

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

UNIDAD DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN AGROECOLOGÍA TROPICAL ANDINA

Tesis previa a la obtención del título de:

MAGISTER EN AGROECOLOGÍA TROPICAL ANDINA

TEMA:

Evaluación del efecto acaricida del aceite esencial de congona, (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav.) en plantas de frutilla (*Fragaria vesca* L.)

AUTORA:

SANTACRUZ ENDARA GIOVANNA PAOLA

DIRECTOR:

QUIM. PACO NORIEGA PhD

Quito, Julio del 2015

**DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL
TRABAJO DE GRADO**

Yo, Giovanna Paola Santacruz Endara, autorizo a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

Además, declaro que la presente investigación ha sido desarrollada íntegramente por la autora. Los conceptos desarrollados, análisis realizados, conclusiones y recomendaciones generadas en el presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Quito, julio del 2015

Giovanna Paola Santacruz Endara

1713143285

DEDICATORIA

Por todo el trabajo, esfuerzo, dedicación y paciencia en cada momento, y en cada paso dado durante el camino que me lleva a la culminación de mis estudios, dedico este trabajo a mi madre, quien ha hecho todo en la vida para que yo pueda lograr mis sueños, por motivarme y siempre darme su mano. A mi familia, a mis amigos y a mi compañero de viaje...

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento no basta para expresar toda la gratitud a cada una de las personas, que con un granito de arena contribuyeron a formar este mar de conocimientos, y me llevaron a la conclusión de mis metas.

Agradezco a Dios, por permitirme cada día despertar, por darme el valor y la fuerza de siempre seguir adelante y no desfallecer.

A Rosita, quien siempre estuvo junto a cada uno de los maestrantes, sin dejarnos desfallecer, empujándonos hacia la meta.

Al Quim. Paco Noriega. PhD quien se convirtió en mucho más que un director de tesis, se convirtió en un amigo que con sus instrucciones ha guiado todo el trabajo y que se emocionó con cada resultado de la investigación.

Al Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI) de la Universidad Politécnica Salesiana y a todo su personal, por su disponibilidad y apoyo durante la presente investigación, en especial y con mucho cariño a Erika, quien me apoyó en los momentos más difíciles y a Eddy quien con su paciencia pudo explicarme cada método a ser resuelto.

A cada uno de mis amigos, en especial a ti Andrés, que a pesar de las dificultades siempre encontraste la forma de apoyarme con esos amigos diminutos que se escapan a la vista del ojo humano.

A ti, Diego, por haber aguantado tantos malos ratos y haberme siempre impulsado a cumplir con mis propias promesas.

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN.....	13
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
1.2.	OBJETIVOS.....	16
	Objetivo General	16
	Evaluar la acción acaricida, del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> (Ruiz&Pav.) sobre <i>Tetranychus urticae</i> , en plantas de frutilla (<i>Fragaria vesca</i>).	16
	Objetivos Específicos.....	16
	• Identificar las concentraciones de los extractos del aceite esencial de las hojas de <i>Peperomia inaequalifolia</i> (Ruiz&Pav.) que provocan el mayor índice de mortalidad de <i>Tetranychus urticae</i>	16
	• Determinar la dosis letal, sobre <i>Tetranychus urticae</i> presente en plantas de frutilla (<i>Fragaria vesca</i>).	16
1.3.	HIPÓTESIS	17
a.	Los aceites esenciales de congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>) poseen actividad acaricida, contra <i>Tetranychus urticae</i> en cultivos de frutilla (<i>Fragaria vesca</i>).....	17
b.	Los aceites esenciales de congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>) no poseen una actividad acaricida, contra <i>Tetranychus urticae</i> en cultivos de frutilla (<i>Fragaria vesca</i>).	17
	CAPÍTULO I.....	18
2.	FUNDAMENTO TEÓRICO	18
2.1.	El problema de la araña roja <i>Tetranychus urticae</i>	18
2.2.	Los inconvenientes ambientales y de salud provocados por el uso de insecticidas.	24
2.3.	Los compuestos naturales con actividad insecticida	27
2.4.	Congona <i>Peperomia inaequalifolia</i> (Ruiz&Pav.)	29
	CAPÍTULO II.....	33
3.	FUNDAMENTO METODOLÓGICO	33
3.1.	Zona de Recolección y material vegetal	33
3.2.	Destilación del aceite	34
3.3.	Purificación del aceite esencial	34
3.4.	Análisis de composición química del aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i>	36
3.5.	Crianza y mantenimiento de <i>Tetranychus urticae</i>	37

