

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“Efecto tóxico del extracto acuoso, etanólico y hexánico
de *Minthostachys mollis*, *Annona muricata*, *Lupinus
mutabilis* y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus
urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) y *Chrysoperla
externa* (Neuroptera: Chrysopidae)”**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Alfonzo Alegre Navarro

Lima, Perú

2016

DEDICATORIA

“Las raíces de los verdaderos logros residen en la voluntad de convertirse en lo mejor que puedas llegar a ser”.

Harold Taylor

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi director de tesis, el Dr. José Iannacone Oliver, por su asesoramiento en la realización de esta investigación, a la Blga. Norma Nolazco, especialista en Entomología del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio de Sanidad Agraria (Senasa), por su gentil apoyo en la identificación del ácaro. A la Mag. María Isabel La Torre Acuy, por la identificación y certificación de las especies botánicas. Al Dr. Mario Carhuapoma, por la corroboración en la identificación de los principales metabolitos secundarios presentes en los extractos botánicos. A la Bach. Solange Lee por el constante apoyo desde el inicio hasta la culminación de la tesis. Finalmente, agradecer a mi mamá Martha, mi papá Ronmel y mi hermano Fernando por la confianza depositada en mi carrera profesional.

RESUMEN

Los campos de cultivo agrícola se ven afectados en la producción por diversos factores, entre los cuales se encuentra el ataque de plagas de insectos, siendo una medida para su control y exterminio el uso de insecticidas sintéticos, sin embargo, la mayoría genera una alta contaminación ambiental. Debido a esto, los bioinsecticidas de origen vegetal surgieron como una alternativa menos contaminante por su rápida degradación en el ambiente y baja peligrosidad para el hombre. El presente trabajo evaluó la toxicidad de los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de las hojas de *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) “muña” y semillas de *Annona muricata* (Annonaceae) “guanábana”, *Lupinus mutabilis* (Fabaceae) “tarwi” y *Chenopodium quinoa* (Chenopodiaceae) “quinua” sobre hembras adultas del ácaro *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) “arañita roja” y larvas del primer instar de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) “león de áfidos”. Se emplearon dos concentraciones para todos los extractos: 10% y 20% (p/v), en un periodo de exposición entre las 24 y 72h. Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba post hoc de Duncan con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$. Los parámetros de toxicidad se observaron en los valores NOEC (Concentración sin efecto observado) y LOEC (Concentración más baja con efecto observado). Se realizó el screening fitoquímico de los extractos botánicos empleados en los bioensayos. El extracto acuoso de *M. mollis* y el extracto etanólico de *C. quinoa*, ambos al 20% de concentración, causaron mortalidades en *T. urticae* del 28,98% y 29,63%, respectivamente. Los extractos hexánicos de *A. muricata* y *M. mollis* no presentaron actividad acaricida. El extracto etanólico de *M. mollis* registró la mayor toxicidad de todos los extractos evaluados a las 72h de exposición en *C. externa*, con una mortalidad del 75,76%. El extracto hexánico de *A. muricata* no produjo mortalidad en este insecto a las 24, 48 y 72h de exposición. La diferenciación en toxicidad (mayor a menor) de los extractos vegetales para *C. externa* fue: etanólico > acuoso > hexánico. Según el CR (cociente de riesgo) obtenido a las 48h de

exposición, los extractos acuosos no representaron un riesgo en la mortalidad de *C. externa*. La secuencia de mayor a menor toxicidad del CR de los extractos acuosos fue: *L. mutabilis* > *A. muricata* > *C. quinoa* > *M. mollis*.

Palabras clave: Arañita roja, bioensayos, bioinsecticidas, extractos botánicos, león de áfidos, toxicidad.

ABSTRACT

Agricultural crops have been affected by several factors among which are plague of insects attack, being an effective measure for its control and extermination: synthetic insecticides use, however the majority of them produce high levels of environmental pollution. Due to this, bioinsecticides of plant origin emerging as alternative less polluting because of rapid degradation in the environment and low danger to man. This work analyzes the toxicity of hexanic, ethanolic and aqueous extracts of leaves of *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) “muña” and seeds of *Annona muricata* “guanábana” (Annonaceae), *Lupinus mutabilis* “tarwi” (Fabaceae) and *Chenopodium quinoa* “quinua” (Chenopodiaceae) on adult female mite of *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae): "red spider mite" and the first instar stage larva of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): "lacewings". Two concentrations were used for all extract: 10% and 20% (w/v) in an exposure period between 24 and 72h. Analysis of variance (ANOVA) and post-hoc test of Duncan were performed with a significant level $p \leq 0.05$. Toxicity endpoints were observed with values in NOEC (No Observed Effect Concentration) and LOEC (Lowest Observed Effect Concentration). Phytochemical screening of botanical extracts used in bioassays was performed. Aqueous extract of *M. mollis* and ethanolic extract of *C. quinoa* both at concentration of 20% causing losses in *T. urticae* of 28,98% and 29,63% respectively. Hexanic extracts of *A. muricata* and *M. mollis* did not show acaricide activity. Ethanolic extract of *M. mollis* registered the greater toxicity of all evaluated extracts at 72 hours in exposure of *C. externa* with mortality 75,76%. Hexanic extract of *A. muricata* had no significant effect on mortality in this insect at 24, 48 and 72 hours of exposure. Differentiation in toxicity (to a greater up lesser) of vegetal extracts for *C. externa* was: ethanol > aqueous > hexane. According to obtained quotient risk (CR) at 48 hours of exposure, aqueous extracts did not represent an increased risk of mortality of *C. externa*.

The descending sequence of toxicity of CR of aqueous extracts was: *L. mutabilis* > *A. muricata* > *C. quinoa* > *M. mollis*.

Key words: Lacewings, bioassays, bioinsecticides, botanical extracts, red spider mite, toxicity.

ÍNDICE

ÍNDICE	8
ÍNDICE DE FIGURAS	10
I. INTRODUCCIÓN	12
II. ANTECEDENTES	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	25
3.1.1. Obtención del material vegetal.....	25
3.1.2. Obtención del depredador.....	25
3.1.3. Obtención de la plaga.....	26
3.2. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES	27
3.3. BIOENSAYO EN PLAGA Y DEPREDADOR.....	29
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS.....	30
IV. RESULTADOS	32
V. DISCUSIÓN	47
VI. CONCLUSIONES.....	55
VII. RECOMENDACIONES	56
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
XI. ANEXOS.....	69
Anexo A: Material vegetal utilizado.....	69
Anexo B: Certificación de las especies botánicas.....	71
Anexo C: Hembras adultas de <i>Tetranychus urticae</i> “arañita roja”.....	75
Anexo D: Constancia de identificación y depósito de <i>T. urticae</i> y <i>Chrysoperla externa</i>	76
Anexo E: Ejemplar macho de <i>T. urticae</i>	77
Anexo F: Diagrama de flujo del protocolo experimental de extracción.....	78
Anexo G: Resultados del screening fitoquímico.....	79

Anexo H: Mortalidad en <i>T. urticae</i> y <i>C. externa</i>	80
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Tabla 1 Toxicidad del extracto acuoso de cuatro plantas sobre <i>Tetranychus urticae</i> (Trombidiformes: Tetranychidae)	34
Tabla 2 Toxicidad del extracto etanólico de cuatro plantas sobre <i>Tetranychus urticae</i> (Trombidiformes: Tetranychidae)	35
Tabla 3 Toxicidad del extracto hexánico de dos plantas sobre <i>Tetranychus urticae</i> (Trombidiformes: Tetranychidae)	36
Tabla 4 Toxicidad del extracto acuoso de cuatro plantas sobre <i>Chrysoperla externa</i> (Neuroptera: Chrysopidae)	38
Tabla 5 Toxicidad del extracto etanólico de cuatro plantas sobre <i>Chrysoperla externa</i> (Neuroptera: Chrysopidae)	39
Tabla 6 Toxicidad del extracto hexánico de dos plantas sobre <i>Chrysoperla externa</i> (Neuroptera: Chrysopidae)	40
Tabla 7 Cociente de riesgo (CR) estimado <i>T. urticae</i> / <i>C. externa</i> en mortalidades (%) obtenidas con el extracto acuoso a las 48h de exposición	42
Tabla 8 Cociente de riesgo (CR) estimado <i>T. urticae</i> / <i>C. externa</i> en mortalidades (%) obtenidas con el extracto etanólico a las 48h de exposición	43
Tabla 9 Cociente de riesgo (CR) estimado de plaga (<i>T. urticae</i>)/depredador (<i>C. externa</i>) en mortalidades (%) obtenidas con el extracto hexánico a las 48h de exposición	44
Tabla 10 Dos criterios de elección para emplear los extractos botánicos en un posible Manejo Integrado de Plagas de <i>T. urticae</i>	45
Tabla 11 Identificación de los principales metabolitos secundarios evidenciados mediante el screening fitoquímico en los cuatro extractos botánicos	46
Figura 1A. Planta de <i>Minthostachys mollis</i> .	69
Figura 2A. Semillas de <i>Annona muricata</i> .	69
Figura 3A. Semillas de <i>Chenopodium quinoa</i> variedad Blanca de Junín.	70
Figura 4A. Semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> .	70
Figura 5A. Hembra adulta de <i>T. urticae</i> observada en el microscopio	75
Figura 6A. Hembras adultas de <i>T. urticae</i> en el envés de una hoja	75

<i>Figura 7A. Vista lateral de cuerpo entero del macho adulto de T. urticae.</i>	77
<i>Figura 9A. Diagrama de flujo del protocolo experimental de las diferentes extracciones.</i>	78
<i>Figura 10A. Mortalidad de hembras adultas de T. urticae en los bioensayos</i>	80
<i>Figura 11A. Mortalidad de las larvas del primer instar de C. externa en los bioensayos.</i>	80

I. INTRODUCCIÓN

Los insecticidas sintéticos son compuestos químicos empleados como una alternativa para eliminar y controlar la población de insectos que afectan la producción de los campos de cultivo de interés agronómico. Si bien el uso de estos insecticidas ha demostrado un manejo eficaz en diversos insectos plaga, su uso inadecuado e indiscriminado conlleva a graves problemas de contaminación ambiental, además de generar resistencia en insectos plaga y ser perjudiciales en los enemigos naturales. Ante esta problemática, surgieron los bioplaguicidas, los cuales son productos que están constituidos en función de un microorganismo o un producto natural vegetal, y que son aprovechados por sus propiedades insecticidas, siendo una alternativa más amigable con el ambiente. Dentro del grupo de bioplaguicidas, los bioinsecticidas de origen vegetal ofrecen diversas ventajas: menor resistencia en plagas, menor riesgo de toxicidad en los enemigos naturales y son biodegradables en un corto periodo de tiempo. La acción de estos bioinsecticidas se basa fundamentalmente en sus principios activos o metabolitos secundarios, los cuales pueden agruparse principalmente en cuatro clases: terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides.

El manejo integrado de plagas (MIP) es una combinación de diversos métodos de control: químico, biológico, mecánico, cultural, etológico, genético y legal para mantener por debajo del nivel de daño económico (NDE) la población de plagas existente en el campo. El control biológico emplea principalmente a los depredadores, patógenos, parasitoides y antagonistas, mientras que en un control químico se opta por utilizar insecticidas de menor impacto ambiental, por lo que los bioinsecticidas de origen vegetal son usados también en este tipo de control.

La plaga *Tetranychus urticae* (Koch, 1836), conocida vulgarmente como “arañita roja”, es un ácaro polífago y cosmopolita que ataca a un gran número de cultivos de interés económico. *T. urticae* ocasiona daños como el manchado y caída de hojas, por consiguiente, disminuye la actividad fotosintética de la planta. La reproducción de este ácaro es sexual, aunque también se da por partenogénesis de tipo arrenotoca. Este ácaro pasa por cinco estados de desarrollo: huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto, con una etapa de inactividad conocida como quiescencia.

El depredador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), conocido vulgarmente como “león de áfidos”, es un neuróptero de la familia Chrysopidae y es considerado un importante agente biológico en un MIP. *C. externa* presenta cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto. Las larvas son de tipo campodeiforme y son depredadoras de muchos insectos u otros artrópodos que afectan a diversos cultivos.

Minthostachys mollis Griseb (Lamiaceae) “muña”, es una planta arbustiva natural de la serranía peruana y es usada preferentemente por sus propiedades carminativas. La actividad biológica es evidenciada principalmente por sus aceites esenciales.

Annona muricata L. (Annonaceae) “guanábana”, es un árbol frutal originario de las zonas tropicales de América, y cuyos frutos son bayas con numerosas semillas de color negro. Este árbol es usado por sus propiedades medicinales y pesticidas, siendo las acetogeninas el grupo de compuestos químicos más importantes.

Lupinus mutabilis Sweet (Fabaceae) “tarwi”, es una leguminosa, de producción anual y natural de las zonas andinas del Perú. Las semillas poseen un alto contenido proteico. El sabor amargo que presentan las semillas se debe a la presencia de alcaloides.

Chenopodium quinoa Willd (Amaranthaceae) “quinua”, es una planta herbácea anual, natural de las zonas altoandinas de Sudamérica. Los granos contienen aminoácidos esenciales para la alimentación del hombre, además tienen un sabor amargo debido a la presencia de saponinas.

La finalidad del presente trabajo es determinar la toxicidad de estos extractos vegetales en ambos artrópodos, para un posible uso en un MIP. Es por esta razón que el objetivo principal de este trabajo es evaluar el efecto tóxico del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Minthostachys mollis*, *Annona muricata*, *Lupinus mutabilis* y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) y *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae).

II. ANTECEDENTES

Hatzold *et al.* (1983) analizaron la composición de los alcaloides quinolizidínicos presentes en semillas de *L. mutabilis*. Mencionaron la presencia de esparteína, lupinina, α -isolupinina, 4-hidroxilupinina, 13-hidroxilupanina, tetrahidrorhombifolina, angustifolina, multiflorina, entre otros.

