermedad sino por falta de nutrientes. El control es eliminar las partes negras de la raíz, o eliminarla si está completamente infectada. El control se realiza al tanque de almacenamiento y las tuberías lavándolas a profundidad y aplicando un antifúngico de amplio espectro.



*Figura 15: Infección por pudrición de raíz.*

#### 1.4.4. Plagas en sistemas hidropónicos

La mayoría de los sistemas hidropónicos son afectados por plagas específicas para cada cultivo. En el caso de la lechuga tiene dos plagas recurrentes que son el pulgón y los trips. No es muy frecuente tenerlos debido a que la mayoría de los sistemas son cerrados o están en invernaderos. Si se encuentra alguna de estas plagas se recomienda usar insecticidas naturales o químicos y hacer seguimiento del control; si en evaluaciones posteriores la plaga está muy avanzada y no muestra disminución se tiene que eliminar los cultivos afectados y fumigar el invernadero.

#### 1.5. Bioensayos de toxicidad

Basado en la información proporcionada por el Comité de Acción de Resistencia a los Insecticidas(29) (IRAC por sus siglas en inglés, de *Insecticide*

*Resistance Action Committee*) podemos separar a los insecticidas actuales en grandes grupos que afectan de manera similar a la plaga objetivo. Entre estos tenemos los que afectan al sistema nervioso y muscular (inhibidores de la acetilcolinesterasa, moduladores del canal de sodio, bloqueadores de los canales de cloruro activados por GABA), el crecimiento de la plaga (inhibidores de las hormonas en la plaga, inhibidores de la biosíntesis de quitina, disruptor de la muda), el sistema digestivo (disruptores microbianos de la membrana del intestino medio en los insectos, baculovirus) y el sistema respiratorio (inhibidor de la ATP sintetasa mitocondrial, inhibidor del transporte de electrones del complejo mitocondrial).

Otros insecticidas menos conocidos o específicos son los denominados irritantes que dañan la piel de la plaga al entrar en contacto, Suelen ser mezclas o extractos vegetales elaborados de forma artesanal, por lo que no se un consenso que valide a una u otra extracción, se diferencian entre ellos por la composición de los extractos y las concentraciones de los compuestos identificados como tóxicos o irritantes.

En cuanto a la forma de aplicación del insecticida las formas más utilizadas suelen ser aplicaciones de contacto (contacto directo y fumigación) y la aplicación sistémica (penetran en la planta para ser ingeridos por la plaga). La primera suele ser las más aplicada y regulada en los campos del Perú utilizando maquinaria aplicadora acoplada a un tanque mezclador y aspersores; dependiendo del tamaño de la boquilla de los aspersores es que el insecticida puede aplicarse, si se aplica en gotas gruesas favorece la fumigación y si se aplica en gotas finas favorece el contacto directo.

#### 1.5.1. Bioensayo de fumigación

El fundamento de este ensayo consiste en la aplicación de un volumen determinado de insecticida por volumen de aire aplicado. La medida más usada suele ser mililitro o miligramo de insecticida por litro de aire ( $ml\ insecticida/ml\ aire$ ) o ( $mg\ insecticida/ml\ aire$ ).

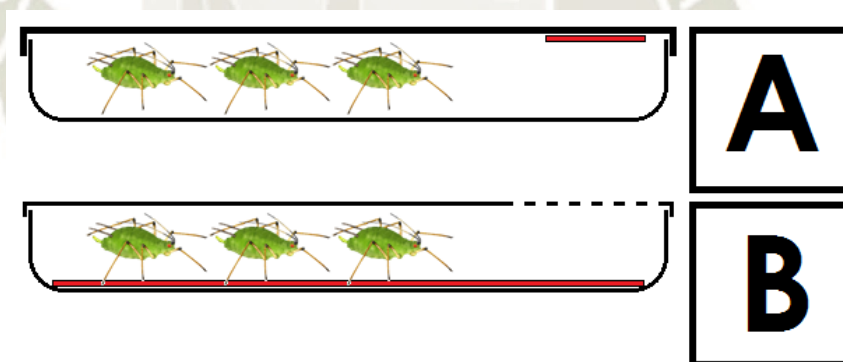
En la *Ilustración 16 A* podemos ver una ejemplificación del método, un número determinado de pulgones son contenidos en un frasco hermético (placa Petri en este

caso) con una muestra de papel filtro impregnada del insecticida pegada a la tapa, esto propicia a que los pulgones no lo toquen y el aire dentro de la placa se sature solamente con el insecticida.

#### 1.5.2. Bioensayo de contacto directo

El fundamento es similar al anterior ensayo, la diferencia consiste en la aplicación de un volumen determinado de insecticida por área aplicada. La medida más usada suele ser mililitro de insecticida por metro cuadrado o hectárea aplicada ( $ml\ insecticida/m^2\ aplicado$ ) o ( $ml\ insecticida/ha\ aplicada$ ).

En la *Ilustración 16 B* podemos ver una ejemplificación del método, un número determinado de pulgones son contenidos en un frasco hermético (placa Petri en este caso) con un disco de papel filtro impregnada del insecticida en la base del disco, esto propicia a que los pulgones entren en contacto con el insecticida, además se perfora la tapa para que el aire dentro de la placa no se vea impregnado.



**Figura 16:** A) Método por fumigación; B) Método por contacto directo; imagen propia



## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1.Lugar de ejecución**

La investigación se realizó en la ciudad de Arequipa. El ensamblado, puesta en marcha del sistema hidropónico y la propagación del pulgón se realizaron en una habitación alquilada en el distrito de Alto Selva Alegre, mientras que la parte experimental se desarrolló en los laboratorios de Investigación de pregrado proporcionado por la Universidad Católica de Santa María, todo esto en el periodo del año 2019.

#### **2.2.Materiales**

##### **2.2.1. Material biológico**

Se recolectaron al azar pulgones adultos en un invernadero local eligiendo flores ornamentales (rosa común) para luego transportarlos al sistema hidropónico. Al llegar al sistema hidropónico la planta infestada se colocó junto a las lechugas hidropónicas y se cerró la malla para cerrar el sistema estableciendo condiciones de 23 +/- 2°C y luz (12:12 D/N). A las 24 horas se comprobó que los pulgones habían

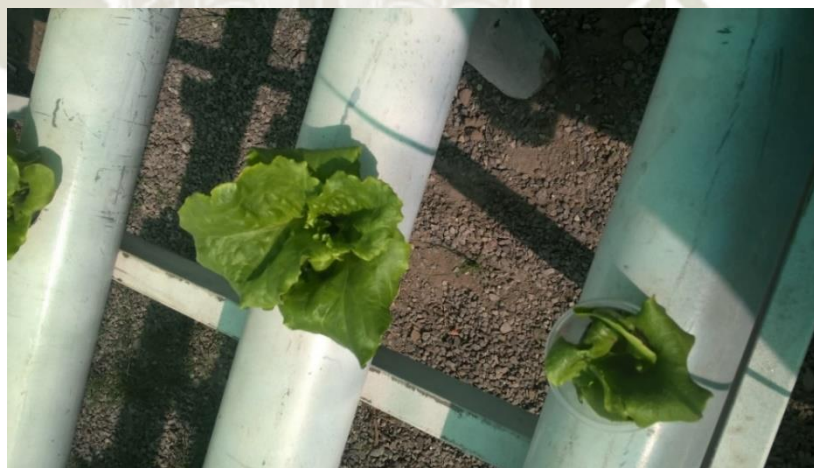
migrado a diferentes plantas del primer piso, en la semana siguiente fueron migrando a los tres pisos en donde se propagaría hasta alcanzar un número mínimo para la experimentación.

Para la identificación taxonómica se tomaron 20 ejemplares adultos los cuales fueron colocados en un tubo de ensayo con tapa hermética y se agregó 5 ml de etanol puro, se envolvió con papel aluminio y se envió a identificar al laboratorio de entomología en la Universidad Nacional de San Agustín – Arequipa.

### 2.2.2. Material vegetal

Todo el material vegetal utilizado fue adquirido en la ciudad de Arequipa – Arequipa, Perú.

La lechuga (*Lactuca sativa*) fue adquirida en “Hidroponía Arequipa” en el distrito de Arequipa – Arequipa, Perú, teniendo unas cuatro semanas de crecimiento sin ningún tratamiento químico previo (*Ilustración 16*). Fueron colocados en un sistema hidropónico fabricado para este proyecto hasta tener un área foliar adecuada.



**Figura 17:** Lechuga con cuatro semanas de vida; imagen propia

La muestra de ajeno (*Artemisia absinthium*) fue adquirido en un mercado local, y la muestra de molle (*Schinus molle*) fue recolectada en el Cementerio “La Apacheta” en el distrito de José Luis Bustamante y Rivero, la recolección se realizó a principios de la estación invernal del 2019 y no contienen ningún tratamiento químico previo. Tanto el ajeno como el molle fueron seleccionados para el estudio según

tamaño, número de hojas y sanidad de la hoja. Se pusieron sobre una mesa de granito sin luz directa para secar a temperatura ambiente (20 °C) por 5 días, se conservaron solo las hojas descartando semillas y tallos; al final ambas muestras se pesaron y empaquetaron con papel Kraft para ser almacenadas a temperatura ambiente hasta su uso.

Para la identificación taxonómica del material vegetal se recolectó una muestra representativa de cada uno, del ajeno se tomó una planta entera que comprendía raíz, tallo, hoja y flor. Para el molle se tomó una rama que tenía 4 palmas en diferentes estados de crecimiento con presencia de frutos. Todo se recolectó fresco y se envió al Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) ubicado en el mercado de Arequipa.



*Figura 18: A) Ajeno seco, B) Molle seco; imagen propia*

### 2.2.3. Material de laboratorio

El material de plástico utilizado fueron tubos eppendorf, placas Petri y plástico de embalaje. El material de vidrio comprende matraces, vasos graduados, varillas de agitación, pipetas, botellas de color ámbar y peras de decantación. Otros materiales comprenden micropipetas, papel filtro, pinzas y mortero.