3.6.	Pruebas de efecto insecticida: <i>in vitro</i> , producto a distintas concentraciones...	38
3.7.	Pruebas del efecto insecticida por aspersión	40
3.8.	Análisis Estadístico	42
CAPÍTULO III		43
4.	RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN	43
4.1.	Composición química del aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i>	43
4.2	Análisis de las técnicas de aplicación y concentraciones del aceite esencial ensayadas.....	44
4.2.	Comparación bajo el método <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i> vs el extracto de Miristicina.....	46
5.	DISCUSIÓN	48
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	51
7.	BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Composición química del aceite esencial de <i>Peperomia inaequalifolia</i>	43
CUADRO No. 2	Análisis de las técnicas de aplicación y concentraciones del aceite esencial de la congona.....	44
CUADRO No. 3	Análisis de Tukey para concentraciones del aceite esencial.....	45
CUADRO No. 4	Anova Simple que muestra las diferencias entre iguales concentraciones del aceite esencial de la congona y la miristicina.....	46
CUADRO No. 5	Análisis de Tukey entre las concentraciones de la congona versus la solución estándar de miristicina.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1 <i>Tetranychus urticae</i> hembra.....	19
FIGURA No. 2 <i>Tetranychus urticae</i> hembra.....	20
FIGURA No. 3 <i>Tetranychus urticae</i> macho.....	20
FIGURA No. 4 <i>Tetranychus urticae</i> macho.....	21
FIGURA No. 5 Planta de congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	31
FIGURA No. 6 Aceite esencial de congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	35
FIGURA No. 7 Ensayo <i>in vitro</i> del efecto acaricida del aceite esencial de la congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	39
FIGURA No. 8 Estándar de miristicina.....	40
FIGURA No. 9 Ensayo por aspersion del efecto acaricida del aceite esencial de la congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>).....	41
FIGURA No. 10 Índice de mortalidad de ácaros por efecto del método <i>in vitro</i> y por aspersion.....	45
FIGURA No. 11 Índice de mortalidad de ácaros por efecto del aceite esencial de congona (<i>Peperomia inaequalifolia</i>) y por efecto del estándar de miristicina.....	47

RESUMEN

Evaluación del efecto acaricida del aceite esencial de congona, (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav.) en plantas de frutilla (*Fragaria vesca* L.)

La búsqueda de nuevas alternativas y compuestos ambientalmente inocuos y que generen mínima resistencia, como los productos naturales y metabolitos de origen vegetal, constituye una importante línea de investigación en el control integrado de plagas y vectores.

En el Ecuador, una causa muy importante de la pérdida de productividad en los cultivos, es la presencia del ácaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), siendo necesario el uso de agroquímicos. Sin embargo, su uso inadecuado ha provocado a largo plazo la disminución de la productividad del suelo, erosión y problemas en las poblaciones aledañas a nivel de su salud como afecciones respiratorias y cutáneas.

En este trabajo se investigó el aceite esencial procedente de las hojas de la planta *Peperomia inaequalifolia*, como un método alternativo del control de plagas, en diferentes concentraciones, siendo las utilizadas para los análisis estadísticos las de 0.5%, 0.25% y 0.125%.

Se utilizaron dos técnicas para determinar la efectividad acaricida del aceite esencial. La primera fue bajo condiciones de laboratorio por medio de la comparación de los volátiles del aceite esencial en diferentes concentraciones, para determinar la dosis letal sobre los ácaros. Después se realizó una comparación con un estándar de miristicina (Sigma Aldrich), obteniendo como resultado una menor mortalidad en los ácaros, comprobando que la sinergia de los compuestos del aceite esencial es más eficaz. La otra técnica se realizó por medio de la aspersión directa en la planta infestada, en iguales concentraciones.