Muñoz *et al.* (1993) caracterizaron los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales de *Minthostachys andina* (Lamiaceae) provenientes de siete subregiones del centro de Bolivia. Encontraron que el compuesto de mayor presencia fue el monoterpeno pulegona, seguido de la mentona, isomentona, biciclogermacreno, entre otros.

Muzquiz *et al.* (1994) identificaron alcaloides presentes en 49 genotipos de semillas de *Lupinus albus* L. provenientes de diferentes países. Descubrieron que el alcaloide de mayor presencia en las semillas de esta planta fue la lupinina.

Figuroa *et al.* (1995) extrajeron el aceite esencial de *M. mollis* por arrastre de vapor y fueron aplicados en larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Hasselquist, 1762), y huevos y larvas del IV estadio de *Triatoma infestans* Klug, 1834. Además, identificaron diez componentes principales del aceite esencial como carvacrol (22,7%), R(-) carvona (16,38%) y limoneno (17,39%). Concluyeron que *M. mollis* presenta actividad insecticida contra huevos y larvas de *T. infestans* y más del 80% de mortalidad en larvas de *A. aegypti*.

Wink *et al.* (1995) reportaron la distribución de diversos alcaloides (quinolizidinas, piperidinas, dipiperidinas e indoles simples) en hojas y semillas de 56 especies del género *Lupinus* por GLC capilar y GLC- espectrometría de masas.

Alali *et al.* (1998) aislaron seis clases de acetogeninas (gigantetrocina A, annomontacina, asimicina, parviflorina, silvaticina y bullatalicina) de la familia Annonaceae y los

compararon con cinco insecticidas convencionales (hydramethylnon, propoxur, bendiocarb, clorpirifos y cipermetrina) para determinar sus efectos tóxicos por ingestión en la dieta del II y V estadio ninfal de *Blatella germanica* Linnaeus, 1767. Sus resultados mostraron que la asimicina y parviflorina obtuvieron la mayor actividad tóxica de todas las acetogeninas. La mayoría de acetogeninas evaluadas evidenciaron mejores resultados que los insecticidas convencionales.

Núñez (1998) estudió el ciclo biológico y la crianza de dos neurópteros: *C. externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Schneider, 1851) en condiciones de laboratorio.

Ruitón & Chipana (2001) realizaron un análisis comparativo de la calidad del aceite esencial de *M. mollis* de tres regiones peruanas. Entre los compuestos presentes en mayor proporción, se encontró para el aceite esencial procedente de Tarma (Junín): 1-tetradeceno (23,14%), 2S-trans-mentona (23,00%) y pulegona (13,21%); procedente de Huaraz (Ancash): 2S-trans-mentona (41,48%), pulegona (16,02%) y γ -terpineno (7,55%) y procedente de Pampas (Huancavelica): 2S-trans-mentona (34,51%), pulegona (28,62%) y α -farnesano (4,28%).

Bobadilla *et al.* (2002) evaluaron el efecto insecticida del extracto etanólico de semillas de *Annona muricata* L. y *Annona cherimolia* Mill. en larvas del IV estadio de *Anopheles* sp. La mortalidad del 100% se dio con las concentraciones de 0,8 y 0,12 mL \cdot 100mL⁻¹ de *A. cherimolia* y *A. muricata*, respectivamente.

Iannacone & Lamas (2002) determinaron el efecto insecticida de la rotenona, la azadiractina y un plaguicida carbámico sobre larvas del primer instar de *C. externa*. Observaron que las concentraciones de 40mg i.a \cdot L⁻¹ de azadiractina y 100mg i.a \cdot L⁻¹ de rotenona provocaron mortalidades por contacto residual del 50 y 20% respectivamente, mientras que el plaguicida carbámico produjo el 80% de mortalidad con 1,25mg i.a \cdot L⁻¹ de concentración.

Iannacone & Lamas (2003a) hicieron una revisión de la literatura publicada hasta el año 2001 sobre plantas con propiedades biocidas para el control del lepidóptero *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873). Las familias con mayor número de especies biocidas son: Asteraceae, Fabaceae y Lamiaceae. Dentro de estas familias, se reportó que *M. mollis* y *L. mutabilis* presentaron efecto repelente e insecticida contra este insecto mediante infusión y macerado de estas especies botánicas.

Iannacone & Lamas (2003b) utilizaron los extractos acuosos, hexánicos y acetónicos de *Schinus molle* L. y *Lantana camara* (Linnaeus, 1753) sobre larvas del primer estadio de *C. externa* por contacto residual. Concluyeron que los extractos acuosos y hexánicos de *S. molle* y *L. camara* no produjeron mortalidades significativamente diferentes al control en *C. externa*, sin embargo, los extractos acetónicos de ambas plantas presentaron actividad insecticida.

Aslan *et al.* (2004) comprobaron la toxicidad de los aceites esenciales de tres especies de la familia Lamiaceae: *Satureja hortensis* L., *Ocimum basilicum* L. y *Thymus vulgaris* L. sobre ninfas y adultos de *T. urticae* y adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889). Concluyeron que el aceite esencial de *S. hortensis* fue el más eficaz de las tres plantas causando la mayor mortalidad con 12,5µl del aceite esencial a las 96h de exposición en ambas plagas.

Calle *et al.* (2004) extrajeron las fracciones terpénica, fenólica y ácida del aceite esencial de *M. mollis*. Hallaron la presencia de compuestos en la fracción terpénica como: pulegona (30,3%), mentona (29,2%), cariofileno (5,0%), mientras que en la fracción fenólica encontraron: timol (6,2%), carvacrol (3,5%), diosfenol (3,5%) e isoeugenol (0,9%). Finalmente, demostraron la alta actividad insecticida del compuesto químico pulegona con una mortalidad del 100% de adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) con 0,25% de concentración y a las 96h de exposición.

Iannacone & Quispe (2004) aplicaron el extracto acuoso y clorofórmico de *C. quinoa* y el extracto acuoso de *L. camara* sobre adultos de *S. zeamais*. Realizaron ensayos de contacto

en papel filtro con 0,5mL de cada extracto, siendo los tiempos de exposición de 3, 6, 24 y 48h. Concluyeron que los extractos acuosos de ambas plantas presentan porcentajes de mortalidad sumamente bajos en comparación con el extracto clorofórmico de *C. quinoa*, el cual produjo altos porcentajes de mortalidad de 73,38% y 100% a las 24 y 48 h de exposición, respectivamente.

Peralta *et al.* (2004) indicaron que los alcaloides obtenidos de las semillas de *Lupinus mutabilis* variedad Andino 450 por maceración en agua, causaron un 93% de mortalidad del nematodo *Meloidogyne incognita*.

Gallardo *et al.* (2005) estudiaron el ciclo de vida, la longevidad, proporción sexual, y sus principales depredadores del ácaro *T. urticae* procedente de campos de cultivo de *Capsicum annum* L., Lara, Venezuela. La duración de la fase de desarrollo promedio fue de 8,2 días (huevo (2,7), larva (1,8), ninfa (3,7)). La longevidad promedio de hembras fue de 12,2 días y la proporción sexual fue de 2,1:1 (hembra/macho), además hallaron la presencia de ácaros depredadores del género *Neoseiulus* y *Euseius* y una especie *Pronematus ubiquitous* (McGregor, 1923).

Orozco & Lentz (2005) realizaron un estudio etnobotánico en cuatro localidades de Cajamarca, Perú, encontrando 22 plantas con propiedades tóxicas. Hicieron extracciones en metanol con concentraciones de 0,5, 5, 50, 500 y 5000ppm para su aplicación contra larvas del mosquito *A. aegypti*. Encontraron que *M. mollis* alcanzó una mortalidad del 100% en las primeras 24h de exposición con una dosis de 5000ppm, mientras que el extracto de semilla de *L. mutabilis* no produjo mortalidad con dosis inferiores a 5000ppm.

Aslan *et al.* (2006) determinaron la toxicidad de los aceites esenciales de tres especies de la familia Lamiaceae: *Micromeria fruticosa* (L.), *Nepeta racemosa* Lam. y *Origanum vulgare* L. sobre ninfas y/o adultos de *T. urticae* y adultos de *B. tabaci*. Concluyeron que las tres especies de plantas causaron mortalidades del 100% en *B. tabaci* y mortalidades superiores del 95% en *T. urticae* con 8µl del aceite esencial a las 120h de exposición en ambas plagas.

Gleiser *et al.* (2007) evaluaron la actividad insecticida de los aceites esenciales de *M. mollis* contra larvas, pupas y adultos *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. Demostraron que la mortalidad de larvas y adultos se dio a una concentración de 160ppm a las 24h de exposición, sin embargo, esto no se observó en pupas con ninguna de las concentraciones efectuadas.

Iannacone *et al.* (2007) emplearon el extracto clorofórmico de corteza de *Paullinia clavigera* Schltld. sobre larvas del primer instar de *C. externa*. Concluyeron que no hubo efectos toxicológicos del extracto clorofórmico de corteza de *P. clavigera* sobre larvas del primer instar de *C. externa* en los bioensayos de contacto residual e incorporación en la dieta a las 24, 48, 72 y 96h de exposición.

Duso *et al.* (2008) aplicaron insecticidas a base de piretrina, imidacloprid, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., azadiractina, pimetozina y rotenona sobre huevos y hembras adultas de *T. urticae* y *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957. Sus resultados mostraron que las piretrinas y *B. bassiana* causaron altas mortalidades del 90,5% y 96,2% en hembras adultas y huevos de *T. urticae*, respectivamente, mientras que la piretrina y la rotenona causaron mortalidades del 100% en hembras de *P. persimilis*.

Llanos *et al.* (2008) utilizaron los extractos de semillas de *A. muricata* con los solventes: hexano, acetato de etilo y etanol sobre adultos de *S. zeamais* por medio de aplicación topical e ingestión. Concluyeron que los extractos hexánicos mostraron la mayor actividad insecticida con 100% de mortalidad a las 72h por aplicación topical, mientras que el extracto de semillas con acetato de etilo causó una mortalidad del 97% a partir de las 48h por ingestión.

Tsolakis & Ragusa (2008) determinaron la toxicidad del acaricida Acaridoil 13SL sobre huevos y hembras adultas de *T. urticae* y *P. persimilis*. El acaricida produjo mortalidades del 53,8 y 83,4% en huevos y hembras de *T. urticae*, mientras que en *P. persimilis* produjo mortalidades del 8,89 y 24% en ambos estados de desarrollo. Finalmente, indicaron que

este acaricida resultó ser muy selectivo con el depredador *P. persimilis* y muy tóxico para la plaga *T. urticae*.

Villacrés *et al.* (2009) mencionaron la actividad biológica de los alcaloides obtenidos de semillas de *L. mutabilis* en diversos ensayos.

Bermúdez-Torres *et al.* (2009) evaluaron la actividad insecticida de los alcaloides quinolizidínicos presentes en las hojas de tres especies de Fabaceae: *Lupinus montanus* (HBK), *Lupinus stipulatus* (Agardh) y *Lupinus aschenbornii* (Schauer) en larvas del lepidóptero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) por medio de ingestión. El extracto de hojas de *L. stipulatus* resultó ser el más tóxico contra larvas de *S. frugiperda*.

Cerna *et al.* (2009) calcularon el grado de tolerancia de hembras adultas de *T. urticae* provenientes de cultivos de hortalizas con cuatro acaricidas como: Avermectina, Dicofol, Óxido de Fenbutatin y Naled por el método de inmersión en hoja. Sus resultados mostraron una Concentración letal media (CL₅₀) de 1,8, 1109,5, 52,9 y 1014,7ppm para Avermectina, Dicofol, Óxido de Fenbutatin y Naled, respectivamente. Concluyeron que *T. urticae* es resistente a los insecticidas Naled y Dicofol.

Konigheim *et al.* (2009) emplearon los extractos de *M. mollis* con los solventes: hexano, cloroformo y metanol sobre larvas del III estadio de *C. quinquefasciatus*. Señalaron que *M. mollis* causó una mortalidad larvicida del 100% con las concentraciones de 0,5 y 0,25mg/ml de los extractos hexánicos y cloroformicos a las 24h de exposición, mientras que los extractos metanólicos causaron bajos porcentajes de mortalidad del 8-28% sobre estas larvas.

Valdés *et al.* (2009) mencionaron las ventajas y desventajas del uso de plaguicidas de origen botánico, además de los principales productos botánicos para el manejo de plagas de insectos en especies forestales.

Iannacone & Alvariño (2010) realizaron bioensayos para determinar el efecto toxicológico de extractos acuosos de *S. molle* en huevos y larvas del primer instar de dos neurópteros: *Ceraeochrysa cincta* (Schneider, 1851) y *Chrysoperla asoralis* (Banks, 1915) por contacto residual e inmersión (ensayo de eclosión de huevos). Sus resultados mostraron una CL₅₀ de 18,2% en *C. cincta* y una CL₅₀ de 27,3% en *C. asoralis* a las 48h de exposición, mientras que en los bioensayos por inmersión, *C. asoralis* mostró la mayor sensibilidad a los extractos acuosos de *S. molle*.

Zegarra (2010) comprobó la actividad biológica de distintos extractos de variedades de semillas de quinoas amargas, semillas de *L. mutabilis*, aceites esenciales de *Schinus molle* L. y *M. mollis* sobre *Boophilus (Rhipicephalus) microplus* Canestrini, 1888 y *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Concluyó la actividad deterrente (inhibición de ingesta) de los extractos de *C. quinoa* variedad Markjo, *L. mutabilis* y los aceites esenciales de *M. mollis* en el coccinélido *E. paenulata*, además indicó que el aceite esencial de *M. mollis* y *C. quinoa* tienen actividad biológica contra *B. microplus*.

Villegas-Elizalde *et al.* (2010) aplicaron cinco acaricidas: abamectina, endosulfán, fenpropatrín, oxidemetón metílico y propargite sobre hembras del ácaro *T. urticae* provenientes de cultivos de fresa, para evaluar su resistencia frente a estos productos químicos. Sus resultados mostraron la resistencia de este ácaro a la abamectina, endosulfán y oxidemetón metílico a las 48h de exposición.