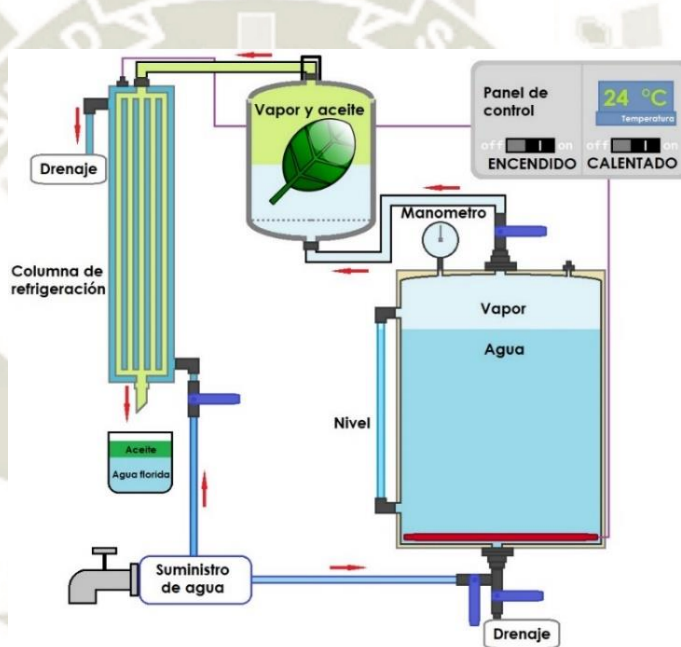
### 2.2.4. Reactivos

En la investigación con el fin de mantener el proceso lo más ecológico posible los insumos químicos que se utilizaron fueron etanol puro de marca genérica y sulfato de sodio anhidro, ambos adquiridos en “Delta Química S.R.L.”, y agua destilada proporcionada por la universidad.

Para suministrar nutrientes a las lechugas se utilizó solución hidropónica La Molina ® A y B.

### 2.2.5. Equipos

Se usó un equipo de arrastre de vapor proporcionado por la Universidad Católica de Santa María. Consiste primeramente de un tanque con agua unido a una resistencia y una llave de paso para generar vapor, este va a un segundo tanque donde está el material vegetal y se obtuvo el extracto, finalmente el vapor con aceite va a una columna de refrigeración para enfriar y se forme una mezcla difásica de aceite y agua florida (*Ilustración 19*).



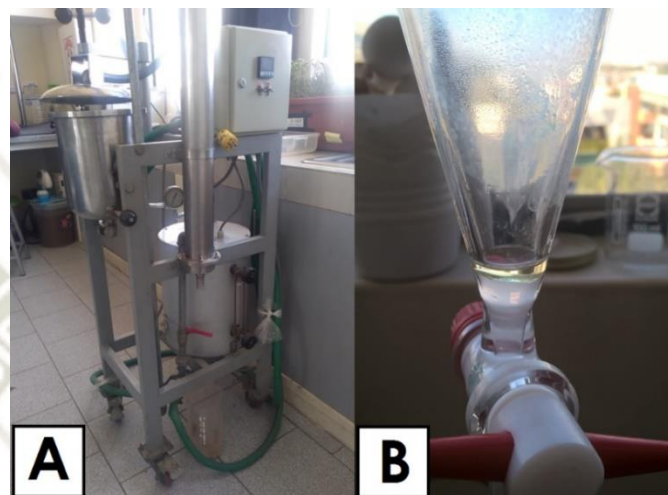
**Figura 19:** Diagrama del equipo de arrastre de vapor de la UCSM; imagen propia

## 2.3.Métodos

### 2.3.1. Extracción de los aceites por arrastre de vapor

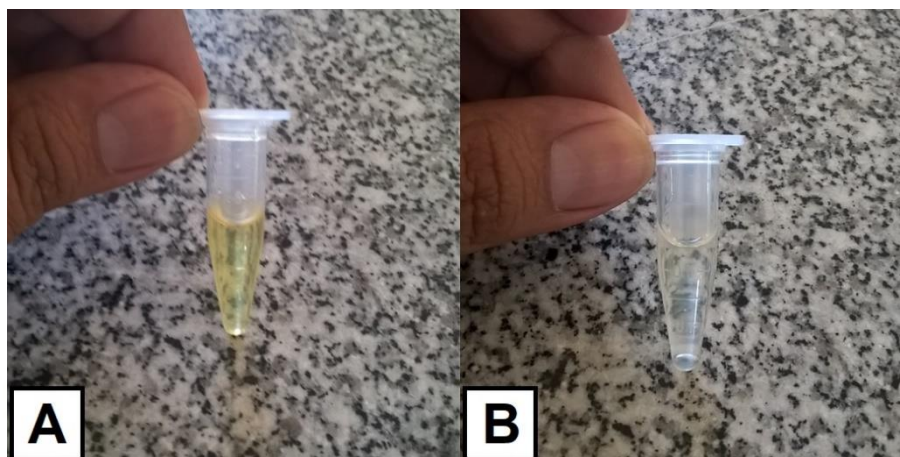
La metodología usada es una modificación basada en Dalguerre(30). Para cada material vegetal se pesó un kilo donde luego fue puesto en una bolsa de organza, se colocó en la cámara de extracción y se cerró la tapa hasta formar un cierre hermético.

El tanque de agua se llenó, se cerraron las válvulas y se conectó la columna refrigerante con la corriente de agua. Se encendió el calefactor del tanque para que produzca vapor hasta llegar a obtener la presión de 20 psi, finalmente se apagó la calefacción, se procedió a abrir la llave del refrigerante, posteriormente la válvula del vapor y se recolectó el condensado cargado con el aceite esencial (*Ilustración 20*).



**Figura 20:** A) Equipo de arrastre de vapor, B) Pera de decantación con aceite de ajeno; imagen propia

El extracto obtenido fue colocado en una pera de decantación, se dejó reposar por media hora hasta separar las fases. El extracto de ajeno tenía un olor penetrante característico con dos fases bien separadas, mientras que la de molle tenía un olor floral, pero fue necesario agregarle agua destilada fría para facilitar la separación de las fases. Ambas muestras se separaron conservando el aceite en tubos Eppendorf, con una pipeta Pasteur se sacaron las gotas de agua que pudieron pasar, se utilizó sulfato de sodio anhidro (cinco veces) para desecar los extractos y finalmente el aceite fue reunido en un solo tubo Eppendorf recubierto con papel aluminio para finalmente almacenarlo a 4°C hasta su uso (*Ilustración 21*).



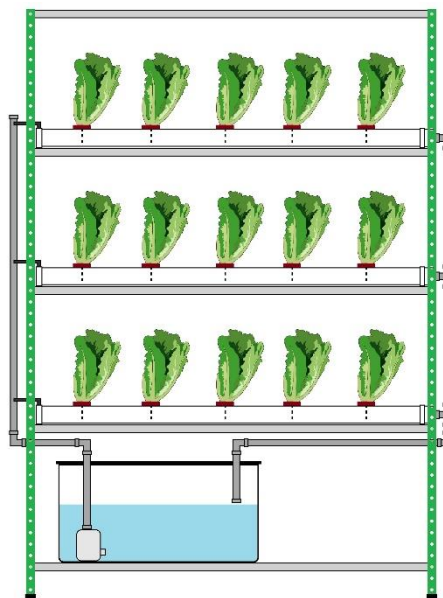
*Figura 21: A) Aceite esencial de ajeno, B) Aceite esencial de molle; imagen propia*

### 2.3.2. Diseño y construcción del sistema hidropónico

El sistema hidropónico se fabricó primero adquiriendo un andamio de cuatro niveles con un vendedor local en el distrito de Mariano Melgar – Arequipa, Perú.

Se mandó a ensamblar las tuberías con un proveedor local para luego ser pintadas de color blanco en el exterior, después se adquirió el motor y el tanque de suministro de nutrientes para luego poder ensamblar el sistema hidropónico con la supervisión de un asesor en sistemas hidropónicos cerrados; se instaló y aseguro al andamio, el tanque se forró con papel aluminio para evitar la luz, la bomba fue instalada y colocada con las mangueras para funcionar con un programador de riego, finalmente los tres primeros niveles fueron forrados con malla antiáfida adquirida en la ciudad de Ica – Ica, Perú.

Para su funcionamiento en lugares cerrados se agregaron luces LED en los niveles de cada piso. Además, se sacó al exterior para recibir luz directa del sol por recomendación del asesor.



**Figura 22:** Modelo del sistema hidropónico a fabricar; imagen propia

### 2.3.3. Análisis por cromatografía de gases con espectrometría de masas

Se tomaron un mililitro de cada aceite y se guardó en un tubo Eppendorf separado, recubierto con papel aluminio y rotulado. El equipo cromatógrafo de gases usado fue marca SHIMADZU, modelo GC-2010 Plus. El espectrómetro de masas acoplado era marca SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010 Ultra.

### 2.3.4. Bioensayo de toxicidad por fumigación

Se trabajó según la metodología descrita por Albouchi(24). Se utilizaron placas Petri descartables (9 cm diámetro - 1.2 cm altura), en cada tapa se colocó un papel filtro de 4 cm<sup>2</sup> donde se aplicaron cinco dosis de 5 a 25  $\mu$ L de aceite esencial puro (65.50  $\mu$ L/L aire a 327.48  $\mu$ L/L aire) (Anexo IV), el blanco fue un papel filtro sin ningún agregado. Se seleccionaron 10 pulgones para cada ensayo. Luego fueron tapados y se almacenaron en un estante a temperatura ambiente por 24 horas. Se realizaron cuatro repeticiones.

Para evaluar el porcentaje de eficacia de Abbott ( $PE_a$ )(31) fue usada para evaluar eficiencia del biocida. El análisis Probit(32) fue usado para estimar los valores de concentración letal (LD50 y LD95) después de 24 horas.



**Figura 23:** Placa Petri para bioensayo por fumigación; imagen propia

### 2.3.5. Bioensayo de toxicidad por contacto directo

Se trabajó con una metodología combinada descrita por Albouchi(24) y Janaki(33). Se utilizaron placas Petri descartables (9 cm diámetro - 1.2 cm altura), en la base se colocó un disco de papel filtro. Para las disoluciones se preparó una solución madre de Tween 20 (0.1% p/v) en las que se prepararon seis dosis de 0.0786 a 1.2575  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  de base (500 a 8000  $\mu\text{L}/\text{L}$  aplicado) (de 10 a 80  $\mu\text{L}$  de aceite puro por cada 10 mL de solución) (Anexo V), el blanco fue un papel filtro sin ningún agregado. Fueron seleccionados 10 pulgones para cada ensayo. Luego fueron tapados con un film plástico con perforaciones en el centro y se almacenaron en un estante a temperatura ambiente por 24 horas. Se hicieron cuatro repeticiones. También se utilizaron el porcentaje de eficacia de Abbott ( $PE_a$ )(31) y el análisis Probit(32) después de 24 horas.



**Figura 24:** Placa Petri para bioensayo por contacto directo; imagen propia

### 2.3.6. Análisis estadístico

Para hacer la fórmula de Abbott se usó una hoja de cálculo de Excel. La fórmula a continuación descrita trabaja en la eficiencia del insecticida tomando como variables la población inicial y la población final. Si las poblaciones iniciales tanto de las unidades de observación como las unidades de control son iguales se habla de "poblaciones homogéneas", es por esto que Abbott es la mejor opción(34).

$$PE_a = \left(1 - \frac{N_t}{N'_t}\right) \times 100$$

- $N_t$  : Unidades de la plaga en la unidad de observación que se evalúa a "t" días después de aplicar.
- $N'_t$  : Unidades de la plaga en la unidad de control que se evalúa a "t" días después de aplicar.