Después de realizar el Anova simple se determinó que existieron diferencias significativas entre los dos métodos propuestos. La conclusión más importante de este

trabajo es la eficiencia en dosis muy bajas del aceite esencial de congona como un método alternativo para el control efectivo de ácaros.

Palabras Clave: *Tetranychus urticae*, *Peperomia inaequalifolia*, concentraciones, acaricida.

ABSTRACT

Evaluation of acaricide effect of essential oil congona (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav .) on strawberry plants (*Fragaria vesca* L.)

The search for new alternatives and environmentally friendly compounds, such as natural products and metabolites of plant origin, which generate minimal damage, is an important line of research in integrated pest and vector control.

In Ecuador, a major cause of lost productivity in crops is the presence of the mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). The use of chemicals, such as pesticides, is deemed to be needed to combat this mite to circumvent the loss in productivity.

However, the inappropriate use of agrochemicals has led to long-term decline in soil productivity and erosion problems in the surrounding towns affecting levels of community health, such as respiratory and skin conditions.

This paper investigated the essential oil from the leaves of the *Peperomia inaequalifolia* plant, as an alternative method of pest control, in different concentrations, being used for the statistical analysis of 0.5%, 0.25% and 0.125%.

Two techniques were used to determine the concentration. Two techniques were used to determine the concentration, in vitro technique. It was considered volatile essential oil at different concentrations. After a comparison with a standard substance miristicina (Sigma Aldrich) it was performed, resulting in lower mortality in the mites. The results prove that the synergy of essential oil compounds is most effective in comparison to the use of miristicina.

The second technique was by direct spray in the infested plant at the same level of concentrations. After performing the simple Anova, it was determined that there were significant differences between the two proposed methods.

In this research, the efficiency at very low Congona essential oil as an alternative method for effective control of mites dose is concluded.

Keywords: *Tetranychus urticae*, *Peperomia inaequalifolia*, acaricide, efficiency

1 INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se considera a nivel mundial aproximadamente que el veinte al cuarenta por ciento de las cosechas agrícolas potenciales se pierden en el propio campo por la acción destructora de plagas (insectos, nematodos, moluscos, roedores) y enfermedades (causadas por hongos, virus y bacterias) (Suquilanda, 1999). Ante esta situación, la solución ha sido con frecuencia el uso de plaguicidas para un exterminio total de insectos, agentes patógenos, y plantas indeseables, lo que en la práctica nunca ocurre de una manera 100% eficaz.

Actualmente a nivel mundial se comercializan 15 mil millones de dólares en plaguicidas, el 80% de las ventas es realizado por 24 compañías transnacionales y cinco de ellas controlan la mitad del comercio mundial. Según estudios del Ministerio de Agricultura y Ganadería, el Ecuador importa anualmente alrededor de 7 millones de kilogramos de plaguicidas a un costo de 31 millones de dólares, fuera de los que entran por contrabando y que se calculan en unos 5 millones de dólares adicionales (Suquilanda, 1999).

Los esfuerzos humanos por vencer a las plagas en la carrera del cultivo de productos alimentarios son tan complejos que no basta confiar en el uso intensivo de las sustancias químicas para conseguir los efectos esperados, de ahí que es inútil tratar de controlar las plagas a largo plazo con los denominados agroquímicos, en un esfuerzo por vencerlas en la carrera evolucionaría sobre el alimento que cultivamos, sin llegar a causar graves efectos tóxicos sobre el medio ambiente y la salud de los productores y consumidores (Suquilanda, 1999).

En el ánimo de contribuir con los agricultores cuyas cosechas se ven afectadas por la agresividad de los insectos-plagas y los agentes patógenos, al mismo tiempo que se promueve una producción agrícola no contaminada y sana, en la presente investigación se ponen a consideración algunos elementos para el diseño de estrategias alternativas “al uso de los agroquímicos”, basadas en el manejo ecológico de los insectos plaga.