Russo *et al.* (2011) evaluaron el efecto insecticida del extracto metanólico, etéreo y acuoso de *Chenopodium album* L. sobre larvas y adultos del coleóptero *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758) por ingestión de alimento. Concluyeron que el extracto acuoso produjo menor supervivencia en ambos estados evaluados y que el extracto etéreo permitió un mayor porcentaje (66%) de supervivencia en adultos de este coleóptero.

Cerna *et al.* (2012) utilizaron los insecticidas: abamectina, bifentrina, endosulfan, imidacloprid y profenofos sobre larvas del primer instar de *C. carnea* y ninfas del

hemíptero plaga *Bactericera cockerelli* (Šulc, 1909), para determinar su tolerancia y selectividad frente a estos compuestos químicos por toxicidad residual. Los insecticidas abamectina, bifentrina y endosulfan fueron más tóxicos para ninfas de *B. cockerelli* que para larvas de *C. carnea*. El insecticida imidacloprid fue más tóxico solo para larvas de *C. carnea*, causando mortalidades del 42-100%, mientras que profenofos fue altamente tóxico para ambas especies en todas las concentraciones evaluadas y a las 24h de exposición.

Pérez-López (2012) mencionó el uso, mecanismo de acción y toxicidad de los principales plaguicidas de origen vegetal. Entre estos plaguicidas botánicos mencionó las piretrinas, la azadiractina, los aceites esenciales de varias plantas, la rotenona, acetogeninas y ésteres de sacarosa.

Laborda *et al.* (2013) extrajeron los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* L. y *Salvia officinalis* L. para evaluar su efecto pesticida sobre hembras adultas de *T. urticae* por contacto residual e inmersión. Las mortalidades de 26,8% y 46,9% de ácaros se dieron con las concentraciones de 0,25% de *R. officinalis* y *S. officinalis* por contacto residual y a los 8 días de exposición, sin embargo, mediante las pruebas de inmersión se evidenciaron altas tasas de mortalidad del 95-100% con los aceites esenciales de *S. officinalis* en todas las concentraciones evaluadas y en *R. officinalis* a partir del 0,20% de concentración.

Giraldo (2013) hizo una revisión de productos alternativos como los caldos fitoprotectores y los extractos de plantas para el manejo de ácaros fitófagos. Mencionó el uso del nim, piretrina, rotenona, sabadilla, rianoides, nicotina, aceite de cítricos, piperinas como extractos botánicos y el uso de los caldos sulfocálcico y viscosa.

Ravaomanarivo *et al.* (2014) aplicaron los extractos acuosos de semillas de *A. squamosa* L. y *A. muricata* para la evaluación de su toxicidad sobre larvas del III instar y adultos de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) y *C. quinquefasciatus*. Concluyeron que los extractos acuosos de *A. muricata* provocaron una mortalidad superior que *A. squamosa* en adultos de ambas especies de insectos y que el extracto acuoso de *A. muricata* y *A. squamosa* fueron

tóxicos para ambas larvas con un 2% de concentración. Además, analizaron el extracto acuoso de *A. muricata*, el cual presentó alcaloides, flavonas, flavononas, triterpenoides, esteroides no saturados y polifenoles.

Garzón *et al.* (2015) evaluaron la toxicidad de seis insecticidas convencionales: deltametrina, flonicamid, flubendamida, metaflumizona, espirotetramat y sulfoxaflor sobre el tercer instar larval de *C. carnea* y el cuarto instar larval del coccinélido *Adalia bipunctata* (Linnaeus, 1758) por contacto residual. El insecticida deltametrina fue el único que registró una mortalidad superior al 50% sobre larvas del tercer instar de *C. carnea* con una concentración del $12,45 \text{ mg ia} \cdot \text{L}^{-1}$, mientras que las larvas del cuarto instar de *A. bipunctata* fueron más susceptibles a los insecticidas sulfoxaflor y deltametrina con un 100% de mortalidad.

Iannacone *et al.* (2014a) evidenciaron la toxicidad del extracto acuoso de la corteza de *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) sobre larvas del primer instar de *C. externa* y *C. asoralis* por contacto residual. Sus resultados mostraron que ambas larvas presentaron mortalidades en todas las concentraciones evaluadas, siendo $1 \text{ mg ia} \cdot \text{L}^{-1}$, la concentración que causó el 100% de mortalidad en *C. asoralis* a las 48h de exposición y $11 \text{ mg ia} \cdot \text{L}^{-1}$, la concentración que causó el 75% de mortalidad en *C. externa* a las 96h de exposición.

Iannacone *et al.* (2014b) confirmaron la toxicidad del insecticida metomilo y el extracto acuoso de *L. camara* sobre larvas del primer instar de dos crisópidos: *C. cincta* y *C. asoralis*, por contacto residual. Concluyeron que el metomilo resultó ser altamente tóxico en ambas larvas con mortalidades del 85-100%, mientras que el extracto acuoso de *L. camara* fue más tóxico para las larvas de *C. cincta* en todas las concentraciones evaluadas.

Iannacone *et al.* (2015) emplearon los extractos acuosos de hojas de *Tagetes elliptica* Smith (Verbenaceae) y el insecticida organofosforado dimetoato sobre larvas del primer instar de *C. externa* y *C. asoralis* por contacto residual. Los resultados evidenciaron que *C. externa* fue muy susceptible a todas las concentraciones del extracto acuoso de *T. elliptica*, mientras

que el insecticida dimetoato produjo mortalidades del 70-100% en ambas larvas a las 48h de exposición.

Maciel *et al.* (2015) utilizaron los extractos etanólicos, hexánicos y acuosos de semillas de *A. muricata* sobre hembras adultas de *T. urticae*. El extracto etanólico de *A. muricata* mostró la mayor actividad acaricida en comparación con los otros extractos evaluados.

Harder *et al.* (2016) determinaron el efecto acaricida del extracto etanólico crudo de semillas de *C. quinoa* sobre hembras adultas de *T. urticae* por contacto residual. Sus resultados mostraron que las mortalidades del 89-91% en ácaros, se produjeron con las concentraciones del 7,6 y 9,1% (p/v) a las 72h de exposición.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1. Obtención del material vegetal

El material vegetal (Anexo A, Fig. 1A-4A) fue adquirido del mercado mayorista de Santa Anita. Para lo cual se compraron 2kg de plantas enteras de *M. mollis* provenientes de la ciudad de Concepción (Junín), ubicada a 3286 msnm. Las semillas de *A. muricata* se separaron de 3kg de fruta madura. Finalmente, se consiguió 500g de semillas no lavadas de *C. quinoa* variedad Blanca de Junín y 500g de semillas no lavadas de *L. mutabilis*, provenientes de la ciudad de Sapallanga (Junín), ubicada a 3299 msnm. El material vegetal fue certificado por el Laboratorio de Diversidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villareal (UNFV), según el Sistema de Clasificación Cronquist (1981). (Anexo B, B1-B4).

3.1.2. Obtención del depredador

Los huevecillos maduros de *C. externa* (3 millares) fueron adquiridos del PN-CB-SENASA y se los acondicionaron en tres recipientes plásticos de 8L de capacidad en el Laboratorio de Invertebrados de la Universidad Ricardo Palma (URP) hasta el momento de la eclosión de los huevecillos. Las larvas del primer instar (<24h) recién emergidas fueron alimentadas con huevos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789) antes de su utilización en los bioensayos. Las principales características de las larvas del primer instar del género *Chrysoperla* son: tubérculos laterales del tórax bien desarrollados y setas torácicas y abdominales relativamente largas (Monserrat & Díaz-Aranda, 2012), mientras que las

larvas del tercer instar de *C. externa* presentan en la región cefálica: una marca media anterodorsal bifurcada y marcas dorsolaterales irregulares (Haramboure *et al.*, 2014).

3.1.3. Obtención de la plaga

Los especímenes de *T. urticae* fueron recolectados de plantas de *Prunus persica* L. “durazno” no tratadas previamente con insecticidas o acaricidas sintéticos de parques del distrito de Santa Anita, Lima, Perú. Se usaron para los bioensayos únicamente hembras adultas de *T. urticae* (Anexo C, Fig. 5A-6A), debido a que es uno de los estados de desarrollo más susceptible. Las hembras tienen la parte posterior del cuerpo de forma redondeada, poseen dos manchas en las zonas laterales del dorso, miden unos 0,4mm de largo y poseen 12 pares de setas dorsales (Fasulo & Denmark, 2000; Ramírez, 2004). Existe dimorfismo sexual en esta especie, siendo el macho más pequeño y alargado en proporción a la hembra. La identificación del género se realizó en el Laboratorio de Entomología del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (Senasa), Lima, Perú (Anexo D). Se usó para la identificación de la especie solo ácaros machos (Ferragut & Santonja, 1989). Estos fueron previamente conservados en etanol al 70%, luego pasaron por un proceso de digestión con ácido láctico al 60%. Seguidamente el montaje se realizó en líquido de Hoyer entre porta y cubreobjetos (Romo, 1989). Una vez terminado este proceso se procedió a la observación de la forma del aedeagus del macho (Anexo E, Fig. 7A-8A), esta estructura se caracterizó por tener las proyecciones anteriores y posteriores similares o ligeramente diferentes, además de poseer una superficie dorsal redondeada (Zhang & Jacobson, 2000).

Finalmente, el material recolectado e identificado de ácaros de la especie *T. urticae* y larvas de *C. externa* adquiridas del SENASA, se colocaron por separado en pequeños frascos de vidrio con alcohol al 70% para su depósito en el Museo del Centro de Diagnóstico de

Sanidad Vegetal, Senasa y en el Museo de Historia Natural “Vera Alleman Haeghebaert”, Lima, Perú.

3.2. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Las semillas de *A. muricata* y hojas de *M. mollis* fueron lavadas con agua de grifo para la remoción de las impurezas presentes, luego fueron secadas y colocadas en una estufa a 40°C por 48h. Posteriormente se procedió a retirar el material vegetal de la estufa. Luego se removió la testa de las semillas de *A. muricata*, para obtener solo el endospermo. Seguidamente se procedió a triturar por separado el material vegetal seco con un mortero hasta la obtención de un polvillo fino. El tamaño de las partículas granulométricas del polvillo de las dos especies botánicas se determinó mediante el protocolo de tamizaje, los cuales fueron para: *A. muricata*: 50,05% mayor a 0,71mm, 41,92% entre 0,50 y 0,71mm, 1,70% entre 0,25 y 0,50mm, 1,01% entre 0,21 y 0,25mm, 0,13% entre 0,13mm y 0,21mm y 5,19% menor a 0,13mm. Para *M. mollis*: 0,14% mayor a 0,71mm, 86,41% entre 0,50 y 0,71mm, 2,48% entre 0,25 y 0,50mm, 7,25% entre 0,21 y 0,25mm, 1,85% entre 0,13mm y 0,21mm y 0,76% entre 0,09 y 0,13 mm, 0,98% entre 0,07 y 0,09 mm y 0,14% menor a 0,07mm.

Las semillas de *C. quinoa* y *L. mutabilis* no pasaron por el procedimiento descrito anteriormente. Finalmente, el material vegetal fue colocado por separado en frascos de vidrio ámbar hasta la preparación de los extractos.

El extracto acuoso se obtuvo luego de pesar 20g del material vegetal de *M. mollis*, *A. muricata*, *C. quinoa* y *L. mutabilis* con 100mL de agua de mesa embotellada (pH= 7,79, potencial redox= 55mV, conductividad= 54,5uS/cm², temperatura= 25°C, % saturación de oxígeno= 76,3%, O.D= 6,17mg/L) por 24h a temperatura ambiente (Hoss, 1999; Benner, 1996; Iannacone & Lamas, 2003; Iannacone & Quispe, 2004; Iannacone & Alvariño, 2010; Iannacone *et al.*, 2014; Torres, 2014; Iannacone *et al.*, 2015). Se utilizaron extractos

acuosos de reciente preparación (<48h), debido a que microorganismos fúngicos influyen en la calidad de este tipo de extractos (Iannacone & Lamas, 2003). La caracterización de los extractos acuosos fueron: *M. mollis* (apariencia= marrón claro, pH= 6,49, conductividad= $0\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $1,60\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), *A. muricata* (apariencia= blanco sucio, pH= 6,38, conductividad= $0\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $2,78\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), *C. quinoa* (apariencia= amarillo pálido, pH= 6,34, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $6,97\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y *L. mutabilis* (apariencia= crema, pH= 6,81, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $5,59\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

El extracto etanólico se obtuvo luego de pesar 20g del material vegetal de *M. mollis*, *A. muricata*, *C. quinoa* y *L. mutabilis* con 100mL de etanol al 70% por 72h a temperatura ambiente (Hoss, 1999; Benner, 1996; Bobadilla *et al.*, 2002; Ortega *et al.*, 2005; Llanos *et al.*, 2008; Daud *et al.*, 2008). La caracterización de los extractos etanólicos fueron: *M. mollis* (apariencia= verde oscuro, pH= 6,21, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $7,58\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), *A. muricata* (apariencia= amarillo claro, pH= 6,51, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $7,98\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), *C. quinoa* (apariencia= amarillo pálido, pH= 6,50, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $6,94\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y *L. mutabilis* (apariencia= crema pálido, pH= 6,42, conductividad= $3\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $7,45\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

El extracto hexánico se obtuvo luego de pesar 20g del material vegetal de *M. mollis* y *A. muricata* con 100mL de n-hexano a las mismas condiciones señaladas con el extracto etanólico (Hoss, 1999; Benner, 1996; Iannacone & Lamas, 2003; Ortega *et al.*, 2005; Llanos *et al.*, 2008; González *et al.*, 2013). No se trataron las semillas de *C. quinoa* y *L. mutabilis* con este solvente apolar. La caracterización de los extractos hexánicos fueron: *M. mollis* (apariencia= verde oscuro, pH= 6,05, conductividad= $0\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $8,20\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), *A. muricata* (apariencia= amarillo claro, pH= 6,35, conductividad= $0\text{uS}\cdot\text{cm}^{-2}$, O.D= $8,23\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Los extractos botánicos se agitaron manualmente cada 8hrs durante el proceso de extracción. Transcurrido este tiempo, se filtraron usando un papel filtro (Whatman N°1). A partir del extracto inicial del 20% de concentración, se hizo una dilución para obtener la

concentración del 10%. Finalmente, cada extracto vegetal se almacenó en frascos de color ámbar para su utilización en los bioensayos. El diagrama de flujo de las extracciones con los solventes empleados se encuentra en el Anexo F, Fig. 9A.