Para hacer los análisis Probit, ANOVA y Tukey se usó *SPSS Statistics 25*.

## CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Rendimiento de la extracción del aceite esencial

El rendimiento de la extracción con el equipo de arrastre de vapor (*Ilustración 20*) para las hojas de *Artemisia absinthium* fue de 1 ml de aceite puro por kilogramo de muestra seca (0.74% del peso seco); mientras que para *Schinus molle* fue de 0,75 ml de aceite puro por un kilogramo de muestra seca (0.69% del peso seco).

Ambos resultados son considerados bajos al compararlos con otras plantas de hojas oleosas como el orégano (2.76%)(35) pero son similares a plantas con hojas menos aceitosas como el cilandro (0.01%)(36).

### 3.2. Diseño, construcción y puesta en marcha del sistema hidropónico para el cultivo del pulgón

#### 3.2.1. Programación de parámetros

Se implementó el tanque de almacenamiento conteniendo 25 litros de agua potable ocupando los dos tercios del volumen total; para hacer la solución nutritiva

total se agrega la solución A (5 mL/L) y la solución B (2 mL/L) al tanque con una bureta para con una espátula homogenizarlo y posteriormente acoplar las tuberías de alimentación. El riego del sistema se ajustó con un encendedor automático unido a la bomba para trabajar por 15 minutos cada hora, funcionando desde las 7 am hasta las 7 pm. El fotoperiodo se hizo 12/12, para completar las horas de luz insuficientes en el día se usaron tiras LED siendo encendidos manualmente (*Ilustración 24*).

### 3.2.2. Aclimatación de lechugas

Las lechugas con cuatro semanas de vida se colocaron en las dos primeras filas del sistema hidropónico y se aclimataron a su nuevo ambiente por una semana, aquellas que se mantenían saludables eran conservadas mientras que las defectuosas eran eliminadas para posteriormente agregar nuevas lechugas. Las que se aclimataron se movieron a la primera fila y fueron las utilizadas para la propagación del pulgón. Las de la segunda fila se usarían una semana después para mantener la producción.



*Figura 25: Sistema hidropónico ensamblado*

### 3.2.3. Propagación de los pulgones

Para realizarla se tomó una única muestra de pulgones adultos voluminosos que fueron agregados equitativamente para cada lechuga de la fila superior del sistema. Cada día se revisaba si se lograban propagar.

Al tercer día se apreció que solo en dos de las cinco lechugas sobrevivieron y lograron proliferar. En la primera semana de propagación las otras tres lechugas también adquirieron pulgones; una semana después se apreció que ya tenían una cantidad abundante de adultos por lo que se procedió a realizar los trabajos de biotoxicidad. Para su transporte a la universidad se sacó cada lechuga cuidadosamente del sistema y se colocaron en un recipiente plástico grande con tapa hermética.



*Figura 26: Lechugón de seis semanas infestadas con pulgón*

#### 3.2.4. Problemas durante el trabajo

La problemática se dio durante la aclimatación y propagación, ya que cada una presento una complicación diferente que se detallara a continuación:

- A. *Etiolación*: consiste en el estiramiento de la planta producido por la falta de iluminación, genera un vegetal con hojas y tallos finos y largos. Durante la primera semana de crecimiento con solo iluminación LED se apreció que los tallos se estiraban demasiado, siendo muy delgados y las hojas caían debilitadas. Esto coincide con lo reportado por agricultores como síntomas de la etiolación, y puede haberse producido por la insuficiente iluminación.

Para solucionar este problema se sacó el sistema hidropónico al exterior para que las lechugas reciban luz directa del sol y luego se usaban ambas fuentes de luz (solar y LED) para la segunda y tercera semana de ser necesario.



**Figura 27:** Etiolación de la lechuga

B. *Pudrición de la raíz:* En la tercera propagación se notó a los cinco días que diferentes lechugas empezaban a secarse y caían debilitadas, al revisarlas se vio que sus raíces estaban negras y despedían un olor desagradable. Por lo que se procedió a verificar el sistema completo encontrando que el tanque de almacenamiento tenía sedimento negro.

Esto podría ser producto del moho que produce la pudrición de la raíz(28). Para solucionar este problema primeramente se eliminaron las lechugas contaminadas, luego se desarmo todo el sistema de alimentación con el tanque y bomba incluidos, los que fueron lavados cinco veces con detergente, cloro y agua caliente para ser cepillados a profundidad, finalmente fueron puestos al exterior por una semana. Similarmente las tuberías de alimentación recibieron el mismo tratamiento. Al final de la semana se reensambló el sistema y se volvió al normal funcionamiento.



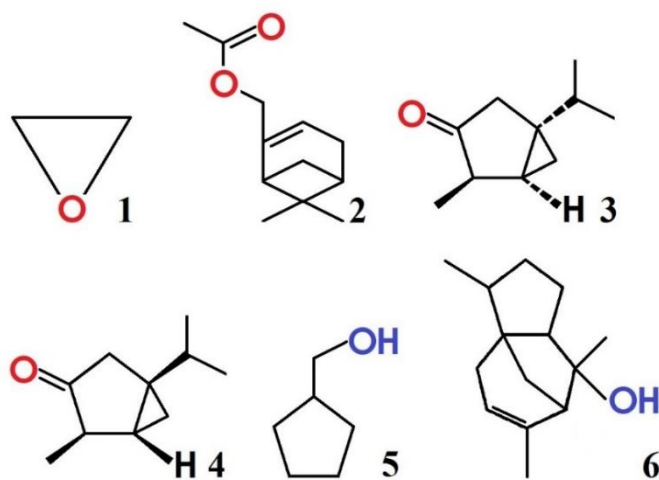
*Figura 28: Pudrición por la raíz*

### 3.3. Caracterización de los aceites esenciales por GC/MS

Se identificaron mediante GC-MS los compuestos presentados en la Tabla 5 (Anexo VI), dando un total de seis para el ajeno que representa el 100% del extracto. Entre estos compuestos, los principales fueron el óxido de etileno, la  $\beta$ -tujona y la  $\alpha$ -tujona (Ilustración 28).

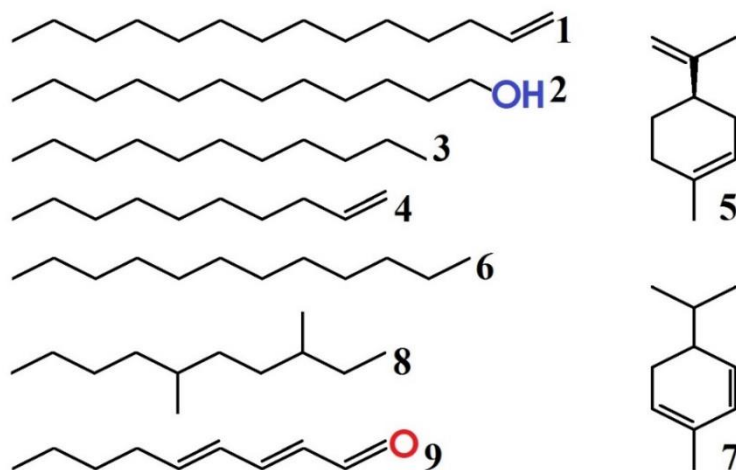
*Tabla 5: Identificación de los compuestos presentes en el aceite esencial de ajeno y molle*

<i>Aceite</i>	<i>Compuesto</i>	<i>(%)</i>	<i>(%)</i>
<i>A. absinthium</i>	Óxido de etileno	37.21	-
	Acetato de mirtenilo	25.62	-
	(-)- $\beta$ -Tujona	18.61	-
	$\alpha$ -Tujona	13.17	-
	Ciclopentano metanol	3.20	-
	Cedr-8-en-13-ol	2.19	-
<i>S. molle</i>	1-Tetradeceno	-	43.33
	1-Dodecanol	-	22.84
	Undecano	-	8.72
	1-Deceno	-	8.36
	D-Limoneno	-	4.53
	Dodecano	-	4.37
	$\alpha$ -Felandreno	-	4.24
	3,6-Dimetil decano	-	2.12
2,4-Decadienal	-	1.50	



**Figura 29:** Compuestos químicos presentes en el ajeno. 1) Óxido de etileno, 2) Acetato de mirtenilo, 3)  $\beta$ -Tujona, 4)  $\alpha$ -Tujona, 5) Ciclopentano metanol, 6) Cedr-8-en-13-ol

Mientras que para el molle fueron nueve compuestos que representan el 100% del aceite. Entre estos compuestos, los componentes principales fueron 1-dodecanol, el D-limoneno y el  $\alpha$ -felandreno (*Ilustración 29*).



**Figura 30:** Compuestos químicos presentes en el molle. 1) 1-Tetradeceno, 2) 1-Dodecanol, 3) Undecanol, 4) 1-Deceno, 5) D-limoneno, 6) Dodecano, 7)  $\alpha$ -Felandreno, 8) 3,6-Dimetil decano, 9) 2,4-Decadienal

En este estudio, a partir de las hojas secas de ajeno y molle conseguimos los aceites conformados por terpenos, monoterpenos y compuestos hidrocarbonados de cadena larga los que fueron identificados mediante GC-MS.

En el ajeno se han realizado diversos estudios como el reportado por Lopes-Lutz(37) que indica la presencia de  $\beta$ -tujona (10.1%) y  $\alpha$ -tujona (0.5%) en aceite extraído con un aparato tipo Clevenger, en nuestro trabajamos reportamos 18.61% y 13.17% respectivamente. Por otro lado Höld(10) señaló a la  $\alpha$ -tujona como el agente toxico del ajeno al generar convulsiones y la muerte en ratones con un DL50 de 45 mg/Kg, además de ser un inhibidor competitivo del sitio bloqueador no competitivo del canal de cloruro activado por GABA. Investigaciones realizadas por Burzo(38) mediante hidrodestilación del ajeno procedente de Rumania obtuvieron acetato de mirtenilo (12,77%), mientras que nosotros obtuvimos 25.62%. El trabajo de Nibret(39) realizado mediante un macerado con metanol y hojas secas de *Artemisia affra* procedente de Etiopia, logró obtener cedr-8-en-13-ol (2.80%), nuestro trabajo reporto 2.19%. El óxido de etileno(40) (oxirano) es reportado como un químico altamente toxico, se reportó unido a otras moléculas, Nikhat(41) lo reporta formando el ácido epoxi oleico y Bailen(42) lo reporta como cis-epoxi ocimeno (30.5%) nosotros lo encontramos únicamente como óxido de etileno con un 37.21%. El ciclopentano metanol no fue reportado en otras investigaciones.