Varios de los cultivos de interés agrícola en el país sufren daños por la presencia del acaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), siendo su control realizado por elementos químicos que a largo plazo causan resistencia; razón por la cual se busca métodos alternativos del uso de una especie de planta propia de la zona. En la actualidad, *Tetranychus urticae* es una de las plagas más importantes en cultivos bajo invernadero (Malais & Ravensberg, 1992), ya que éstos alteran los procesos fisiológicos de las plantas como la fotosíntesis y la respiración, y afectan el crecimiento, la floración y la fructificación en las plantas que infestan (Monetti, 1999). Densidades entre 10 y 50 ácaros por hoja de rosa causan una reducción del largo del tallo de la flor del 17% y 26%, respectivamente, cuando se comparan con plantas que no tienen presencia de ácaros fitófagos (Landeros, *et al.*, 2004)

En el Ecuador, varios de los cultivos se ven afectados por la presencia de *Tetranychus urticae*, un ácaro, que posee varios enemigos naturales como ácaros fitoseidos y chinches depredadores. Todos estos organismos contribuyen a reducir las poblaciones de ácaros, pero no acaban de ejercer un control total, especialmente cuando dichas poblaciones experimentan un incremento elevado en poco tiempo.

En años pasados, no constituían una amenaza en el sector agrícola a pesar de su asociación con los cultivos desde prácticamente el inicio de la agricultura hace aproximadamente 12000 años en registros históricos (Badii, *et al.*, 2003). Esta situación se debe posiblemente a que sus poblaciones se encontraban reguladas de forma natural dentro del agroecosistema por la presencia de enemigos naturales, es decir, en este caso, por los ácaros depredadores de la familia Phytoseiidae. El desequilibrio en la población se debe al uso irracional, el abuso y el mal uso de los plaguicidas orgánicos sintéticos a partir de la Segunda Guerra Mundial en el siglo XX (Badii, *et al.*, 2003). Como consecuencia de esta intervención de origen antropocéntrico, las arañas rojas se convirtieron en plagas destructivas en agricultura. Los individuos Tetranychidae constituyen en la actualidad uno de los grupos más importantes de ácaros plaga en el sector agrícola (Badii, *et al.*, 2010).

El grupo de insectos controladores biológicos, proporcionan una valiosa regulación de plagas, servicio del ecosistema que puede verse comprometido en sistemas agrícolas donde su supervivencia se reduce a través de la exposición a los pesticidas. Los sistemas de agricultura sustentable deben tener un equilibrio entre las necesidades para la

producción y el mantenimiento de la biodiversidad de la cual el sistema agrícola depende, y el manejo de los riesgos y beneficios del uso de pesticidas (Badii, *et al.*, 2010).

La acumulación de pruebas de los perjuicios que provocan las sustancias químicas artificiales a la salud humana y al medio ambiente ha hecho que la comunidad internacional concentre su atención en una categoría de sustancias, denominadas contaminantes orgánicos persistentes (COPs). Los COPs se caracterizan por la persistencia, su resistencia a la degradación en distintos medios (aire, agua y sedimentos) durante meses y hasta decenios; la acumulación biológica- la capacidad para acumularse en el tejido graso de todos los seres vivos en niveles más altos que los que se encuentran en el entorno; y el potencial de traslado a grandes distancias- la posibilidad de desplazarse a grandes distancias de la fuente de origen de la emisión, usando distintos medios (aire, agua y especies migratorias).

Estas sustancias químicas pueden alterar los sistemas endocrinos, suprimir funciones del sistema inmunológico y provocar alteraciones en la reproducción y el desarrollo. La evidencia de los efectos dañinos de algunos COPs, en los que se encuentran varios pesticidas, en poblaciones enteras de organismos vivos demuestra la amenaza que significan para la diversidad biológica y su potencial de alteración de los ecosistemas. Generalmente los organismos situados en el tope de la cadena alimentaria, incluido los seres humanos, registran las mayores acumulaciones en el cuerpo a lo largo de su vida (PNUMA, 2000).