El screening fitoquímico fue realizado utilizando procedimientos estandarizados para la detección de alcaloides (Dragendorff), flavonoides (Shinoda), esteroides (Liebermann Burchard), grupos fenólicos (Tricloruro férrico) y saponinas (producción de espuma) (Lock, 1994). La presencia de metabolitos secundarios se detectó en tres categorías: Muy abundante (++++), abundante (+++), moderada (++) , escasa (+), ausencia (-) y dudoso (\pm). La tabla de los resultados del screening fitoquímico se presenta en el Anexo G.

3.3. BIOENSAYO EN PLAGA Y DEPREDADOR

Los bioensayos se realizaron usando el método de contacto residual (Iannacone & Lamas, 2003; Iannacone *et al.*, 2007; Iannacone & Alvariño, 2010; Laborda *et al.*, 2013; Iannacone *et al.*, 2014; Iannacone *et al.*, 2015) en envases plásticos de 12mL de capacidad, a los cuales se le hicieron pequeños orificios en la tapa para permitir la respiración de los artrópodos. El protocolo consistió en pasar un hisopo estéril previamente sumergido una sola vez en cada extracto vegetal, para luego ser esparcido homogéneamente por todas las paredes de cada recipiente plástico, excepto en la tapa del envase. Luego se secaron a temperatura ambiente por un intervalo de 3-4h los envases con solventes etanólicos y hexánicos, mientras que los envases con solvente acuoso fue por 2h (Iannacone & Alvariño, 2010).

Se utilizaron 10 hembras adultas de *T. urticae* “arañita roja” por cada recipiente plástico y no se le suministró alimento durante todo el bioensayo con este ácaro.

Las 10 larvas del primer instar (<24h) de *C. externa* “león de áfidos” fueron colocadas individualmente en cada recipiente plástico, debido a que estos insectos presentan hábitos de canibalismo cuando escasea el alimento (Núñez, 1988).

La temperatura y humedad relativa promedio del laboratorio en los bioensayos con ambas especies fue de $28,6 \pm 1^\circ\text{C}$ y $67 \pm 2\%$, respectivamente. Los bioensayos se realizaron en condiciones de oscuridad para evitar la fotólisis de los extractos botánicos (Iannacone & Alvariño, 2005).

Las lecturas de mortalidad fueron a las 24 y 48h para *T. urticae* y a las 24, 48 y 72h para *C. externa*. No se completó el bioensayo hasta las 72h con *T. urticae*, debido a que hubo una mortalidad superior al 20% en el control. Se evidenció la muerte de ambas especies cuando estas no realizaron algún movimiento corporal coordinado al ser estimulados con un alfiler entomológico durante 15s en su observación en el estereoscopio (Anexo H, Fig. 10A-11A) (Iannacone & Alvariño, 2005).

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS

Se usaron dos concentraciones (20% y 10%) de los extractos botánicos acuosos, etanólicos y hexánicos para las pruebas de toxicidad con *T. urticae* y *C. externa*, cada uno con cuatro repeticiones y un control negativo de agua de mesa embotellada, alcohol etílico al 70% marca Fyarepsac® y n-hexano marca J.T.Baker® con grado de pureza del 95% para cada extracto botánico respectivamente. El control no superó el 20% de mortalidad de los individuos en los bioensayos. En aquellos casos excepcionales en la que algunos de las unidades experimentales en el control o en las dos concentraciones ensayadas (10% y 20%) fueran muy diferentes que el promedio del resto de tratamientos, se procedió a la eliminación de los mismos, con el fin de reducir la heterogeneidad de la varianza, no superando nunca el 10% del total de tratamientos de todo ensayo (Zar, 1996).

Se hizo un ajuste del control a 0% mediante la fórmula de Schneider-Orelli's (EHABSOFT, 2016), luego los datos obtenidos se transformaron según la expresión $\sqrt{x + 1}$. Los estadísticos descriptivos fueron calculados con el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 23. Se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba post hoc de Duncan con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$, además se calcularon los valores de LOEC (Concentración más baja con efecto observado) y NOEC (Concentración sin efecto observado) para cada extracto botánico. Para la mayoría de los extractos usados a las 48h de exposición, la concentración del 10% al no ser diferente al control en los bioensayos con hembras adultas de *T. urticae* y larvas del primer instar de *C. externa*, no requirió emplear una tercera concentración al 5%, que es lo sugerido para calcular los valores de NOEC y LOEC (Díaz *et al.*, 2004). Finalmente, se determinó el cociente de riesgo (CR) de los extractos botánicos empleando la relación presa (*T. urticae*)/depredador (*C. externa*). El CR se calculó luego de dividir el porcentaje de mortalidad de *T. urticae*/*C. externa* a las 48h de exposición en los bioensayos con ambas especies. Los valores mayores a 1 no representaron un riesgo adverso en la mortalidad de *C. externa*, mientras que los valores menores a 1 si ocasionaron un riesgo negativo en el depredador.

IV. RESULTADOS

Los extractos acuosos de las cuatro plantas evaluadas en los bioensayos presentaron efecto acaricida en hembras adultas de *T. urticae* a las 24h de exposición y al 20% de concentración, a excepción del extracto acuoso de *M. mollis* (Tabla 1). A las 48h de exposición se observó un incremento de la mortalidad de ácaros, siendo el extracto acuoso de *M. mollis* al 20% de concentración el que presentó la mayor actividad acaricida (Tabla 1). Se determinaron los valores de NOEC y LOEC de los extractos botánicos a las 24 y 48h de exposición. Los menores valores de NOEC y LOEC se evidenciaron en el extracto de *A. muricata* a las 48h y en el extracto de *C. quinoa* a las 24 y 48h de exposición. Los mayores valores de NOEC y LOEC se dieron en el extracto de *M. mollis* a las 24h de exposición (Tabla 1).

Los extractos etanólicos de *A. muricata* y *M. mollis* en ambas concentraciones y a las 24h de exposición no presentaron actividad acaricida, en cambio, los extractos de *L. mutabilis* y *C. quinoa* si presentaron efecto acaricida al 20% de concentración (Tabla 2). A las 48h de exposición se observó un ligero incremento de la mortalidad con los extractos botánicos, sin embargo, el extracto de *A. muricata* no presentó efecto acaricida, ya que los valores obtenidos son estadísticamente iguales al control (Tabla 2). Por otro lado, el extracto de *C. quinoa* mostró la mayor actividad acaricida registrada con este solvente, pero se redujo a las 48h de exposición por aumento de la mortalidad del testigo antes de realizar el ajuste del control con la fórmula Schneider-Orelli's (Tabla 2). Los menores valores de NOEC y LOEC se evidenciaron en el extracto de *L. mutabilis* y *C. quinoa*, ambos a las 48h de exposición. Los mayores valores de NOEC y LOEC se dieron en el extracto de *A. muricata* a las 24 y 48h, mientras que en *M. mollis* solo a las 24h de exposición (Tabla 2).

Los extractos hexánicos de *A. muricata* y *M. mollis* no presentaron efecto acaricida a las 24 y 48h de exposición en ambas concentraciones evaluadas. Los mayores valores de NOEC y LOEC son los mismos para los dos extractos botánicos (Tabla 3).

Tabla 1Toxicidad del extracto acuoso de cuatro plantas sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae)

Concentración	<i>Annona muricata</i>		<i>Minthostachys mollis</i>		<i>Lupinus mutabilis</i>		<i>Chenopodium quinoa</i>	
	Exposición							
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
10%	7,69ab	16,67b	2,56a	5,56a	5,13ab	8,33a	17,95b	13,89b
20%	17,95b	22,22b	7,69a	29,63b	17,95b	22,22b	10,26b	16,67b
NOEC (%)	10	<10	20	10	10	10	<10	<10
LOEC (%)	20	10	>20	20	20	20	10	10
F	5,78	10,96	2,23	13,98	5,05	12,09	10,48	5,24
Sig	0,02	0,01	0,17	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Tabla 2Toxicidad del extracto etanólico de cuatro plantas sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae)

	<i>Annona muricata</i>		<i>Minthostachys mollis</i>		<i>Lupinus mutabilis</i>		<i>Chenopodium quinoa</i>	
	Exposición							
Concentración	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
10%	6,16a	8,33a	1,09a	8,33ab	6,16ab	11,11b	3,62a	11,11b
20%	3,62a	11,11a	6,16a	13,89b	8,69b	13,89b	28,98b	18,52b
NOEC (%)	20	20	20	10	10	<10	10	<10
LOEC (%)	>20	>20	>20	20	20	10	20	10
F	2,28	2,26	2,48	6,01	3,66	4,57	17,60	10,55
Sig	0,14	0,15	0,12	0,01	0,05	0,03	0,00	0,00

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Tabla 3Toxicidad del extracto hexánico de dos plantas sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae)

	<i>Annona muricata</i>		<i>Minthostachys mollis</i>	
	Exposición			
Concentración	24h	48h	24h	48h
Control	0a	0a	0a	0a
10%	0a	0a	0a	0a
20%	0a	0a	2,49a	6,67a
NOEC (%)	20	20	20	20
LOEC (%)	>20	>20	>20	>20
F	0,27	1,45	3,00	3,86
Sig	0,76	0,28	0,10	0,06

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Los extractos acuosos de las cuatro plantas evaluadas no presentaron efecto insecticida en larvas del primer instar de *C. externa* a las 24h de exposición, pues sus resultados no difirieron significativamente del control (Tabla 4). A las 48h de exposición se observó un ligero efecto insecticida de los extractos de *A. muricata* y *L. mutabilis*. A las 72 h de exposición la mortalidad se elevó considerablemente para los cuatro extractos botánicos, siendo el extracto de *M. mollis* al 20% de concentración el que produjo la mayor actividad insecticida. Por otro lado, el extracto de *C. quinoa* al 10% de concentración registró la menor actividad insecticida (Tabla 4). Los menores valores de NOEC y LOEC se dieron en el extracto de *A. muricata* a las 48 y 72h, mientras que en los extractos de *M. mollis*, *L. mutabilis* y *C. quinoa* fue a las 72h de exposición (Tabla 4).

Los extractos etanólicos no presentaron efecto insecticida a las 24h de exposición. A las 48h de exposición se observó un ligero efecto insecticida con el extracto de *C. quinoa* (Tabla 5). A las 72h de exposición la mortalidad se elevó considerablemente para los cuatro extractos botánicos, siendo el extracto de *M. mollis* al 20% de concentración el que presentó la mayor actividad insecticida registrada en los bioensayos, mientras que el extracto de *L. mutabilis* al 10% de concentración presentó la menor actividad insecticida. Los menores valores de NOEC y LOEC se dieron en los cuatro extractos botánicos a las 72h de exposición (Tabla 5).

Los extractos hexánicos de *A. muricata* y *M. mollis* no presentaron efecto insecticida a las 24 y 48h de evaluación (Tabla 6). A las 72h de exposición se evidenció el efecto insecticida del extracto de *M. mollis* en ambas concentraciones. Los menores valores de NOEC y LOEC se dieron en el extracto de *M. mollis* a las 72h de exposición (Tabla 6).

Tabla 4

Toxicidad del extracto acuoso de cuatro plantas sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)

Concentración	<i>Annona muricata</i>			<i>Minthostachys mollis</i>			<i>Lupinus mutabilis</i>			<i>Chenopodium quinoa</i>		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
10%	2,56a	11,60 b	36,36b	7,69a	8,93a	59,60b	0a	0a	31,31 b	0a	0,89a	24,24 b
20%	7,69a	14,28 b	54,55b	0a	14,28a	63,64b	5,13a	17,82 b	47,48 b	5,13a	6,25a	30,30 b
NOEC (%)	20	<10	<10	20	20	<10	20	10	<10	20	20	<10
LOEC (%)	>20	10	10	>20	>20	10	>20	20	10	>20	>20	10
F	0,99	4,83	6,84	2,26	2,77	28,4	0,72	4,36	11,7	3,43	1,22	5,20
Sig	0,40	0,03	0,02	0,14	0,11	0,00	0,50	0,04	0,01	0,06	0,33	0,03

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Tabla 5Toxicidad del extracto etanólico de cuatro plantas sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)

Concentración	<i>Annona muricata</i>			<i>Minthostachys mollis</i>			<i>Lupinus mutabilis</i>			<i>Chenopodium quinoa</i>		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
10%	0a	7,03a	54,55b	0a	0a	42,42b	0a	4,30a	39,39b	0a	0a	48,48b
20%	5,26a	12,50a	60,61b	0a	7,03a	75,76c	0a	9,77a	43,39b	0a	15,24b	51,52b
NOEC (%)	20	20	<10	20	20	<10	20	20	<10	20	10	<10
LOEC (%)	>20	>20	10	>20	>20	10	>20	>20	10	>20	20	10
F	0,68	3,19	36,77	1,16	1,34	65,26	0,33	1,24	25,62	1,63	4,60	28,23
Sig	0,52	0,08	0,00	0,34	0,30	0,00	0,73	0,32	0,00	0,23	0,03	0,00

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Tabla 6Toxicidad del extracto hexánico de dos plantas sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)

Concentración	<i>Annona muricata</i>			<i>Minthostachys mollis</i>		
	Exposición					
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Control	0a	0a	0a	0a	0a	0a
10%	0a	1,04a	11,76a	1,73a	11,46a	23,53b
20%	0a	6,25a	17,65a	1,73a	8,85a	26,47b
NOEC (%)	20	20	20	20	20	<10
LOEC (%)	>20	>20	>20	>20	>20	10
F	0,72	0,82	3,05	0,16	1,44	5,89
Sig	0,51	0,47	0,10	0,86	0,28	0,02

Letras minúsculas iguales en una misma columna representan que no hay diferencia significativa entre los valores por la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$). NOEC= Concentración sin efecto observado. LOEC= Concentración mínima con efecto observado. F= Prueba de Fisher. Sig= Nivel de significancia.