Para el molle, Martins(43) utilizó un Clevenger con *Schinus molle* procedente de Portugal donde obtuvo  $\alpha$ -Felandreno (25.9%) y D-limoneno (11.7%), mientras que en este trabajo se obtuvo 4.24% y 4.53% respectivamente. El trabajo de Belhamel(44) usando molle procedente de Algeria obtuvo 1-Tetradeceno (0.6%), nosotros obtuvimos 43.33%. Murray(45) utilizando hojas y frutos de *Schinus fasciculata* consiguió 1-Deceno (12.34%) y 1-Dodecanol (9.21%). Nuestro trabajo obtuvo 8.36% y 22.84% respectivamente. En su trabajo Benelli(46) hizo una extracción con *Schinus areira* obteniendo Dodecano (8%), nosotros reportamos 4.37%. En Perú Hosni(47) utilizo frutos inmaduros de molle local y haciendo una extracción por solventes obtuvo un pequeño porcentaje de Undecano (0.09%) mientras que nosotros con un arrastre de vapor obtuvimos un mejor resultado (8.72%). Tanto el 3,6-Dimetil decano como el 2,4-Decadienal no fueron reportados en otras investigaciones.

De acuerdo con estos resultados podemos concluir que la actividad biocida en el ajeno es producida por dos factores:

- El óxido de etileno es un toxico agudo, y al estar al 37.21% garantiza la eliminación de los pulgones.
- La  $\alpha$ -tujona es un muy conocido agente neurotóxico por lo que agrega potencial biocida a la muestra, mientras que la  $\beta$ -tujona solo reporta ser toxica sin mucha investigación sobre ella.

En el caso del molle podemos concluir que su actividad biocida es producida por dos factores:

- El D-limoneno es un insecticida muy potente según la Unión Europea, además de ser altamente irritable a la piel, por esto agrega un mayor efecto biocida al ser aplicado en contacto directo con el pulgón.
- Mientras que el alfa-felandreno es asociado solamente con irritación también contribuye al efecto biocida por contacto directo.

### 3.4.Determinación de la dosis letal mediante la evaluación de toxicidad

Después de la aplicación *in vitro* de cinco dosis para fumigación y seis dosis para contacto directo tanto con ajeno y molle, se evaluó la muerte de los individuos después de 24 horas de aplicados (Tabla 6).

**Tabla 6:** Pulgones muertos después de 24 horas

	Dosis ( $\mu\text{L/L}$ aire)	Ajeno		Molle			Dosis ( $\mu\text{L/L}$ )	Ajeno		Molle	
		V	M	V	M			V	M	V	M
<b>Fumigación</b>	65.5	6	4	7	3	<b>Contacto directo</b>	500	8	2	8	2
	130.99	5	5	6	4		1000	8	2	8	2
	196.49	3	7	5	5		2000	7	3	6	4
	261.98	2	8	5	5		4000	7	3	5	5
	327.48	1	9	3	7		6000	7	3	4	6
	Blanco	10	0	10	0		8000	6	4	3	7
						Blanco	9	1	9	1	

En la *Tabla 6* se puede observar el promedio de la cantidad de pulgones vivos y muertos después de 24 horas de aplicar la respectiva dosis, considerando que todos los bioensayos empezaron con una cantidad de 10 pulgones. Teniendo en cuenta que el tiempo de vida promedio de un pulgón es de dos semanas podemos descartar que durante el tiempo de estudio pudieran nacer nuevas ninfas ya que el número inicial no aumento, lo que indica que no tenemos natalidad de pulgones.

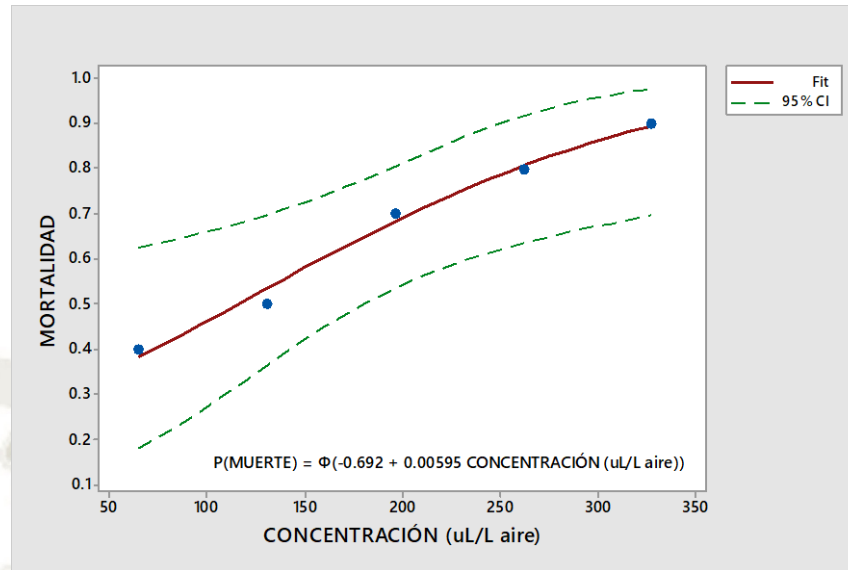
### 3.4.1. Toxicidad por Fumigación

En la *Tabla 7* se muestran los resultados del bioensayo con pulgones para los diferentes aceites, los “Blanco” no presentaron muertos lo cual indica que los bioensayos fueron realizados correctamente, para el aceite de ajenjo se muestra que a la concentración de 327.48  $\mu\text{L/L}$  aire se observa un 90% de mortalidad mientras que en el molle a la misma concentración se presentó un 70%.

**Tabla 7:** Mortalidad de los pulgones sometidos a seis concentraciones de ajenjo y molle a 24 horas de exposición por el método de Fumigación

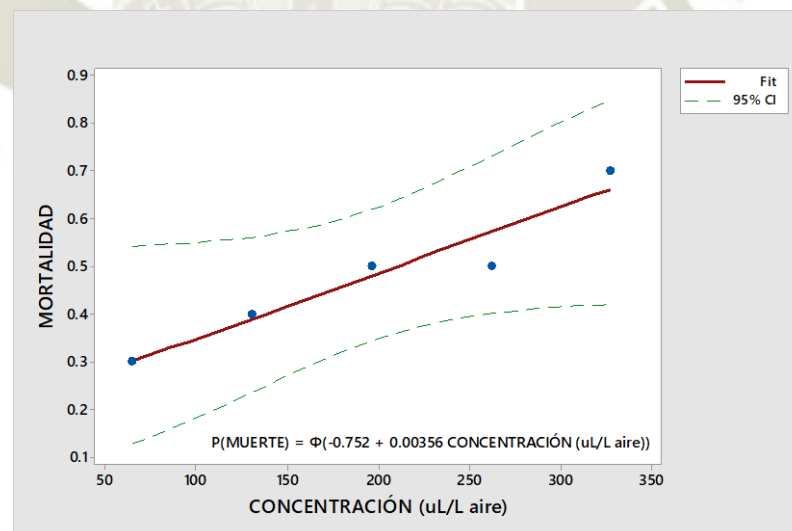
<i>Aceite</i>	<i>Concentración (<math>\mu\text{L/L}</math> aire)</i>	<i>Pulgones muertos</i>	<i>Mortalidad (%)</i>	<i>DL50</i>	<i>DL95</i>
<i>Ajenjo</i>	65.50	4	40	201.83	465.43
	130.99	5	50		
	196.49	7	70		
	261.98	8	80		
	327.48	9	90		
	Blanco	0	0		
<i>Molle</i>	65.50	3	30	320.51	1095.86
	130.99	4	40		
	196.49	5	50		
	261.98	5	50		
	327.48	7	70		
	Blanco	0	0		

Los resultados del análisis Probit indicados en la *Ilustración 31* para el aceite de ajenjo nos dan una dosis letal media (DL50) de 201.83  $\mu\text{L/L}$  aire, con la cual se obtiene un 50% de mortalidad de organismos, mientras que la DL95 fue 465.43  $\mu\text{L/L}$  aire, dosis con la cual se obtuvo un 95% de mortalidad.



**Figura 31:** Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$  aire) del aceite de ajeno a las 24 horas de aplicación por el método de Fumigación

Mientras que el análisis Probit presentado en la *Ilustración 32* para el aceite de molle nos indica que la DL50 fue de  $320.51 \mu\text{L/L}$  aire y la DL95 fue de  $1095.86 \mu\text{L/L}$  aire. Esta última presenta un gasto mucho mayor a la reportada para el ajeno.



**Figura 32:** Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$  aire) del aceite de molle a las 24 horas de evaluación por el método de Fumigación

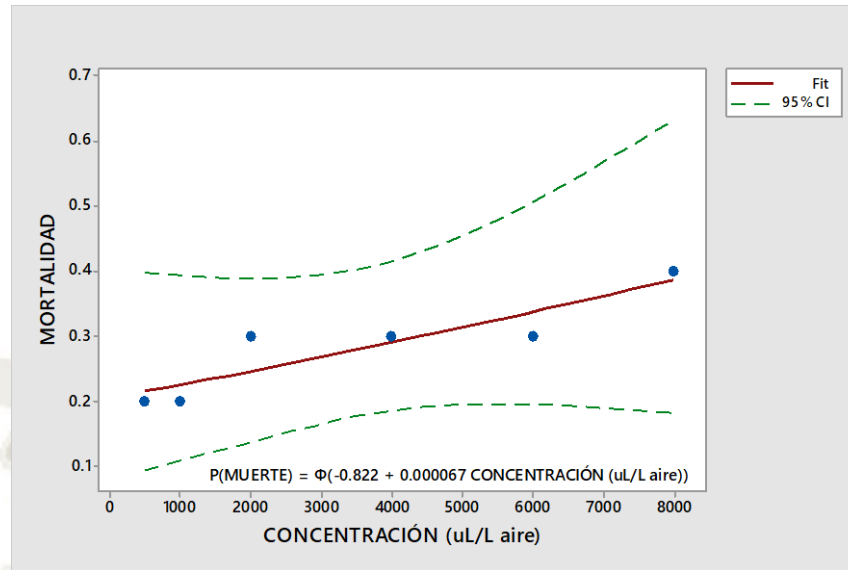
### 3.4.2. Toxicidad por Contacto Directo

La *Tabla 8* muestra los resultados del bioensayo con pulgones para los tipos de aceites. Los “Blanco” presentaron 10% de mortalidad lo cual indica que fueron realizados correctamente, ya que es permitido hasta un 10% de mortalidad para establecer su validez, además a la concentración de 8000  $\mu\text{L/L}$  de aceite de ajeno se observa un 40% de mortalidad, mientras que para el aceite de molle a la misma concentración se presentó un 70%.