Los cocientes de riesgos (CR) obtenidos con los extractos acuosos y etanólicos mostraron que éstos no produjeron un riesgo adverso en la mortalidad de las larvas del primer instar de *C. externa* (Tablas 7 y 8). Por otro lado, el CR del extracto hexánico de *M. mollis* al 20% de concentración, si evidenció un riesgo adverso en la mortalidad de *C. externa* (Tabla 9).

Los extractos acuosos de acuerdo con los resultados obtenidos fueron los más eficientes para el control de *T. urticae*, debido a que a las 48h de exposición en los bioensayos, los valores obtenidos mostraron que estos extractos no ocasionaron un riesgo adverso en la mortalidad de *C. externa* (Tabla 10), siendo el extracto acuoso de *M. mollis* el que obtuvo el mejor valor de todos los extractos, por lo que sería el extracto botánico adecuado en un MIP de este ácaro (Tabla 10).

La tabla 11 nos mostró la presencia de los principales metabolitos secundarios evidenciados mediante el screening fitoquímico de los extractos botánicos empleados en los bioensayos. Se detectó principalmente la presencia de alcaloides, flavonoides, esteroides, grupos fenólicos y saponinas (Tabla 11).

Tabla 7

Cociente de riesgo (CR) estimado *T. urticae*/*C. externa* en mortalidades (%) obtenidas con el extracto acuoso a las 48h de exposición

	<i>Annona muricata</i>	<i>Minthostachys mollis</i>	<i>Lupinus mutabilis</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>
	Exposición			
10%	1,44	*	*	15,6
20%	1,56	2,07	1,25	2,67
Valor de comparación	1	1	1	1
Riesgo al 10%	No	N.D	N.D	No
Riesgo al 20%	No	No	No	No

Valores mayores a 1 del cociente de riesgo (CR) no provocaron riesgos en la mortalidad de *C. externa*. (*) Valores que no afectaron la mortalidad de hembras adultas de *T. urticae*, pues sus resultados no son diferentes al control. N.D= No definido.

Tabla 8

Cociente de riesgo (CR) estimado *T. urticae*/*C. externa* en mortalidades (%) obtenidas con el extracto etanólico a las 48h de exposición

	<i>Annona muricata</i>	<i>Minthostachys mollis</i>	<i>Lupinus mutabilis</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>
	Exposición			
10%	*	*	2,58	*
20%	*	1,98	1,42	1,22
Valor de comparación	1	1	1	1
Riesgo al 10%	N.D	N.D	No	N.D
Riesgo al 20%	N.D	No	No	No

Valores mayores a 1 del cociente de riesgo (CR) no provocaron riesgos en la mortalidad de *C. externa*. (*) Valores que no afectaron la mortalidad de hembras adultas de *T. urticae*, pues sus resultados no son diferentes al control. N.D= No definido.

Tabla 9

Cociente de riesgo (CR) estimado de plaga (*T. urticae*)/depredador (*C. externa*) en mortalidades (%) obtenidas con el extracto hexánico a las 48h de exposición

	<i>Annona muricata</i>	<i>Minthostachys mollis</i>
	Exposición	
10%	*	*
20%	*	0,75
Valor de comparación	1	1
Riesgo al 10%	N.D	N.D
Riesgo al 20%	N.D	Si

Valores mayores a 1 del cociente de riesgo (CR) no provocaron riesgos en la mortalidad de *C. externa*. (*) Tomar los datos con precaución debido a que se observó 0% de mortalidad en *T. urticae*. N.D= No definido.

Tabla 10

Dos criterios de elección para emplear los extractos botánicos en un posible Manejo Integrado de Plagas de *T. urticae*

Tratamiento	Mortalidad en ácaros (%)	Orden de > a <	Cociente de riesgo (C.R)	Orden de > a <	Σ (suma total)
Extractos acuosos					
20% <i>A. muricata</i>	22,22	2,5	1,56	4	6,5
20% <i>M. mollis</i>	29,63	1	2,07	2	3
20% <i>L. mutabilis</i>	22,22	2,5	1,25	6	8,5
20% <i>C. quinoa</i>	16,67	5	2,67	1	6
Extractos etanólicos					
20% <i>A. muricata</i>	**	**	**	**	**
20% <i>M. mollis</i>	13,89	6,5	1,98	3	9,5
20% <i>L. mutabilis</i>	13,89	6,5	1,42	5	11,5
20% <i>C. quinoa</i>	18,52	4	1,22	7	11
Extractos hexánicos					
20% <i>A. muricata</i>	*	*	*	*	*
20% <i>M. mollis</i>	**	**	**	**	**

(*) Tomar los datos con precaución debido a que se observó 0% de mortalidad en *T. urticae*. (**) Valores que no afectaron la mortalidad de hembras adultas de *T. urticae*, pues sus resultados no son diferentes al control.

Tabla 11

Identificación de los principales metabolitos secundarios evidenciados mediante el screening fitoquímico en los cuatro extractos botánicos

Extracto/prueba	Dragendorff	Shinoda	Liebermann-Burchard	Tricloruro férrico	Producción de espuma
Muña acuoso	-	++++	-	++++	++
Muña etanólico	-	++	-	++++	++
Muña hexánico	-	-	++	+	-
Guanábana acuoso	-	-	-	-	+
Guanábana etanólico	+	-	-	-	+
Guanábana hexánico	++	-	+	-	-
Quinoa acuoso	-	-	-	-	+++
Quinoa etanólico	+	+	-	++	++
Tarwi acuoso	+++	+	-	++	±
Tarwi etanólico	+	++	-	++	+
Grupo funcional	Alcaloides	Flavonoides	Esteroides	Grupos fenólicos	Saponinas

++++= Muy abundante, +++= abundante, ++= moderada, += escasa, -=ausencia, ±= dudoso.

V. DISCUSIÓN

Los extractos botánicos acuosos presentaron una mejor actividad acaricida frente a *T. urticae*, en comparación con los extractos etanólicos y hexánicos. Particularmente el extracto acuoso de hojas de *M. mollis* fue el que obtuvo la mayor actividad acaricida registrada. Dadé *et al.* (2009) evidenciaron la presencia de polifenoles y flavonoides en el extracto acuoso de *M. mollis*; sin embargo, la actividad biológica de esta planta se debe principalmente a los compuestos presentes en los aceites esenciales, estos mayormente están constituidos de sustancias terpénicas y fenilpropánicas (Carhuapoma *et al.* 2009). Gleiser *et al.* (2007) hallaron la presencia de monoterpenos como: pulegona (51,2%), mentona (30,7%) y limoneno (10,1%) en el aceite esencial de *M. mollis*. Por otro lado, Calle *et al.* (2004) comprobaron que el compuesto químico pulegona, extraído de la fracción terpénica del aceite esencial de esta planta, presentó actividad insecticida en adultos del coleóptero *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) por el método de contacto forzado. Ruffinengo *et al.* (2005) indicaron que los aceites esenciales de *M. mollis* son menos eficaces contra hembras del ácaro *Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000, pero si mostraron un efecto repelente. Iannacone & Lamas (2003) también confirmaron la actividad repelente de esta planta sobre el lepidóptero *P. operculella*. Por otro lado, Damiani *et al.* (2011) comprobaron la alta toxicidad del extracto etanólico de *Minthostachys verticillata* (Griseb.) (Lamiaceae) sobre el ácaro *V. destructor* con las más altas concentraciones del extracto a las 48h de exposición. Sánchez-Ramos & Castañera (2000), demostraron que los monoterpenos: pulegona, eucaliptol, linalol, fenchona, mentona, α -terpineno y γ -terpineno presentaron actividad acaricida en hembras de *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781).

Hasta la fecha no existen registros de la actividad acaricida del extracto acuoso de *M. mollis* contra *T. urticae*. Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron una mortalidad del 30% en hembras adultas de este ácaro. La actividad acaricida del extracto acuoso pudo estar asociada a la presencia de flavonoides, los cuales fueron detectados mediante el screening fitoquímico. Por otro lado, Aslan *et al.* (2004) utilizaron otras tres especies de la familia Lamiaceae y obtuvieron altos índices de mortalidad al exponer adultos y ninfas de *T. urticae* con 12,5µl de aceite esencial de *S. hortensis* a las 96h de exposición. Aslan *et al.* (2006) emplearon los aceites esenciales de *M. fruticosa*, *N. racemosa* y *O. vulgare* en adultos y ninfas de *T. urticae*, obteniendo mortalidades superiores al 90% a las 120h de exposición. Los métodos descritos por los autores mencionados anteriormente en este párrafo fueron mediante aplicación directa con aceites esenciales, mientras que en este trabajo se hizo con los extractos botánicos crudos, teniendo un efecto residual más lento, el cual es evidenciado en la mayoría de porcentajes de mortalidad obtenidos con este ácaro a las 48h de exposición.

El extracto acuoso de semillas de *A. muricata* mostró una actividad acaricida inferior al extracto acuoso de *M. mollis* en las dos concentraciones evaluadas. El análisis fitoquímico del extracto acuoso de *A. muricata* fue realizado por Ravaomanarivo *et al.* (2014), quienes hallaron la presencia de alcaloides, flavonas, flavononas, triterpenoides, esteroides no saturados y polifenoles. La actividad tóxica de los extractos de esta planta fue reportado anteriormente por Bernabé-Villanueva *et al.* (2009), quienes obtuvieron por medio de infusión y macerado de semillas, mortalidades superiores al 30% en larvas del IV estadio de *Aedes aegypti*, mientras que Madhumitha *et al.* (2012) comprobaron el efecto acaricida del extracto acuoso de cáscaras de fruta de *Annona squamosa* (Annonaceae) en ácaros adultos de *Haemaphysalis bispinosa* Neumann, 1897 y larvas de *B. microplus* obteniendo mortalidades del 100% con concentraciones de 2000ppm para ambos ácaros.

El extracto etanólico de semillas de *L. mutabilis* y *C. quinoa* presentaron también actividad acaricida en hembras adultas de *T. urticae* a las 24 y 48h de exposición,

siendo el extracto etanólico de *C. quinoa* el que causó la mayor actividad acaricida. Los metabolitos secundarios de estas especies botánicas presentan actividad biológica (Woldemichael & Wink, 2001; Erdemoglu *et al.*, 2007; Bermúdez-Torres, 2009; Guzmán *et al.*, 2015). *L. mutabilis* presenta en sus semillas alcaloides. Mediante un estudio realizado por Hatzold *et al.* (1983) en semillas de esta planta, hallaron principalmente la presencia de: esparteína, lupanina, α -isolupinina, 4-hidroxilupinina, 13-hidroxilupinina, entre otros. Se ha reportado anteriormente por Bermúdez-Torres *et al.* (2009), la actividad insecticida del extracto de *L. stipulatus* (Fabaceae) en larvas de *S. frugiperda*, siendo la afilina y la epiafilina los alcaloides con mayor presencia en este extracto. Por otro lado, Orozco & Lentz (2005) evaluaron el efecto tóxico del extracto metanólico de *L. mutabilis* en larvas de *A. aegypti*, pero no produjo mortalidades con dosis inferiores de $5000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Hasta la fecha no se tienen registros de la actividad acaricida de *L. mutabilis* sobre hembras adultas de *T. urticae*.

El efecto tóxico del extracto de *C. quinoa* se basa por la presencia de las saponinas, las cuales están presentes en el episperma de las semillas. Los granos de quinua pueden tener una concentración de 0 a 6% de saponinas, según la variedad (Iannacone & Quispe, 2004). La principal sapogenina de la quinua es el ácido oleanólico. Tava & Odoardi (1996) comprobaron la actividad insecticida de las saponinas de *Medicago* spp. sobre larvas del lepidóptero *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller, 1775). Harder *et al.* (2016) evaluaron el efecto acaricida del extracto etanólico crudo de semillas de *C. quinoa* en hembras adultas de *T. urticae* por contacto residual, produciendo mortalidades entre el 89-91% a las 72h de exposición con concentraciones de 7,6 y 9,1% (p/v). Podemos diferir con Harder *et al.* (2016), por los métodos empleados, ya que ellos obtuvieron el extracto etanólico crudo de semillas por medio de extracción continua a través de un Soxhlet, mientras que en este trabajo se usó la maceración de semillas en etanol, produciendo una mortalidad del 29% de los ácaros a las 24h de exposición. Además, cabe mencionar que las semillas de *C. quinoa* variedad Blanca de Junín empleadas presentan un bajo contenido de saponinas (Gandarillas, 1967), este podría ser un factor para sustentar la

baja actividad acaricida registrada. Por otro lado Iannacone & Quispe (2004) comprobaron la baja actividad insecticida de los extractos acuosos de *C. quinoa* sobre adultos del coleóptero *S. zeamais* en ensayos de contacto en papel filtro y con alimento. Russo *et al.* (2011) evaluaron el extracto acuoso de *C. album* (Chenopodiaceae) en adultos y larvas del coleóptero *O. surinamensis* L. por medio de ingestión y obtuvieron un menor porcentaje de supervivencia en ambos estados de desarrollo. Los resultados obtenidos por Zegarra (2010) evidenciaron la actividad biológica del aceite esencial de *C. quinoa* variedad Markjo tuvo en oviposición de hembras y eclosión del ácaro *B. microplus*.

Los extractos hexánicos de semillas de *A. muricata* y hojas de *M. mollis* no produjeron un efecto acaricida en hembras adultas de *T. urticae* a las concentraciones evaluadas. Estos resultados difieren según lo obtenido por Maciel *et al.* (2015), quienes demostraron la actividad acaricida del extracto etanólico y hexánico de semillas de *A. muricata* en hembras adultas de *T. urticae*, para lo cual realizaron extracciones en frío del polvo de semillas con estos solventes, por el contrario, en este trabajo se maceró el polvo del endospermo con los solventes acuosos, etanólicos y hexánicos a temperatura ambiente. Por otro lado, cabe mencionar que los extractos botánicos obtenidos con diferentes disolventes para la extracción de metabolitos, pueden causar mortalidades variables sobre insectos evaluados en condiciones de laboratorio (Ramírez–Moreno *et al.*, 2001).

Los insecticidas botánicos no producen resistencia en insectos dañinos de importancia agrícola (Valdés *et al.*, 2009), en cambio, la aplicación de insecticidas de naturaleza química (sintéticos) generan en la mayoría de casos individuos resistentes (Devine *et al.*, 2008). Esto fue corroborado por Villegas-Elizalde *et al.* (2010), quienes comprobaron la resistencia de *T. urticae* procedentes de cultivos de fresas del Valle de Zamora, México frente a los acaricidas comerciales: oxidemetón metílico, endosulfán y abamectina, ellos señalaron que debido al uso constante de estos productos químicos, se generaron individuos más resistentes. Cerna *et al.* (2009) confirmaron la resistencia de *T. urticae* procedente de invernaderos comerciales de

hortalizas del Estado de Guanajuato, México frente a los acaricidas: Naled y Dicofol, con una CI_{50} de 1014,7 y 1109,5ppm, respectivamente. Debido a los problemas expuestos anteriormente, es necesario conocer los efectos toxicológicos de los plaguicidas en *T. urticae* como en sus principales enemigos naturales, para un adecuado control de estos ácaros en un MIP (Duso *et al.*, 2008; Kim & Yoo, 2002; Urbaneja *et al.*, 2008), siendo fundamental la inocuidad y selectividad de estos plaguicidas en los enemigos naturales y de alta toxicidad para los insectos plaga a las dosis empleadas en campo.

Los extractos acuosos y etanólicos de *A. muricata* y *M. mollis* resultaron ser los más tóxicos en larvas del primer instar de *C. externa* a las 72h de exposición y al 20% de concentración, siendo el extracto etanólico de *M. mollis* el que produjo la mayor mortalidad registrada con un 75,76%. Los resultados del screening fitoquímico mostraron en el extracto etanólico de *M. mollis* la presencia de grupos fenólicos, flavonoides y saponinas. La toxicidad del extracto acuoso crudo de semillas de *A. squamosa* (Annonaceae) fue reportado anteriormente por Leatemia & Isman (2004), quienes indicaron la ligera actividad insecticida de este extracto sobre larvas del primer instar de *C. carnea* a las 24 y 48h de exposición por medio de contacto residual. Hasta la fecha no se cuenta con un registro sobre la actividad biológica de estas especies botánicas en *C. externa*.

Iannacone & Alvariño (2010) utilizaron los extractos acuosos de *S. molle* en larvas del primer estadio de los neurópteros *C. cincta* y *C. asoralis* por contacto residual, siendo *C. cincta* la más susceptible al 20% de concentración de este extracto y con una mortalidad del 90% registrada a las 48h de exposición. Iannacone & Lamas (2003) demostraron que los extractos acuosos de *S. molle* y *L. camara* no poseen un efecto insecticida considerable en larvas del primer estadio de *C. externa* a las 48h de exposición, ya que no superan el 30% de mortalidad. Por otro lado, Iannacone *et al.* (2015) comprobaron la alta toxicidad del extracto acuoso de *T. elliptica* y del insecticida dimetoato por contacto residual sobre larvas del primer instar de *C. externa*, produciendo mortalidades del 100% con las concentraciones del 10 y 20%

del extracto botánico y la concentración de 125 y 625mg·L⁻¹ del insecticida. Iannacone *et al.* (2007) comprobaron que el extracto clorofórmico de la corteza de *P. clavigera* no produjo un efecto insecticida a las 24, 48, 72 y 96h de exposición en larvas del primer instar de *C. externa* por contacto residual e incorporación en la dieta. Los resultados obtenidos en el presente trabajo no evidenciaron un efecto insecticida del extracto hexánico de semillas de *A. muricata* a las 24, 48 y 72h de exposición, pero si un efecto tóxico con el extracto hexánico de hojas de *M. mollis* a las 72h de exposición. Se podría indicar que los metabolitos secundarios extraídos con este solvente apolar no produjeron mortalidades considerables en *C. externa*.

Dentro de los enemigos naturales, *C. externa* es muy utilizado en pruebas de toxicidad con insecticidas de diverso origen (botánico o sintético), para determinar su sensibilidad o selectividad frente a estos compuestos y así implementar nuevas estrategias en un MIP. Iannacone & Lamas (2002) aplicaron dos insecticidas de origen botánico (rotenona y azadiractina) y un plaguicida carbámico (cartap) sobre larvas del primer instar de *C. externa* por contacto residual, ellos indicaron que las concentraciones recomendadas en campo de rotenona y azadiractina provocaron mortalidades entre el 20%-50%, mientras que el plaguicida cartap resultó ser altamente tóxico en todas las concentraciones evaluadas con mortalidades entre el 80-100%. Cerna *et al.* (2012) evidenciaron que los insecticidas profenofos e imidacloprid al 100% de concentración mostraron la mortalidad total de larvas del primer instar de *C. carnea*, mientras que la bifentrina y endosulfan a la misma concentración obtuvieron el 22 y 32,5% de mortalidad de larvas, respectivamente. Cordeiro *et al.* (2010) usaron las concentraciones de 35µg·cm² de malation, 1,2µg·cm² de perimetrina y 1,6µg·cm² de azadiractina sobre larvas del primer instar de *C. externa* y *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) y obtuvieron mortalidades del 100%.

El menor valor del cociente de riesgo (CR) se observó en el extracto acuoso de *M. mollis* al 20% de concentración y a las 48h de evaluación. Esto nos indicó que a esta concentración, este extracto botánico no ocasionó un riesgo negativo en la mortalidad de larvas del primer instar de *C. externa* en los bioensayos de toxicidad, además cabe

mencionar que a esta concentración se observó un efecto acaricida del 30% de mortalidad en hembras adultas de *T. urticae*. Sarmah *et al.* (2009) consideraron promisorios los extractos acuosos de *Acorus calamus* L. (Araceae), *Clerodendrum infortunatum* L. (Verbanaceae), *Xanthium strumarium* L. (Compositae) y *Polygonum hydropiper* (L.) Delarbre (Polygonaceae) ya que no afectaron la mortalidad del coccinélido depredador *Stethorus gilvifrons* (Mulsant, 1850), siendo los extractos de *C. infortunatum* y *X. strumarium* al 10% de concentración los que causaron la mayor mortalidad de hembras adultas del ácaro *Oligonychus coffeae* (Nietner, 1861). Liu *et al.* (2015) aplicaron 17 insecticidas comerciales contra la plaga *Adelphocoris lineolatus* (Goeze, 1778) y el parasitoide *Peristenus spretus* (Chen & van Achterberg, 1997), ellos demostraron mediante el análisis del CR, que la beta-cipermetrina, benzoato de emamectina, abamectina y hexaflumurón son selectivos para *P. spretus*, al no ser muy tóxicos cuando se aplicaron las dosis de estos insecticidas contra *A. lineolatus*.

El efecto de los extractos botánicos crudos en relación con la actividad individual de sus principales compuestos químicos aislados de este, presenta variada acción biológica, siendo el motivo principal de este trabajo evaluar el efecto tóxico de los extractos crudos, como un punto de referencia para la investigación de estas especies botánicas. Calle *et al.* (2004) demostraron que los aceites esenciales de *M. mollis* presentan la mayor actividad insecticida frente al coleóptero *A. obtectus*, respecto a las fracciones fenólica, terpénica y ácida y sus componentes: pulegona y mentona, ellos además indicaron que la mayor actividad insecticida presentada por los aceites esenciales de esta planta podría deberse al sinergismo de los compuestos presentes. Moreno-Limón *et al.* (2012) demostraron que el extracto etanólico de frutos de *Capsicum annum* L. obtuvo la mayor inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus* Link (1809) respecto a la capsaicina. Zamora-Natera *et al.* (2005) mencionaron que el extracto crudo de alcaloides en semillas de *Lupinus exaltus* Zucc. obtuvo mayores resultados en la inhibición del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos respecto a la lupanina.

Finalmente, los resultados obtenidos en este trabajo nos mostraron que el extracto acuoso de *M. mollis* y extracto etanólico de *C. quinoa*, ambos al 20% de concentración, podrían ser usados en un MIP de *T. urticae*, ya que fueron los únicos extractos botánicos en causar los mayores índices de mortalidad (29-30%) del ácaro en los bioensayos. De igual manera el CR obtenido a las 48h de exposición, nos indicó que el extracto acuoso de *M. mollis* al 20% de concentración también podría ser empleado en un entorno natural donde coexistan o se liberen las larvas del primer instar de *C. externa* y las hembras adultas de *T. urticae*, debido a que este extracto no resultó ser riesgoso en la mortalidad del depredador, pero si tóxico en la plaga; sin embargo, aún es necesario realizar ensayos en campo para obtener una información detallada acerca de la actividad acaricida de esta planta y su empleo en conjunto con otros tipos de control dentro de un MIP.

VI. CONCLUSIONES

El efecto tóxico del extracto etanólico de *Chenopodium quinoa* (20%) y del extracto acuoso de *Minthostachys mollis* (20%) produjeron mortalidades entre el 28,98 y 29,63% en hembras adultas del ácaro *Tetranychus urticae* a las 24 y 48h de exposición, respectivamente.

El extracto etanólico de *M. mollis* (20%) causó la mayor actividad insecticida en larvas del primer instar de *Chrysoperla externa*, con un 75,76% de mortalidad a las 72h de exposición.

El cociente de riesgo obtenido nos indicó que el extracto acuoso de *M. mollis* (20%) no representó un riesgo adverso para *C. externa* a las 48h de exposición.

Los extractos hexánicos de *Annona muricata* y *M. mollis* no causaron mortalidades en *T. urticae* a las 24 y 48h de exposición.

El extracto hexánico de *A. muricata* no causó mortalidades en *C. externa* en el periodo de exposición hasta las 72h, siendo solo los extractos hexánicos de *M. mollis* (10 y 20%), los que produjeron mortalidades del 23,53 al 26,47% a las 72h de exposición, respectivamente.

El screening fitoquímico de los extractos botánicos con actividad acaricida evidenciaron la presencia de flavonoides, grupos fenólicos y saponinas, mientras que el extracto con actividad insecticida mostró principalmente la presencia de grupos fenólicos.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar más bioensayos de toxicidad en *Tetranychus urticae* utilizando otros solventes de diferente polaridad con el fin de encontrar extractos con mayor actividad acaricida.

Emplear diferentes protocolos de evaluación de la toxicidad en bioensayos con *T. urticae* y *Chrysoperla externa*.

Evaluar la acción individual de los principales metabolitos secundarios de las especies botánicas evaluadas en este trabajo, para poder determinar si son más efectivos que los extractos crudos.

Analizar la concentración de los principales metabolitos secundarios en cada extracto vegetal por otros procedimientos analíticos especializados.

Determinar la actividad biológica de otras partes o estructuras de las especies vegetales evaluadas en este trabajo para su aplicación en los bioensayos de toxicidad.

Evaluar la toxicidad de estas especies botánicas en otros estadios de desarrollo de *T. urticae* y *C. externa*.

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alali, F., Kaakeh, W., Bennett, G., & McLaughlin, J. (1998). Annonaceous acetogenins as natural pesticides: Potent toxicity against insecticide susceptible and-resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(3), 641-649.
2. Aslan, İ., Çalmaşur, Ö., & Şahin, F. (2006). Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 140-146.
3. Aslan, I., Özbek, H., Çalmaşur, Ö., & Şahin, F. (2004). Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 19(2), 167-173.
4. Benner, J. (1996). *Crop protection agents from higher plants-an overview*. In: Copping L. G. (Ed.). *Crop protection agent from nature: Natural products and analogues*. Cambridge, Royal Society of Chemistry. 217-229pp.
5. Bermúdez-Torres, K., Herrera, J. M., Brito, R. F., Wink, M., & Legal, L. (2009). Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *BioControl*, 54(3), 459-466.
6. Bernabé-Villanueva, G., Ríos-Alvarado, P., Bernabé-González, T., Pérez-Salgado, J., & Hernández-Castro, E. (2009). Actividad tóxica de extractos acuosos de guanábana *Annona muricata* L. (Annonaceae) en larvas de mosquito *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 48(1), 43-50.
7. Bobadilla, M., Zavaleta, G., Gil, F., Pollack, L., & Sisniegas, M. (2002). Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimolia* Miller “chirimoya” y *A. muricata* Linneaus “guanábana” sobre

larvas del IV estadio de *Anopheles* sp. *Revista Peruana de Biología*, 9(2), 64-73.

8. Calle, J., Espinosa, A. M., Núñez, C. P., Bautista, E., & Pinzón, R. (2004). Actividad insecticida del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (HBK) Griseb y sus componentes. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 33(2), 137-144.
9. Carhuapoma, M., López, S., Roque, M., Velapatiño, B., Bell, C., & Whu, D. (2009). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mintostachys mollis* Griseb "RUYAQ MUÑA". *Ciencia e Investigación*, 12(2), 83-89.
10. Cerna, E., Ail, C., Landeros, J., Sánchez, S., Badii, M., Aguirre, L., & Ochoa, Y. (2012). Comparación de la toxicidad y selectividad de insecticidas para la plaga *Bactericera cockerelli* y su depredador *Chrysoperla carnea*. *Agrociencia*, 46(8), 783-793.
11. Cerna, E., Landeros, J., Ochoa, Y.M., Luna, J., Vázquez, O., & Ventura, O. (2009). Tolerancia del ácaro *Tetranychus urticae* Koch a cuatro acaricidas de diferente grupo toxicológico. *Investigación y Ciencia*, 17(44), 4-10.
12. Cordeiro, E. M. G., Corrêa, A. S., Venzon, M., & Guedes, R. N. (2010). Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*, 81(10), 1352-1357.
13. Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press.
14. Dadé, M., Fioravanti, D. E., Schinella, G., & Tournier, H. (2009). Total antioxidant capacity and polyphenol content of 21 aqueous extracts obtained from native plants of Traslasierra valley (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(6), 529-539.