**Tabla 8:** *Mortalidad de los pulgones sometidos a seis concentraciones de ajeno y molle a 24 horas de exposición por el método de Contacto directo*

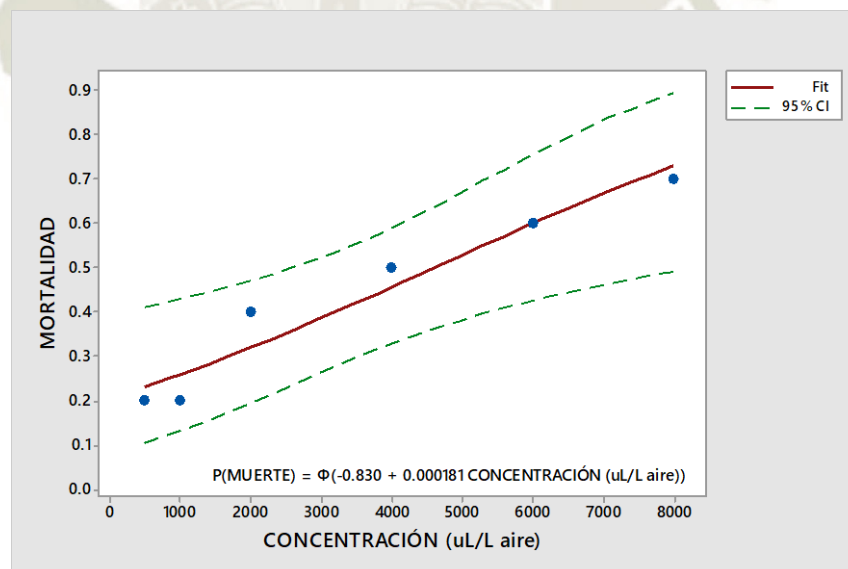
<i>Aceite</i>	<i>Concentración (<math>\mu\text{L/L}</math>)</i>	<i>Pulgones muertos</i>	<i>Mortalidad (%)</i>	<i>DL50</i>	<i>DL95</i>
<i>Ajeno</i>	500	2	20	57783	11727799.2
	1000	2	20		
	2000	3	30		
	4000	3	30		
	6000	3	30		
	8000	4	40		
	Blanco	1	10		
<i>Molle</i>	500	2	20	5139	44040.38
	1000	2	20		
	2000	4	40		
	4000	5	50		
	6000	6	60		
	8000	7	70		
	Blanco	1	10		

Los resultados del análisis Probit indicados en la *Ilustración 33* para el aceite de ajeno nos indica una DL50 de 57.783 mL/L con la cual se obtiene un 50% de mortalidad de organismos, mientras que la DL95 fue de 11727799.2  $\mu\text{L/L}$  con la cual se obtuvo un 95% de mortalidad.



**Figura 33:** Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ ) del aceite de ajeno a las 24 horas de evaluación por Contacto directo

Mientras que en el análisis Probit presentado en la *Ilustración 34* para el aceite de molle la DL50 fue de 5.139 mL/L y la DL95 fue de 44.04038 mL/L. Estos últimos presentan ser más eficientes al ser comparados con el ajeno.



**Figura 34:** Mortalidad según la concentración ( $\mu\text{L/L}$ ) del aceite de molle a las 24 horas de evaluación por Contacto directo

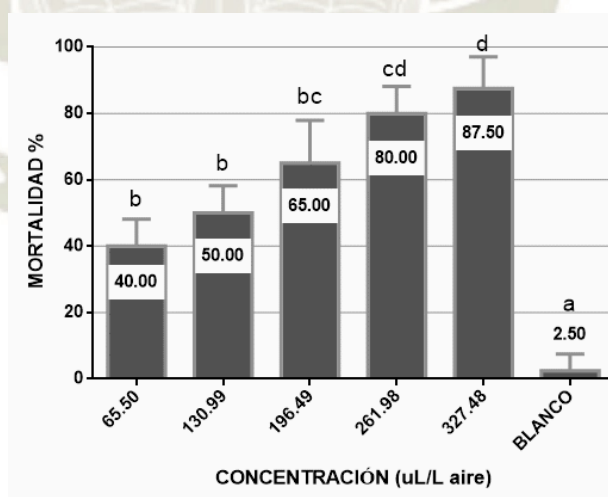
### 3.5.Resultado del análisis estadístico

Se aplicó la prueba de ANOVA para cada tratamiento de aceite por separado, considerando las diferentes dosis y su blanco correspondiente.

**Tabla 9:** Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según la concentración de ajeno a las 24 horas de exposición por el método de Fumigación

Concentración	Mortalidad $X \pm S$	F	Significancia
65.50	40.00 $\pm$ 08.16	23,232	0,000... (P<0.01)
130.99	50.00 $\pm$ 08.16		
196.49	65.00 $\pm$ 12.91		
261.98	80.00 $\pm$ 08.16		
327.48	87.50 $\pm$ 09.57		
BLANCO	02.50 $\pm$ 05.00		

La *Tabla 9* muestra los promedios y desviaciones estándar de la mortalidad de pulgones por efecto del aceite de ajeno. También se muestran los resultados de la prueba de ANOVA, la misma que indica que la mortalidad promedio del aceite presenta diferencias altamente significativas (P<0.01) con un 99% de confianza.



**Figura 35:** Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de ajeno a las 24 horas de bioensayo

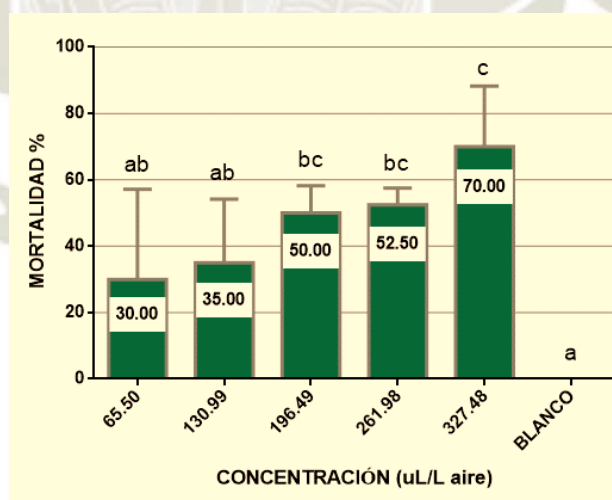
La *Ilustración 35* nos muestra la comparación entre la mortalidad dependiente de las concentraciones. La prueba de contraste de Tukey a las 24 horas de exposición por el método de fumigación presenta cuatro grupos (a, b, c y d) observándose que la

concentración del 327.48  $\mu\text{L/L}$  aire presenta mayor mortalidad del pulgón con un 87.50% mientras que la concentración del blanco presenta la menor mortalidad con un 2.50% de pulgones muertos.

**Tabla 10:** Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de molle a las 24 horas de exposición por el método de Fumigación

Concentración	Mortalidad $X \pm S$	F	Significancia
65.50	30.00 $\pm$ 27.08	7,803	0,000... (P<0.01)
130.99	35.00 $\pm$ 19.15		
196.49	50.00 $\pm$ 08.16		
261.98	52.50 $\pm$ 05.00		
327.48	70.00 $\pm$ 18.26		
BLANCO	0.00 $\pm$ 0.00		

La *Tabla 10* muestra los promedios y desviaciones estándar de la mortalidad de pulgones por efecto del aceite de molle. También se muestran los resultados de la prueba de ANOVA, la misma que indica que la mortalidad promedio del aceite presenta diferencias altamente significativas (P<0.01) con un 99% de confianza.



**Figura 36:** Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de molle a las 24 horas de bioensayo

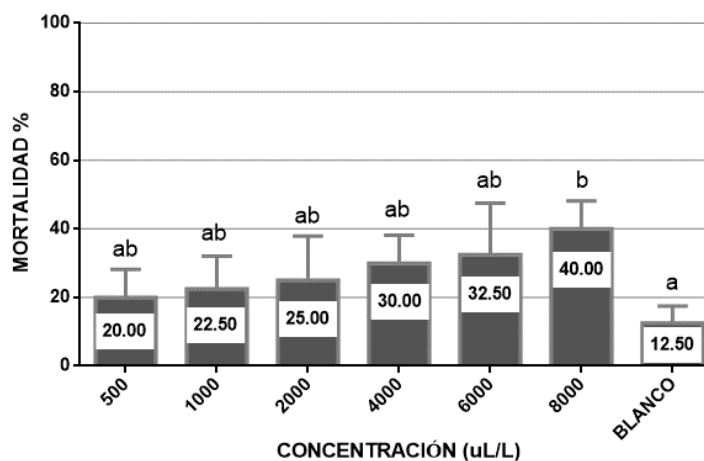
La *Ilustración 36* muestra la comparación entre la mortalidad dependiente de las concentraciones. La prueba de contraste de Tukey a las 24 horas de exposición por el método de fumigación presenta tres grupos (a, b y c) observándose que la

concentración del 327.48  $\mu\text{L/L}$  aire presenta mayor mortalidad del pulgón con un 70% mientras que la concentración del blanco presenta la menor mortalidad con un 0% de pulgones muertos.

**Tabla 11:** Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de ajeno a las 24 horas de exposición por Contacto directo

Concentración	Mortalidad $X \pm S$	F	Significancia
500	20.00 $\pm$ 08.16	3,181	0,022 (P<0.05)
1000	22.50 $\pm$ 09.57		
2000	25.00 $\pm$ 12.91		
4000	30.00 $\pm$ 08.16		
6000	32.50 $\pm$ 15.00		
8000	40.00 $\pm$ 08.16		
BLANCO	12.50 $\pm$ 05.00		

La *Tabla 11* muestra los promedios y desviaciones estándar de la mortalidad de pulgones por efecto del aceite de ajeno. También se muestran los resultados de la prueba de ANOVA, la misma que indica que la mortalidad promedio del aceite presenta diferencias significativas (P<0.05) con un 95% de confianza.



**Figura 37:** Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de ajeno a las 24 horas de bioensayo

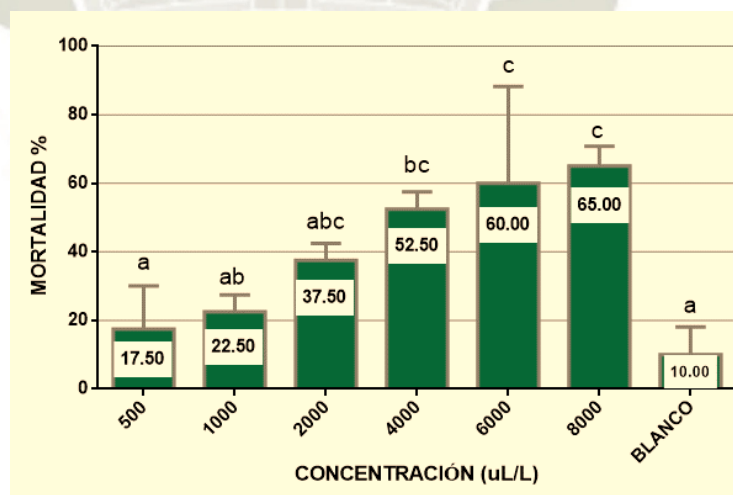
La *Ilustración 37* muestra la comparación entre la mortalidad dependiente de las concentraciones, la prueba de contraste de Tukey a las 24 horas de exposición por el método de **fumigación** presenta dos grupos (a y b) observándose que la

concentración del 8000  $\mu\text{L/L}$  presenta mayor mortalidad del pulgón con un 40% mientras que la concentración del blanco presenta la menor mortalidad con un 12.5% de pulgones muertos.

**Tabla 12:** Comparación del porcentaje de mortalidad de pulgones según concentración de molle a las 24 horas de exposición por Contacto directo

Concentración	Mortalidad $\bar{X} \pm S$	F	Significancia
500	17.50 $\pm$ 12.58	10,937	0,000... (P<0.01)
1000	22.50 $\pm$ 05.00		
2000	37.50 $\pm$ 05.00		
4000	52.50 $\pm$ 05.00		
6000	60.00 $\pm$ 28.28		
8000	65.00 $\pm$ 05.77		
BLANCO	10.00 $\pm$ 08.16		

La *Tabla 12* muestra los promedios y desviaciones estándar de la mortalidad de pulgones por efecto del aceite de molle. También se muestran los resultados de la prueba de ANOVA, la misma que indica que la mortalidad promedio del aceite presenta diferencias altamente significativas (P<0.01) con un 99% de confianza.



**Figura 38:** Prueba de contraste múltiple de Tukey para el porcentaje de mortalidad de molle a las 24 horas de bioensayo

La *Ilustración 38* muestra la comparación entre la mortalidad dependiente de las concentraciones, la prueba de contraste de Tukey a las 24 horas de exposición por el método de **fumigación** presenta tres grupos (a, b y c) observándose que la

concentración del 6000  $\mu\text{L/L}$  y 8000  $\mu\text{L/L}$  presentan mayor mortalidad del pulgón con un 60% y 65% respectivamente mientras que la concentración del blanco presenta la menor mortalidad con un 10% de pulgones muertos.



## CONCLUSIONES

**PRIMERA:** Se lograron extraer los aceites esenciales de ajeno y molle. Con respecto al rendimiento de la extracción se determinó que para el ajeno es de 1 mL/Kg, mientras que para el molle es 0.75 mL/Kg de material seco para ambos casos. Los resultados no tienen similitudes con otras investigaciones, por lo que concluimos que se debe al hecho de que el equipo de arrastre de vapor de la UCSM es diferente a los demás usados (Aparato tipo Clevenger).

**SEGUNDA:** El sistema hidropónico cerrado demostró ser efectivo para la propagación de los pulgones. Se observó que sin la adición de luz solar en el periodo de aclimatación las lechugas no podrían crecer, posteriormente en el tiempo de propagación solo se iluminó con luz LED.

**TERCERA:** La caracterización de los aceites esenciales por GC-MS evidenció que el ajeno poseía óxido de etileno (37.21%), acetato de mirtenilo (25.62%),  $\beta$ -tujona (18.61%),  $\alpha$ -tujona (13.17%), ciclopentano metanol (3.20%) y cedr-8-en-13-ol (2.19%). Los compuestos con actividad biocida reportada son el óxido de etileno,  $\beta$ -tujona y  $\alpha$ -tujona. Mientras que el molle poseía 1-tetradeceno (43.33%), 1-dodecanol (22.84%), undecano (8.72%), 1-deceno (8.36%), D-limoneno (4.53%), dodecano (4.37%),  $\alpha$ -felandreno (4.24%), 3,6-dimetil decano (2.12%) y 2,4-decadienal (1.50%). Los compuestos con actividad biocida reportada son el 1-dodecanol, D-limoneno y  $\alpha$ -felandreno. Todos estos principios activos fueron encontrados en la presente investigación.

**CUARTA:** En cuanto a la dosis letal, estas presentaron resultados diferentes para fumigación y contacto directo:

1. Por fumigación el mejor tratamiento es con ajeno, ya que su DL50 es de 201.83  $\mu$ L/L aire y la DL95 es de 465.43  $\mu$ L/L aire. Mientras que el molle tiene un DL50 de 320.51  $\mu$ L/L aire y DL95 de 1.09 mL/L aire.

2. Por contacto directo el mejor tratamiento es con molle, ya que su DL50 es de 5.14 mL/L y la DL95 es de 44.04 mL/L. Mientras que el ajeno tiene un DL50 de 57.78 mL/L.



## RECOMENDACIONES

- En futuras investigaciones para aumentar el rendimiento de los diferentes aceites esenciales con el tiempo sería provechoso microencapsularlos para que no se vean afectados por factores medio ambientales y aumentar su tiempo de almacenamiento.
- Cabe recalcar que el kilo de ajeno fresco cuesta aproximadamente 45 soles, mientras que el molle es de fácil recolección en cualquier lugar de Arequipa, haciendo que la extracción del aceite de ajeno sea más costosa que del molle. Además, en las pruebas de fumigación la diferencia en la cantidad de aceite necesario no es tan grande comparándola con la prueba de contacto directo. Dicho todo esto la planta más efectiva en toda la tesis es el molle debido a su elaboración menos costosa y efectividad en fumigación y contacto directo.

## REFERENCIAS

1. Anonimo. Plan de Manejo de Plagas. 2009; Available from: <http://documentos.bancomundial.org/curated/es/872511468229479607/pdf/E11110v40P08301IC10LCR1EA1P083051v2.pdf>
2. Li Y, Xu Z, Shi L, Shen G, He L. Insecticide resistance monitoring and metabolic mechanism study of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), in Chongqing, China. *Pestic Biochem Physiol* [Internet]. 2016;132:21–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.008>
3. Deknock A, De Troyer N, Houbraken M, Dominguez-Granda L, Nolivos I, Van Echelpoel W, et al. Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador). *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;646:996–1008. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.185>
4. Sabarwal A, Kumar K, Singh RP. Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2018;63(January):103–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.08.018>
5. Yarpuz-Bozdogan N. The importance of personal protective equipment in pesticide applications in agriculture. *Curr Opin Environ Sci Heal* [Internet]. 2018;4:1–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468584417300600>
6. Judžentienė A. Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) oils. *Essent Oils Food Preserv Flavor Saf*. 2016;849–56.
7. Ajenjo (*Artemisia absinthium*) · Naturalista [Internet]. [cited 2021 Aug 14]. Available from: <https://www.naturalista.mx/taxa/60350-Artemisia-absinthium>
8. (+)-alpha-Thujone | C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O - PubChem [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Thujone#section=Non-Human-Toxicity-Excerpts>
9. (-)-beta-Thujone | C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O - PubChem [Internet]. [cited 2019 Dec 21]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6553876>
10. Höld KM, Sirisoma NS, Ikeda T, Narahashi T, Casida JE.  $\alpha$ -Thujone (the active component of absinthe):  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(8):3826–31.
11. Guala MS, Lapissonde MO, Elder H V., van Baren CM, Bandoni AL, Dellacassa E. Rose Pepper (*Schinus molle* L.) oils [Internet]. *Essential Oils in*

- Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier Inc.; 2016. 689–695 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00078-X>
12. Pirul (*Schinus molle*) [Internet]. [cited 2021 Aug 14]. Available from: <https://www.naturalista.mx/taxa/57354-Schinus-molle>
  13. Limonene | C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> - PubChem [Internet]. [cited 2019 Dec 21]. Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/\\_\\_\\_-Limonene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/___-Limonene)
  14. EU Pesticides database - European Commission [Internet]. [cited 2019 Dec 21]. Available from: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1730>
  15. alpha-Phellandrene | C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> - PubChem [Internet]. [cited 2019 Dec 21]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Phellandrene>
  16. Valdez LM. Molle Beer Production in the Ayacucho Valley, Peru [Internet]. Production and Management of Beverages. Elsevier Inc.; 2019. 289–302 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00009-2>
  17. Footitt RG, Maw HEL. INSECTS AND OTHER ANIMALS | Aphids. *Encycl Rose Sci.* 2003;426–31.
  18. Aphid | insect | Britannica [Internet]. [cited 2020 Sep 22]. Available from: <https://www.britannica.com/animal/aphid>
  19. Devonshire AL. The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 1998;353(1376):1677–84.
  20. Foster SP, Tomiczek M, Thompson R, Denholm I, Poppy G, Kraaijeveld AR, et al. Behavioural side-effects of insecticide resistance in aphids increase their vulnerability to parasitoid attack. *Anim Behav.* 2007;74(3):621–32.
  21. biocida | Definición | Diccionario de la lengua española | RAE - ASALE [Internet]. [cited 2019 Dec 23]. Available from: <https://dle.rae.es/biocida?m=form>
  22. Michalak I, Chojnacka K. Biocides. *Encycl Toxicol Third Ed.* 2014;1:461–3.
  23. Gonzalez-Coloma A, Reina M, Diaz CE, Fraga BM. Natural product-based biopesticides for insect control [Internet]. Vol. 3, Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology. Elsevier Inc.; 2010. 237–268 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.02770-0>
  24. Albouchi F, Ghazouani N, Souissi R, Abderrabba M, Boukhris-bouhachem S. Aphidicidal activities of *Melaleuca stypelioides* Sm . essential oils on three citrus aphids : *Aphis gossypii* Glover ; *Aphis spiraeicola* Patch and *Myzus*