15. Damiani, N., Gende, L., Maggi, M., Palacios, S., Marcangeli, J., & Eguaras, M. (2011). Repellent and acaricidal effects of botanical extracts on *Varroa destructor*. *Parasitology Research*, 108(1), 79-86.
16. Daud, A., Habib, N., & Sánchez, A. (2008). Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(3), 1-11.
17. Devine, J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25(1), 74-100.
18. Díaz, M. C., Bulus, G. D., & Pica, Y. (2004). Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. Bogotá, Colombia.
19. Duso, C., Malagnini, V., Pozzebon, A., Castagnoli, M., Liguori, M., & Simoni, S. (2008). Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to Mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari Tetranychidae, Phytoseiidae). *Biological Control*, 47(1), 16-21.
20. Ehabsoft. Schneider-Orelli's formula. En: www.ehabsoft.com/ldpline/onlinecontrol.htm. Leído el 2 de febrero de 2016.
21. Erdemoglu, N., Ozkan, S., & Tosun, F. (2007). Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. *Phytochemistry Reviews*, 6(1), 197-201.
22. Fasulo, T. R., & Denmark, H. A. (2000). Twospotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Arachnida: Acari: Tetranychidae). University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS. 5pp.

23. Ferragut, F., & Santonja, M. (1989). Taxonomía y distribución de los ácaros del género *Tetranychus* Dufour 1832 (Acari: Tetranychidae), en España. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 15(3), 271-281.
24. Figueroa, N., Estevez, T., & Giménez, A. (1995). Propiedades antibacterianas, antimicóticas e insecticidas de aceites esenciales de especies vegetales aromáticas nativas. *BIOFARBO*, 4(4), 51-62.
25. Gallardo, A., Vásquez, C., Morales, J., & Gallardo, J. (2005). Biología y enemigos naturales de *Tetranychus urticae* en pimentón. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 74, 34-40.
26. Gandarillas, H. (1967). Observaciones sobre la biología reproductiva de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Saya. Sociedad de Ingenieros Agrónomos de Bolivia. La Paz: Bolivia.
27. Giraldo, A.S. (2013). Manejo alternativo de ácaros plagas. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 30(2), 34-44.
28. Gleiser, R., Bonino, M., & Zygadlo, J. (2007). Bioactividad de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* contra mosquitos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6(6): 350-351.
29. González, R., Flores, M., Guerrero, E., Mendoza, R., Cárdenas, A., Aguirre, L.A., & Cerna, E. (2013). Efecto insecticida de extractos vegetales, sobre larvas de *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) en laboratorio. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(2), 273-284.
30. Guzmán, B., Tenorio, R., Cruz, D. L., Espinal, C., Alvarado, J. A., & Mollinedo, P. (2015). Saponins from *Chenopodium quinoa* Willd and *Chenopodium pallidicaule* Aellen as biocontrollers of phytopathogen fungi and hemolysis agents. *Revista Boliviana de Química*, 32(1), 8-14.

31. Haramboure, M., Reguilón, C., Alzogaray, R., & Schneider, M.I. (2014). First record of *Chrysoperla asoralis* and *C. argentina* (Neuroptera: Chrysopidae) in horticultural fields of La Plata associated with the sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 73(3-4), 187-190.
32. Harder, M.J., Tello, V.E., & Giliomee, J.H. (2016). The acaricidal effect of ethanolic extracts of *Chenopodium quinoa* Willd. on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *African Entomology*, 24(1), 50-60.
33. Hatzold, T., Idmalfa, I., Gross, R., Wink, M., Hartmann, T., & Witte, L. (1983). Quinolizidine alkaloids in seeds of *Lupinus mutabilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(5), 934-938.
34. Hoss, R. (1999). *Recursos Botánicos con potencial Biocida: Conceptos Básicos y métodos de análisis*. 1^{era} Ed. Lima, Perú: Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA). 80pp.
35. Iannacone, J., Alvariano, L., La Rosa, R., & La Torre, M. I. (2014). Toxicidad aguda y crónica del metomilo y la *lantana camara* (verbenaceae) a cinco controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú. *Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego*, 8(1), 169-183.
36. Iannacone, J., Alvariano, L., La Torre, M.I, Guabloche, A., Ventura, K., Chero, J.,... & Carhuapoma, M. (2015). Toxicidad aguda y crónica de *Tagetes elliptica* (Asteraceae) y dimetoato sobre depredadores y parasitoides de plagas de importancia agrícola en Perú. *The Biologist*, 13(2), 329-347.
37. Iannacone, J., Alvariano, L., Soto, J. C., & Salcedo, C. (2007). Efecto toxicológico del “Sachayoco”, *Paullinia clavigera* (Sapindaceae) sobre *Daphnia magna* y sobre dos controladores biológicos de plagas agrícolas. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2, 15-25.

38. Iannacone, J., Ayala, H., Alvarino, L., Paredes, C., Villegas, W., Alomia, J., Santos, S., Nolazco, N., & Cruces, L. (2014). Riesgo ecotoxicológico acuático y terrestre del bioplaguicida catahua, *Hura crepitans* (Euphorbiaceae). *Revista de toxicología*, 30, 50-62.
39. Iannacone, J., & Alvarino, L. (2005). Selectividad del insecticida cartap empleando bioensayos con organismos no destinatarios. *Ecología Aplicada*, 4(1-2), 91-104.
40. Iannacone, J., & Alvarino, L. (2010). Toxicidad de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) a cuatro controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú. *Acta Zoológica Mexicana*, 26(3), 603-615.
41. Iannacone, J., & Lamas, G. (2002). Efecto de dos extractos botánicos y un insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 65, 92-101.
42. Iannacone, J., & Lamas, G. (2003). Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidóptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica*, 18(2): 95-105.
43. Iannacone, J., & Lamas, G. (2003). Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y Lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pinto* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. *Agricultura Técnica*, 63(4): 347-360.
44. Iannacone, J., & Lamas, G. (2003). Plantas biocidas usadas en el control de la polilla de la papa, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Peruana de Entomología*, 43, 79-87.
45. Iannacone, J., & Quispe, C. (2004). Efecto insecticida de dos extractos vegetales sobre el gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855

- (Coleoptera: Curculionidae) en Perú. *Revista Peruana de Entomología*, 44, 81-87.
46. Kim, S. S., & Yoo, S. S. (2002). Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *BioControl*, 47(5), 563-573.
47. Konigheim, B., Aguilar, J., Batallan, G., Almirón, W., & Contigiani, M. (2009). La flora nativa de Córdoba (Argentina) y su importancia en salud. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 66 Supl. 1, 35-41.
48. Laborda, R., Manzano, I., Gamón, M., Gavidia, I., Pérez-Bermúdez, P., & Boluda, R. (2013). Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 48, 106-110.
49. Leatemala, J., & Isman, M. (2004). Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. *International Journal of Tropical Insect Science*, 24(2): 150-158.
50. Liu, Y. Q., Liu, B., Ali, A., Luo, S. P., Lu, Y. H., & Liang, G. M. (2015). Insecticide toxicity to *Adelphocoris lineolatus* (Hemiptera: Miridae) and its nymphal parasitoid *Peristenus spretus* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(4):1779-85.
51. Llanos, C., Arango, D., & Giraldo, M. (2008). Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Annonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 34(1), 76-82.
52. Lock, D.U.O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. PUCP. Lima, 302pp.

53. Maciel, A. G., Rodrigues, J. S., Trindade, R. C., Silva, E. S., Sant'Ana, A. E., & Lemos, E. E. (2015). Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). *African Journal of Agricultural Research*, *10*(48), 4370-4375.
54. Madhumitha, G., Rajakumar, G., Roopan, S.M., Rahuman, A.A., Priya, K.M., Saral, A.M.,... & Kamaraj, C. (2012). Acaricidal, insecticidal, and larvicidal efficacy of fruit peel aqueous extract of *Annona squamosa* and its compounds against blood-feeding parasites. *Parasitology Research*, *111*(5), 2189-2199.
55. Monserrat, V.J., & Díaz-Aranda, L.M. (2012). Los estadios larvarios de los Crisópidos ibéricos (Insecta, Neuroptera, Chrysopidae), nuevos elementos sobre la morfología larvaria aplicables a la sistemática de la familia. *Graellsia*, *68*(1), 31-158.
56. Moreno-Limón, S., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., Hernández-Piñero, J. L., & Núñez-González, M. A. (2012). Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* L. var. aviculare) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. *Polibotánica*, *34*, 191-204.
57. Muñoz-Collazos, S., Soriano-Ferrufino, J., Collin, G. J., Jean, F. I., & Deslauriers, H. (1993). Variability in the composition of the essential oils of *Mintostachys andina* in central Bolivia. *Phytochemistry*, *33*(1), 123-127.
58. Muzquiz, M., Cuadrado, C., Ayet, G., de la Cuadra, C., Burbano, C., & Osagie, A. (1994). Variation of alkaloid components of lupin seeds in 49 genotypes of *Lupinus albus* from different countries and locations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *42*(7), 1447-1450.
59. Núñez, E. (1988). Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Peruana de Entomología*, *31*(1), 76-82.

60. Orozco, O. L., & Lentz, D. (2005). Poisonous plants and their uses as insecticides in Cajamarca, Perú. *Economic Botany*, 59(2), 166-173.
61. Ortega, N. C. C., Gutiérrez, S. P., Sánchez, M. A. Z., Rivera, J. R. A., & González, C. P. (2005). Actividad antifúngica de seis plantas sobre *Aspergillus flavus* Link. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 36(3), 21-26.
62. Peralta, E., Revelo, J., Villacres, E., & Cobos, R. (2014). Preparación de extractos vegetales y evaluación de su eficiencia en el control del nematodo del nudo de la raíz *Meloidogyne incognita* en tomate de árbol y naranjilla. Informe Técnico Anual-INIAP (Ecuador). 99-104pp.
63. Pérez-López, E. (2012). Plaguicidas botánicos: Una alternativa a tener en cuenta. *Fitosanidad*, 16(1), 51-59.
64. Ramírez, J. (2004). *Tolerancia de Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) al Óxido de Fenanbutin en combinación con tres sinergistas*. Memoria para optar el Título de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, Departamento de parasitología agrícola, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Coahuila, México.
65. Ramírez-Moreno, L., García-Barrios, L., Rodríguez, C., Morales, H., & Castro, A. (2001). Evaluación del efecto insecticida de extractos de plantas sobre *Leptophobia aripa elodia*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 60: 50-56.
66. Ravaomanarivo, L.H., Razafindraleva, H., Raharimalala, F., Rasaoahantaveloniaina, B., Ravelonandro, P., & Mavingui, P. (2014). Efficacy of seed extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata* (Annonaceae) for the control of *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). *Asian Journal of Tropical Biomedicine*, 4(10), 798-806.

67. Romo, D. C. (1989). *Prácticas de entomología agrícola*. Editum. Vol. 4. 221pp.
68. Ruffinengo, S., Eguaras, M., Floris, I., Faverin, C., Bailac, P., & Ponzi, M. (2005). LD₅₀ and repellent effects of essential oils from argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology*, 98(3), 651-655.
69. Ruitón, C. M. F., & Chipana, Y. M. (2001). Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb" Muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e Investigación*, 4(1), 23-39.
70. Russo, S., Grass, M., & Leicach, S. (2011). Efecto de extractos de *Chenopodium album* L. sobre los estados larval y adulto de *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae). *Idesia (Arica)*, 29(1), 51-57.
71. Sánchez-Ramos, I., & Castañera, P. (2000). Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), a mite of stored food. *Journal of Stored Products Research*, 37(1), 93–101.
72. Sarmah, M., Rahman, A., Phukan, A. K., & Gurusubramanian, G. (2009). Effect of aqueous plant extracts on tea red spider mite, *Oligonychus coffeae*, Nietner (Tetranychidae: Acarina) and *Stethorus gilvifrons* Mulsant. *African Journal of Biotechnology*, 8(3), 417-423.
73. Tava, A., & Odoardi, M. (1996). Saponins from *Medicago* spp.: chemical characterization and biological activity against insects. *Saponins Used in Food and Agriculture*, 97-109.
74. Torres, J. (2014). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de Luma chequen (molina) a. gray "arrayán" frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima-*

Perú. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Mayor de San Marcos.

75. Tsolakis, H., & Ragusa, S. (2008). Effects of a mixture of vegetable and essential oils and fatty acid potassium salts on *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(2), 276-282.
76. Urbaneja, A., Pascual-Ruiz, S., Pina, T., Abad-Moyano, R., Vanaclocha, P., Montón, H.,... & Jacas, J.A. (2008). Efficacy of five selected acaricides against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and their side effects on relevant natural enemies occurring in citrus orchards. *Pest management science*, 64(8), 834-842.
77. Valdés, M., Flores, H., Abreu, J., & de Zayas Izagüirre, E. (2009). Insecticidas botánicos como alternativas para el manejo de plagas en sistemas agroforestales. *Agricultura Orgánica*, 1, 24-26.
78. Villacrés, E., Peralta, E., Cuadrado, L., Revelo, J., Abdo, S., & Aldáz, R. (2009). *Propiedades y Aplicaciones de los Alcaloides del Chocho*. Quito, Ecuador: Grafistas.
79. Villegas-Elizalde, S., Rodríguez-Maciel, J., Anaya-Rosales, S., Sánchez-Arroyo, H., Hernández-Morales, J., & Bujanos-Muñiz, R. (2010). Resistencia a Acaricidas en *Tetranychus urticae* (Koch) asociada al cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México. *Agrociencia*, 44(1), 75-81.
80. Wink, M., Meißner, C., & Witte, L. (1995). Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. *Phytochemistry*, 38(1), 139-153.