- persicae ( Sulzer ). South African J Bot [Internet]. 2018;117:149–54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.05.005>
25. hidroponía | Definición | Diccionario de la lengua española | RAE - ASALE [Internet]. [cited 2019 Dec 29]. Available from: [https://dle.rae.es/hidroponía?m=30\\_2](https://dle.rae.es/hidroponía?m=30_2)
  26. Lu C, Grundy S. Urban Agriculture and Vertical Farming [Internet]. Vol. 2, Encyclopedia of Sustainable Technologies. Elsevier; 2017. 393–402 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10184-8>
  27. Rana MK. Salad Crops: Leaf-Type Crops [Internet]. 1st ed. Encyclopedia of Food and Health. Elsevier Ltd.; 2015. 673–678 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00603-6>
  28. Saavedra del R G. Manual de Produccion de Lechuga. INIA La Platina [Internet]. 2017;9. Available from: <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/ManualesdeProduccion/09 Manual Lechuga.pdf>
  29. Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas | IRAC [Internet]. [cited 2021 Jul 9]. Available from: <https://irac-online.org/>
  30. Dalguerre V. Evaluación de formulados naturales a base de ajeno (Artemisia absinthium), para el control de pulgón verde (Macrosiphum sp.) en lechuga (Lactuca sativa). 2015; Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/6833/A5.0781.MG.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  31. Abbott WS. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. J Econ Entomol [Internet]. 1925;18(2):265–7. Available from: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
  32. Finney DJ. Probit Analysis: A Statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve. 3rd ed Cambridge University Press Cambridge UK [Internet]. 1952; Available from: <https://dspace.gipe.ac.in/xmlui/bitstream/handle/10973/36028/GIPE-025784.pdf?sequence=3>
  33. Janaki S, Zandi-Sohani N, Ramezani L, Szumny A. Chemical composition and insecticidal efficacy of Cyperus rotundus essential oil against three stored product pests. Int Biodeterior Biodegrad. 2018;133(February):93–8.
  34. Manual para Elaboracion de Protocolos para Ensayos de Eficacia por PQA. Cámara Procultivos ANDI [Internet]. 2015; Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/regulacion-y-control-de-plaguicidas-quimicos/manual-protocolos-ensayos-eficacia-pqua-1.aspx>
  35. Arango O, BOLAÑOS F, VILLOTA O, HURTADO A, TORO I. Optimization of Yield and Thymol Content of Wild Oregano Essential Oil Obtained By Steam Distillation Process. Biotecnol en el Sect Agropecu y Agroindustrial [Internet].

- 2012;10(2):217–26. Available from:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612012000200025&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612012000200025&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
36. Leal -Torres E, López-Malo -Vigil A, Sosa -Morales ME. Extracción, composición y caracterización de los aceites esenciales de hoja y semilla de cilantro (*Coriandrum sativum*). *Temas Sel Ing Aliment* [Internet]. 2013;7(1):97–103. Available from:  
<http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Leal-Torres-et-al-2013.pdf>
  37. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*. 2008;69(8):1732–8.
  38. Burzo I, Ciocârlan V, Delian E, Dobrescu A. Researches regarding the essential oil composition of some *Artemisia* l. Species. *Biol Veg*. 2008;86–91.
  39. Nibret E, Wink M. Volatile components of four Ethiopian *Artemisia* species extracts and their in vitro antitrypanosomal and cytotoxic activities. *Phytomedicine* [Internet]. 2010;17(5):369–74. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.016>
  40. Ethylene oxide | C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O - PubChem [Internet]. [cited 2021 Jul 9]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6354#section=Safety-and-Hazards>
  41. Nikhat S, Ahmad S, Akhtar J, Jamil S. Phytochemical and ethnopharmacological perspective of Afsantin ( *Artemisia absinthium* Linn .). *Ann Phytomedicine An Int J*. 2013;2(2):105–9.
  42. Bailen M, Julio LF, Diaz CE, Sanz J, Martínez-Díaz RA, Cabrera R, et al. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2013;49:102–7. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.055>
  43. Martins MDR, Arantes S, Candeias F, Tinoco MT, Cruz-Morais J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2014;151(1):485–92. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.063>
  44. Belhamel K, Abderrahim A, Ludwig R. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Algeria. *Int J Essent Oil Ther*. 2008;2(4):175–7.
  45. Murray AP, Frontera MA, Tomas MA, Mulet MC. Gas chromatography-mass spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg., *Schinus fasciculata* (Griseb.) I. M. Johnst., and *Schinus areira* L. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci*. 2005;60(1–2):25–9.

46. Benelli G, Pavela R. Beyond mosquitoes—Essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. *Ind Crops Prod.* 2018;117(February):382–92.
47. Hosni K, Jemli M, Dziri S, M'rabet Y, Ennigrou A, Sghaier A, et al. Changes in phytochemical, antimicrobial and free radical scavenging activities of the Peruvian pepper tree (*Schinus molle* L.) as influenced by fruit maturation. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2011;34(3):1622–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.004>



## ANEXOS

### Anexo I: Clasificación taxonómica de *Artemisia absinthium* (Ajenjo)



**INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)**  
 Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos  
 Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPPFS



"Año de la Universalización de la Salud"

### CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS N° 001-2020

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

**HACE CONSTAR:**

Que la muestra presentada por el Sr. **Luis Felipe Chambilla Miranda** proveniente del distrito de José Luis Bustamante y Ribero, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa, adquirida para la realización de la Tesis titulada: "EVALUACION DE LOS ACEITES ESENCIALES DE AJENJO (*Artemisia absinthium*) Y MOLLE (*Schinus molle*) PARA DETERMINAR EL PERFIL BIOCIDA IN VITRO FRENTE AL PULGON DE LA PATATA (*Macrosiphum euphorbiae*) (Hemiptera: Aphididae)" en la Universidad Católica de Santa María, fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon, "Herbario Sur Peruano" (HSP), y corresponden a:

**Clase:** Equisetopsida C. Agardh  
**Subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.  
**Orden:** Asterales Link  
**Familia:** Asteraceae Bercht. & J. Presl  
**Género:** *Artemisia* L.  
**Especie:** *Artemisia absinthium* L.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV" (2016).

Se expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 14 de enero del 2020



  
**Dr. Bgo. Víctor Quipuscoa Silvestre**  
 C. B. P. N° 2484  
 Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)  
 Herbario Sur Peruano (HSP)  
 vqupuscoa@hotmail.com  
 vqupuscoa@imod.org.pe



---

Dirección: Av. Jorge Chávez No. 610 Cercado, Arequipa - Perú  
 Página web: <http://www.imod.org.pe/>  
 Correo: [imod.per@gmail.com](mailto:imod.per@gmail.com)

**Anexo II: Clasificación taxonómica de *Schinus molle* (Molle)**



**INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)**  
 Investigación, Conservación, Educación, y Transformación de Recursos  
 Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



"Año del Diálogo y de la Reconciliación Nacional"

**CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS  
N° 014-2018**

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

**HACE CONSTAR:**

Que las muestras presentadas por el Sr. **Luis Felipe Chambilla Miranda**, provenientes del distrito de José Luis Bustamante y Rivero, provincia y departamento de Arequipa; para la realización de la tesis titulada: "**Evaluación de los aceites esenciales de ajo (*Allium sativum*) y molle (*Schinus molle*) para determinar su perfil Biocida frente al pulgón (*Aphinidae*)**", para la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo en la Universidad Católica de Santa María; fueron determinadas taxonómicamente en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon "Herbario Sur Peruano" (HSP) y corresponden a:

**Clase:** Equisetopsida C. Agardh  
**Subclase:** Magnoliidae Nývák ex Takht.  
**Orden:** Asparagales Link  
**Familia:** Amaryllaceae J. St.-Hil.  
**Género:** *Allium* L.  
**Especie:** *Allium sativum* L.

**Orden:** Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl.  
**Familia:** Anacardiaceae R. Br.  
**Género:** *Schinus* L.  
**Especie:** *Schinus molle* L.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por el grupo: Angiosperm Phylogeny Group en "An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APG IV" (2016).

Se expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 13 de noviembre del 2018



Mr. Víctor Quipuscoa Silvestre  
 C. B. P. N° 2484  
 Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)  
 Herbario Sur Peruano (HSP)  
 vquipuscoas@hotmail.com  
 vquipuscoa@imod.org.pe

---

Dirección: Av. Jorge Chávez No. 610 Cercado, Arequipa - Perú  
 Página web: <http://www.imod.org.pe/>  
 Correo: imod.per@gmail.com

**Anexo III: Determinación taxonómica de *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae)**

Javier Huanca Maldonado, Mg. Sc.  
Biólogo-Entomólogo  
Cel: (51-1) 99501-4608/94546-9944  
Email: jhm\_be@yahoo.com

**INFORME TECNICO**

**IDENTIFICACION DE INSECTOS**

**EMPRESA SOLICITANTE:**

RAZON SOCIAL	UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
NRO DE RUC	20141637941
DIRECCION	Urb. San Jose S/N Umacollo. Arequipa
CONTACTO	José Mauricio Conde Sánchez

**1.- MUESTRA:**

20 Pulgones colectados en lechuga (*Lactuca sativa*), hembras aladas y ápteras.

**3.- METODOLOGIA**

Se realizó el micropreparado de láminas en Bálsamo de canada con ayuda de un microscopio estereoscopio con aumento de 40X, luego las láminas fueron secadas en placas calientes a 40 °C por 15 días, para luego ser estudiados con ayuda de un microscopio con óptica para contraste de fase con 400X aumentos.

**4.- RESULTADOS**

Identidad de la plaga.

*Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae)

  
Javier Huanca Maldonado  
CBP 3428  
ENTOMOLOGO



*Anexo IV: Cálculos para las dosis por fumigación*

1) Determinación del volumen por placa Petri

- Diámetro promedio por placa: 9 cm
- Altura promedio por placa: 1.2 cm

$$\text{Volumen (cm}^3\text{)} = \pi \times \left(\frac{\text{Diámetro}}{2}\right)^2 \times \text{Altura}$$

$$\text{Volumen (cm}^3\text{)} = \pi \times \left(\frac{9}{2}\right)^2 \times 1.2$$

$$\text{Volumen (cm}^3\text{)} = 76.34 \text{ cm}^3 = 0.0763 \text{ L}$$

2) Determinación del área por papel filtro

- Lado promedio por papel: 2 cm

$$\text{Area (cm}^2\text{)} = (\text{Lado})^2 = 4 \text{ cm}^2$$

3) Cálculo de las dosis ( $\mu\text{L/L}$  aire)

- Volumen de placa Petri: 0.0763 L aire
- Dosis de aceite a utilizar: 5, 10, 15, 20 y 25  $\mu\text{L}$

$$\text{Dosis 1 (}\mu\text{L/L aire)} = \frac{5 \mu\text{L}}{0.0763 \text{ L aire}} = 65.50 \mu\text{L/L aire}$$

$$\text{Dosis 2 (}\mu\text{L/L aire)} = \frac{10 \mu\text{L}}{0.0763 \text{ L aire}} = 130.99 \mu\text{L/L aire}$$

$$\text{Dosis 3 (}\mu\text{L/L aire)} = \frac{15 \mu\text{L}}{0.0763 \text{ L aire}} = 196.49 \mu\text{L/L aire}$$

$$\text{Dosis 4 (}\mu\text{L/L aire)} = \frac{20 \mu\text{L}}{0.0763 \text{ L aire}} = 261.98 \mu\text{L/L aire}$$

$$\text{Dosis 5 (}\mu\text{L/L aire)} = \frac{25 \mu\text{L}}{0.0763 \text{ L aire}} = 327.48 \mu\text{L/L aire}$$