81. Woldemichael, G. M., & Wink, M. (2001). Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2327-2332.
82. Zamora-Natera, J. F., Bernal-Alcocer, A., Ruiz-López, M., Soto-Hernández, M., Escalante-Estrada, A., & Vibrans Lindemann, H. (2005). Perfil de alcaloides de semillas de *Lupinus exaltatus* Zucc. (Fabaceae) y la evaluación antifúngica del extracto alcaloideo y lupanina contra fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 124-129.
83. Zar, H. (1996). *Biostatistical Analysis*. 3th Ed. Prentice-Hall. Inc. Upper Saddle River. New Jersey.
84. Zegarra, G. (2010). *Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi*. Tesis para optar el Título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias e Ingeniería. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
85. Zhang, Z. Q., & Jacobson, R. J. (2000). Using adult female morphological characters for differentiating *Tetranychus urticae* complex (Acari: Tetranychidae) from greenhouse tomato crops in UK. *Systematic and Applied Acarology*, 5(1), 69-76.

XI. ANEXOS

Anexo A: Material vegetal utilizado.



Figura 1A. Planta de *Minthostachys mollis*.



Figura 2A. Semillas de *Annona muricata*.



Figura 3A. Semillas de *Chenopodium quinoa* variedad Blanca de Junín.

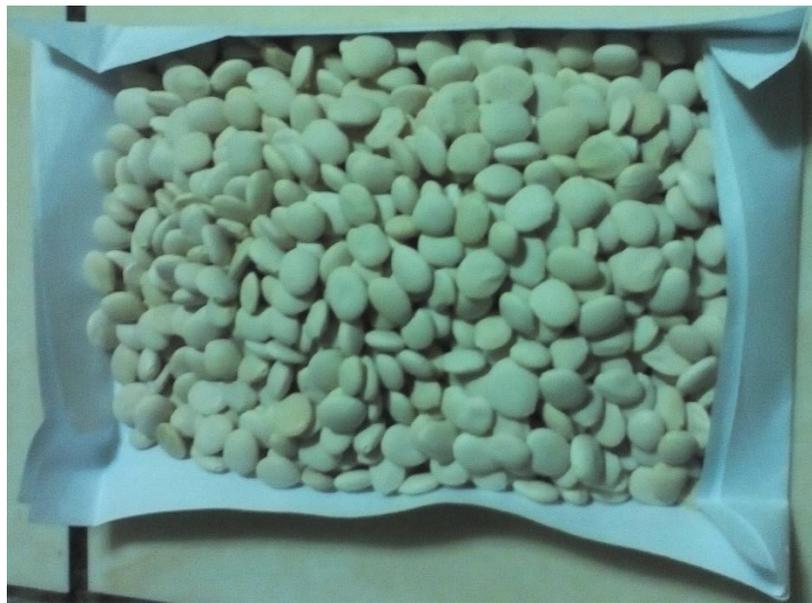


Figura 4A. Semillas de *Lupinus mutabilis*.

Anexo B: Certificación de las especies botánicas.

B1



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Facultad de Ciencias
Naturales y Matemática

CONSTANCIA

La muestra vegetal (hojas y tallo) recibida del Sr. Alegre Navarro, Alfonso, estudiante de la Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas ha sido estudiada y clasificada como: *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación Cronquist (1981):

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden : Lamiales

Familia : Lamiaceae

Género : *Minthostachys*

Especie : *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb

Nombre común: Muña



MARIA Y. LA TORRE ACUY
BIOLOGA
C.B.P. 6738

Determinado : MSc. María Isabel La Torre Acuy

Lima , 29 de abril del 2016

B2



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Facultad de Ciencias
Naturales y Matemática

CONSTANCIA

La muestra vegetal (semillas) recibida del Sr. Alegre Navarro, Alfonso, estudiante de la Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas ha sido estudiada y clasificada como: *Annona muricata* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación Cronquist (1981):

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Magnoliidae

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: Annona

Especie: *Annona muricata* L.

Nombre común: "Guanabana"




MARIA Y. LA TORRE ACUY
BIOLOGA
C.B.P. 5738

Det: MSc. María Isabel La Torre

Lima, 26 de Abril del 2016



CONSTANCIA

La muestra vegetal (semillas) recibida del Sr. Alegre Navarro, Alfonso, estudiante de la Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas ha sido estudiada y clasificada como: *Chenopodium quinoa* Willd. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación Cronquist (1981):

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium quinoa* Willd.

Nombre común: "Quinoa"



María Y. La Torre Acuy
MARIA Y. LA TORRE ACUY
BIOLOGA
C.B.P. 6738

Det: MSc. María Isabel La Torre
Lima, 26 de Abril del 2016



CONSTANCIA

La muestra vegetal (semillas) recibida del Sr. Alegre Navarro, Alfonso, estudiante de la Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas ha sido estudiada y clasificada como: *Lupinus mutabilis* Sweet y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación Cronquist (1981):

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Lupinus*

Especie: *Lupinus mutabilis* Sweet

Nombre común: "Tarwi"



Maria Y. La Torre
MARIA Y. LA TORRE ACUY
BIOLOGA
C.B.P. 5738

Det: MSc. María Isabel La Torre

Lima, 26 de Abril del 2016

Anexo C: Hembras adultas de *Tetranychus urticae*
“arañita roja”.



Figura 5A. Hembra adulta de *T. urticae* observada en el microscopio



Figura 6A. Hembras adultas de *T. urticae* en el envés de una hoja

Anexo E: Ejemplar macho de *T. urticae*.



Figura 7A. Vista lateral de cuerpo entero del macho adulto de *T. urticae*.

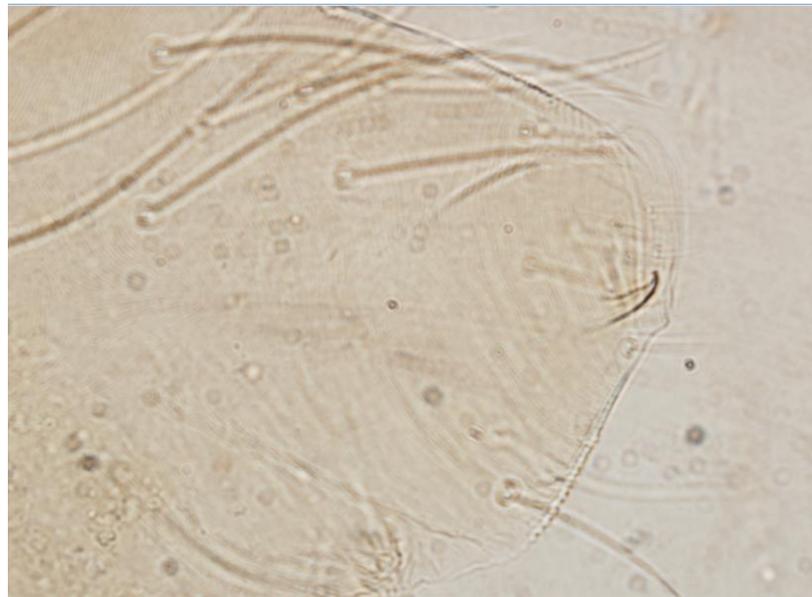


Figura 8A. Aedeagus de *T. urticae* situado en la parte posterior del cuerpo.

Anexo F: Diagrama de flujo del protocolo experimental de extracción.

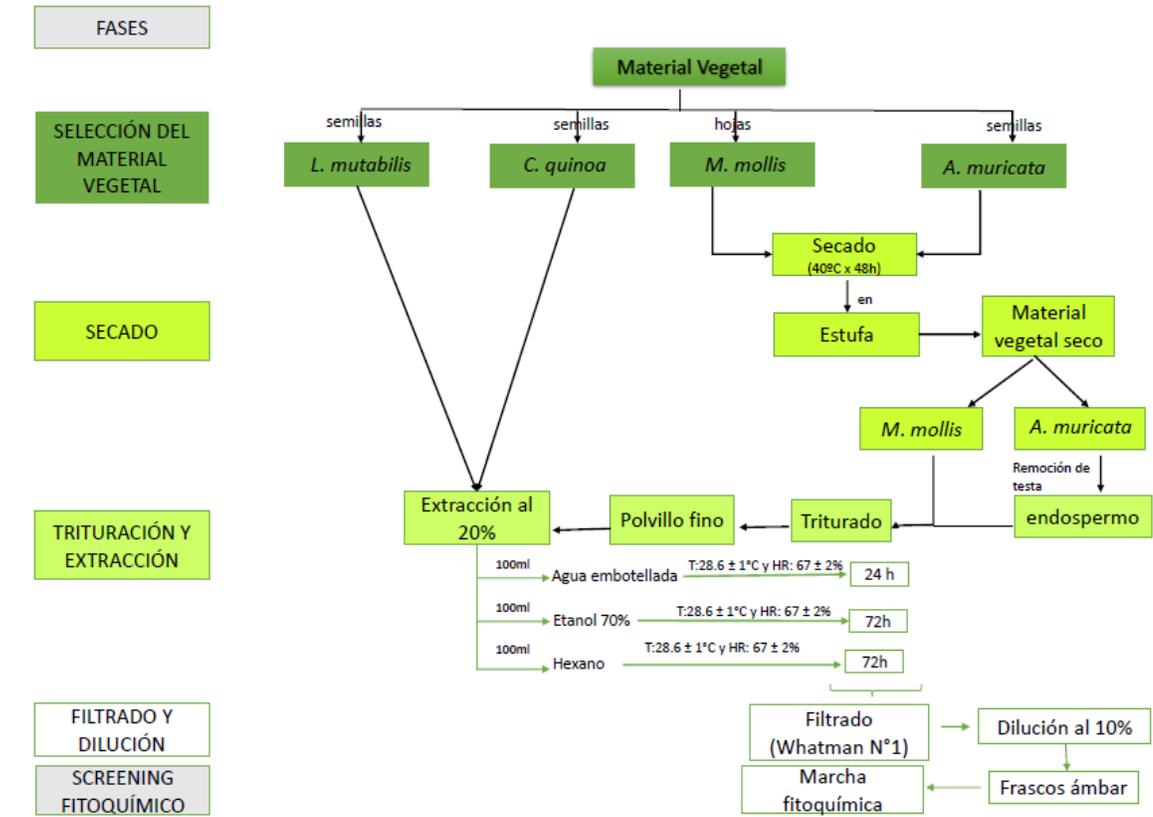


Figura 9A. Diagrama de flujo del protocolo experimental de las diferentes extracciones.

Anexo G: Resultados del screening fitoquímico.

Lima, 26 de Abril del 2016

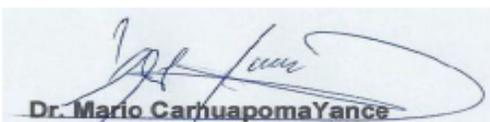
CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS EVIDENCIADOS EN LA MARCHA FITOQUÍMICA

Por medio del presente documento se hace constar que el Sr. Alfonso Alegre Navarro, egresado de la carrera de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma (URP), como parte de su Tesis titulada: "Efecto tóxico del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Minthostachys mollis*, *Annona muricata*, *Lupinus mutabilis* y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) y *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)", ha dejado en frascos de color ámbar los extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de las especies botánicas: *Minthostachys mollis* "Muña", *Annona muricata* "Guanábana", *Lupinus mutabilis* "Tarwi" y *Chenopodium quinoa* "Quinoa" para su análisis respectivo mediante un tamizaje fitoquímico de los principales compuestos presentes en los mencionados extractos.

RESULTADO:

EXTRACTO/REACTIVO	DRAGENDORFF	SHINODA	LIEBERMANN-BURCHARD	TRICLORURO FERRICO	PRODUCCION DE ESPUMA
Muña Acuosa	-	****	-	****	++
Muña Etanólica	-	++	-	****	++
Muña Hexánica	-	-	++	+	-
Guanábana Acuosa	-	-	-	-	+
Guanábana Etanólica	+	-	-	-	+
Guanábana Hexánica	++	-	+	-	-
Quinoa Acuosa	-	-	-	-	+++
Quinoa Etanólica	+	+	-	++	++
Tarwi Acuosa	+++	+	-	++	+/-
Tarwi Etanólica	+	++	-	++	+
Grupo Funcional	alcaloides	flavonoides	esteroides	grupos fenólicos	saponinas

Las muestras analizadas en general indicaron principalmente la presencia de alcaloides, flavonoides, esteroides, grupos fenólicos y saponinas.



Dr. Mario Carhuapoma Yance

Químico Farmacéutico
Profesor UNMSM

Anexo H: Mortalidad en *T. urticae* y *C. externa*.

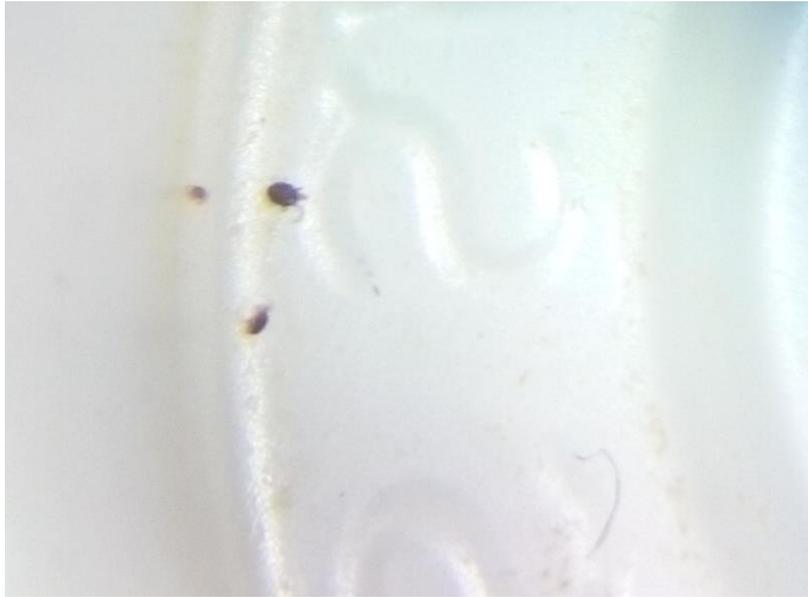


Figura 10A. Mortalidad de hembras adultas de *T. urticae* en los bioensayos



Figura 11A. Mortalidad de las larvas del primer instar de *C. externa* en los bioensayos.