*Anexo V: Cálculos para las dosis por contacto directo*

1) Determinación del área por papel filtro

- Diámetro promedio por papel filtro: 9 cm

$$Area (cm^2) = \pi \times \left(\frac{Diametro}{2}\right)^2 = \pi \times \left(\frac{9}{2}\right)^2 = 63.62 cm^2$$

2) Calculo de la dosis ( $\mu L/L$ )

- Dosis de aceite a utilizar: 5, 10, 20, 40, 60 y 80  $\mu L$  aceite por cada 10 mL solución

$$Dosis 1 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{5 \mu L}{10 mL} = 0.5 \mu L/mL = 500 \mu L/L$$

$$Dosis 2 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{10 \mu L}{10 mL} = 1 \mu L/mL = 1000 \mu L/L$$

$$Dosis 3 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{20 \mu L}{10 mL} = 2 \mu L/mL = 2000 \mu L/L$$

$$Dosis 4 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{40 \mu L}{10 mL} = 4 \mu L/mL = 4000 \mu L/L$$

$$Dosis 5 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{60 \mu L}{10 mL} = 6 \mu L/mL = 6000 \mu L/L$$

$$Dosis 6 \left(\frac{\mu L}{L \text{ aire}}\right) = \frac{80 \mu L}{10 mL} = 8 \mu L/mL = 8000 \mu L/L$$

3) Cálculo de las dosis ( $\mu L/cm^2$ )

- Área del papel filtro: 63.61  $cm^2$
- Dosis de aceite a utilizar: 5, 10, 20, 40, 60 y 80  $\mu L$  aceite

$$Dosis 1 \left(\frac{\mu L}{cm^2}\right) = \frac{5 \mu L}{63.61 cm^2} = 0.0786 \mu L/cm^2$$

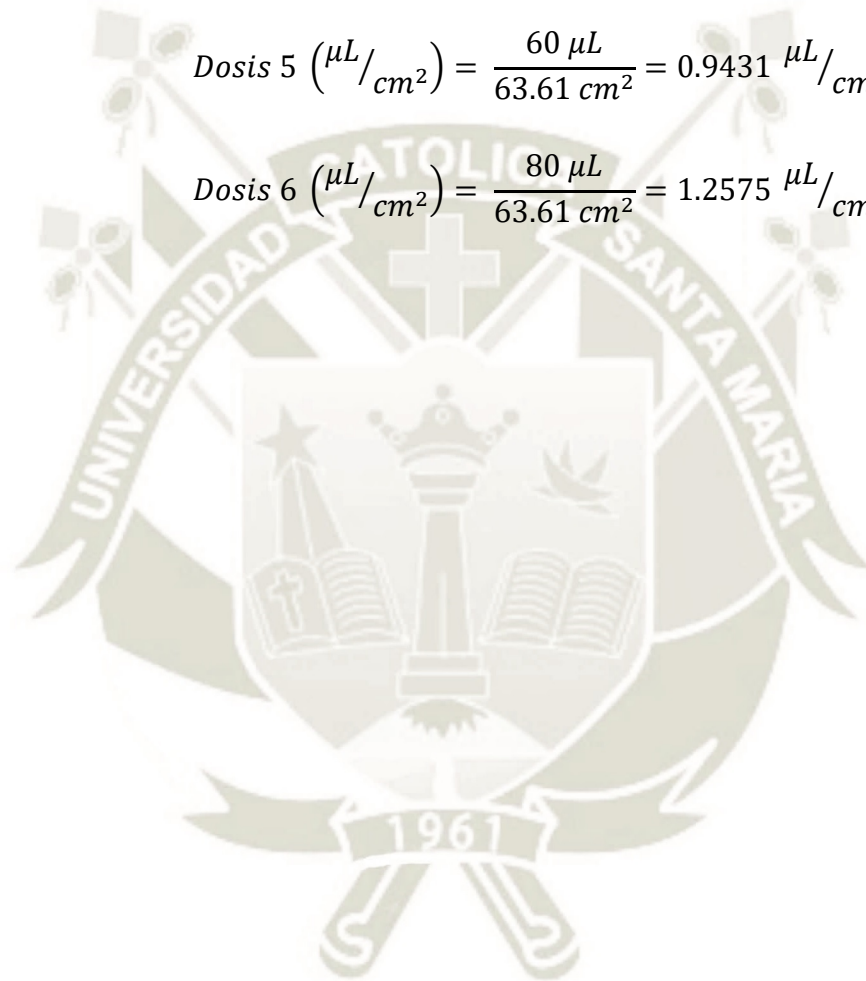
$$\text{Dosis 2 } (\mu\text{L}/\text{cm}^2) = \frac{10 \mu\text{L}}{63.61 \text{ cm}^2} = 0.1572 \mu\text{L}/\text{cm}^2$$

$$\text{Dosis 3 } (\mu\text{L}/\text{cm}^2) = \frac{20 \mu\text{L}}{63.61 \text{ cm}^2} = 0.3144 \mu\text{L}/\text{cm}^2$$


$$\text{Dosis 4 } (\mu\text{L}/\text{cm}^2) = \frac{40 \mu\text{L}}{63.61 \text{ cm}^2} = 0.6288 \mu\text{L}/\text{cm}^2$$

$$\text{Dosis 5 } (\mu\text{L}/\text{cm}^2) = \frac{60 \mu\text{L}}{63.61 \text{ cm}^2} = 0.9431 \mu\text{L}/\text{cm}^2$$



$$\text{Dosis 6 } (\mu\text{L}/\text{cm}^2) = \frac{80 \mu\text{L}}{63.61 \text{ cm}^2} = 1.2575 \mu\text{L}/\text{cm}^2$$



*Anexo VI: Análisis del aceite esencial de Artemisia absinthium y Schinus molle*



**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**  
 Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
 ✉ laboratoriodensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apido. 1350  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA21H19.004209A**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

Nombre del cliente : Universidad Católica de Santa María  
 Dirección del cliente : Urb San José S/N Umacollo  
 RUC : No corresponde  
 Identificación del contacto : Universidad Católica de Santa María  
 Descripción de la muestra : Aceite esencial ajeno steam

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

Condición del muestreo : Por el cliente  
 Tamaño de muestra : 1 mL  
 Fecha de recepción : 21/08/2019  
 Fecha de ejecución de ensayo : 21/08/2019 al 22/08/2019  
 Fecha de emisión de informe : 06/09/2019  
 Página : 1 de 1

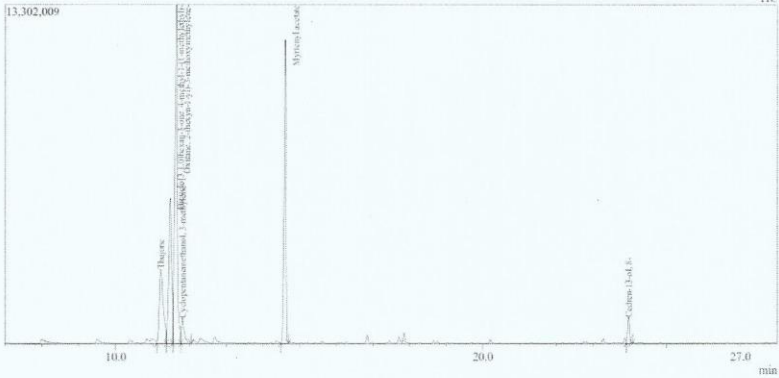
---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS Cromatografía Gaseosa con Detección de Masas, Método de Cuantificación, por Normalización Interna (Área)		
Thujone	%	13,17
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-o	%	18,61
Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)	%	37,21
Cyclopentanemethanol,	%	3,20
Myrtenyl acetate	%	25,62
Cedren-13-ol, 8-	%	2,19


  

Chromatogram ajeno steam C:\GCMSolution\Data\Project1\muestras control\aceite ajeno steam.qgd




**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad



Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 CQFDA 00824  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC





UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS  
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350  
AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO N° ANA21H19.004209D

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Urb San José S/N Umacollo  
**RUC** : No corresponde  
**Identificación del contacto** : Universidad Católica de Santa María  
**Descripción de la muestra** : Aceite esencial molle steam

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 1 mL  
**Fecha de recepción** : 21/08/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 21/08/2019 al 22/08/2019  
**Fecha de emisión de informe** : 06/09/2019  
**Página** : 1 de 2

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS Cromatografía Gaseosa con Detección de Masas, Método de Cuantificación, por Normalización Interna (Área)		
1-Decene	%	8,36
.alpha.-Phellandrene	%	4,24
D-Limonene	%	4,53
Decane, 3,6-dimethyl-	%	2,12
Undecane	%	8,72
1-Dodecanol	%	22,84
Dodecane	%	4,37
2,4-Decadienal, (E,E)-	%	1,50
1-Tetradecene	%	43,33





**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350  
AREQUIPA - PERÚ



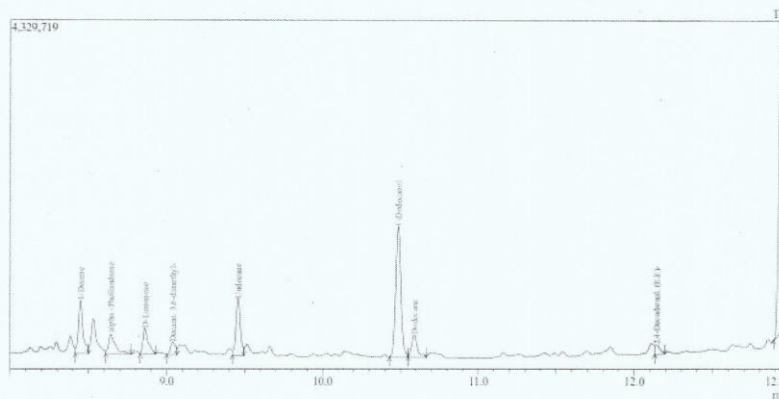
**INFORME DE ENSAYO N° ANA21H19.004209D**

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Urb San José S/N Umacollo  
**RUC** : No corresponde  
**Identificación del contacto** : Universidad Católica de Santa María  
**Descripción de la muestra** : Aceite esencial molle steam

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 1 mL  
**Fecha de recepción** : 21/08/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 21/08/2019 al 22/08/2019  
**Fecha de emisión de informe** : 06/09/2019  
**Página** : 2 de 2



**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez,  
COFDA 00824  
ESPECIALISTA EN CONTROL DE  
CALIDAD LECC