Se han llevado a cabo numerosas investigaciones en distintas poblaciones agrícolas del mundo, que han estudiado los síntomas asociados con la exposición a plaguicidas. Los estudios arrojaron resultados alarmantes sobre la diversidad de productos agrícolas y de síntomas mayores, lo que nos indica la multiplicidad de riesgos a la salud de acuerdo con diversas condiciones de trabajo. Así, se registró en Gaza, Palestina que un 87.5 % de los trabajadores refirieron uno o más síntomas, como quemadura en ojos y cara, picazón e irritación de piel, disnea y dolor de tórax, rash en piel, mareo y cefalea (Mourand, 2015). En Río de Janeiro, Brasil, se reportó que un 62 % de las personas estudiadas presentaron síntomas como cefalea, náusea, disminución de la visión, vértigo, irritación de la piel, pérdida del apetito, temblor, vómitos, diarrea, dolor en el pecho, entre otros síntomas (Fernández & Roma, 2004). En Sinaloa, México, se identificó que 56.1 % informó de uno

a tres síntomas (cefalea, dolor estomacal, dolor muscular) (Palacios-Nava & Moreno, 2004). En otro estudio de Palacios, después de la exposición a los plaguicidas, se observó una prevalencia entre 27 y 35 % de síntomas agudos dentro de las primeras 24 horas; y persistentes, 15 días después, de cansancio o debilidad, cefalea, dolor muscular, visión borrosa, ojos irritados, mareo o vértigo. En Argentina, los síntomas fueron descritos de la siguiente manera: 12.3 y 20.2 %, en floricultores y cultivadores de plantas, respectivamente; los más frecuentes fueron lagrimeo, tos y expectoración, visión borrosa, rinorrea, vómito y diarrea (Matos, *et al.*, 1988).

Por estas razones, se buscan otras alternativas, como el uso de aceites esenciales de plantas, que se constituyen como recursos botánicos de compuestos alternativos a los pesticidas, siendo usados generalmente por su baja toxicidad para los animales de sangre caliente, su alta volatilidad y su toxicidad para las plagas de plantas (Li, *et al.*, 2007)

La congona (*Peperomia inaequalifolia*) es una planta que pertenece a la familia Piperaceae, posee aplicaciones etnobotánicas como cicatrizantes tópicos, tranquilizante, analgésico y también ha sido usada contra la otitis y conjuntivitis (Pino, 2004). Además, al igual que otras especies de su familia, posee propiedades insecticidas, siendo usada como repelente en cultivos, al ser sembrada junto a los mismos (Pino, 2004).

1.2. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la acción acaricida, del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* (Ruiz&Pav.) sobre *Tetranychus urticae*, en plantas de frutilla (*Fragaria vesca*).

Objetivos Específicos

- Identificar las concentraciones de los extractos del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* (Ruiz&Pav.) que provocan el mayor índice de mortalidad de *Tetranychus urticae*.
- Determinar la dosis letal, sobre *Tetranychus urticae* presente en plantas de frutilla (*Fragaria vesca*).

1.3. HIPÓTESIS

- a.** Los aceites esenciales de congona (*Peperomia inaequalifolia*) poseen actividad acaricida, contra *Tetranychus urticae* en cultivos de frutilla (*Fragaria vesca*).

- b.** Los aceites esenciales de congona (*Peperomia inaequalifolia*) no poseen una actividad acaricida, contra *Tetranychus urticae* en cultivos de frutilla (*Fragaria vesca*).

CAPÍTULO I

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. El problema de la araña roja *Tetranychus urticae*

Tetranychus urticae Koch es una plaga cosmopolita y muy polífaga que ataca a numerosos cultivos de importancia económica, alrededor de 150 hospederos a nivel mundial, como los cultivos hortícolas, extensivos (algodón, maíz, etc.), cítricos, vid, frutales y ornamentales (Moraes & Flechtmann, 2008).

Son ácaros relativamente grandes, de color rojo, naranja o verde. Poseen una alta tasa de reproducción, producen mucha telaraña y los que entran en diapausa son las hembras ya fertilizadas.

Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia

Filo Arthropoda

Clase: Arachnida

Subclase: Acari

Orden: Prostigmata

Familia: Tetranychidae

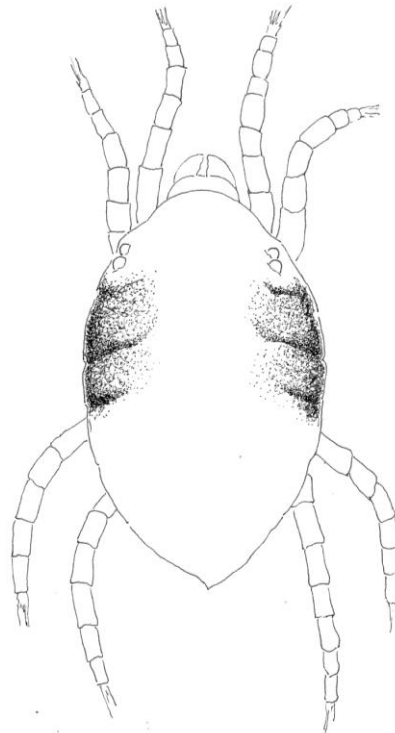
Género: *Tetranychus*

Especie: *T. urticae* Koch (1836).

2.1.1. Biología y Ecología

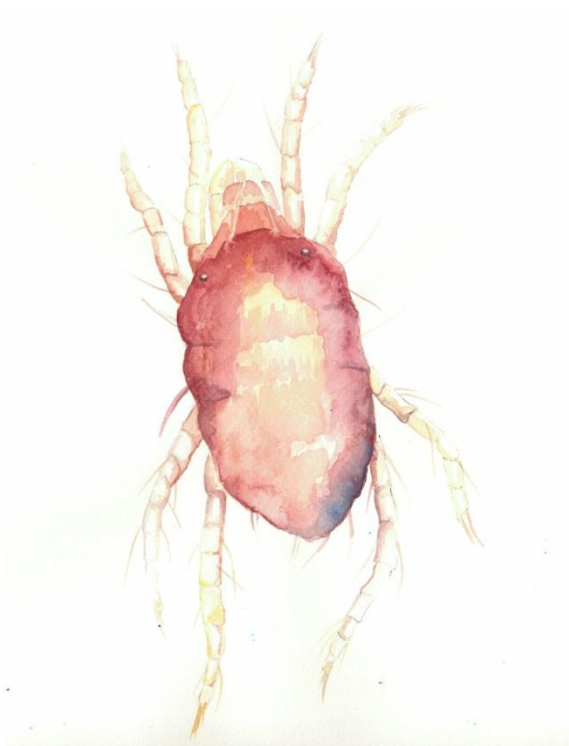
Tetranychus urticae es un ácaro fitófago con alto potencial reproductivo, ciclo de vida corto, tasa de desarrollo rápido y capacidad para dispersarse rápidamente. Su tamaño oscila entre 0,4 y 0,6 mm, en el caso de la hembra adulta, que tiene un aspecto globoso (Figura 1 y 2). El macho es más pequeño y aperado (Figura 3 y 4). Este ácaro puede presentar diferentes características morfológicas, sobre todo su color puede variar en respuesta a su régimen alimenticio, factores ambientales, planta huésped y estado de desarrollo.

FIGURA 1.



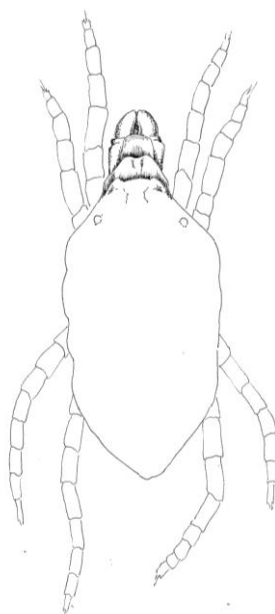
Hembra *T. urticae* vista dorsal esquemático
Elaboración: Autora y Jean Pierre Reinoso

FIGURA 2



Hembra *T. urticae*, vista dorsal a detalle.
Elaboración: Autora y Jean Pierre Reinoso

FIGURA 3



Macho *T. urticae*, vista dorsal esquemática.
Elaboración: Autora y Jean Pierre Reinoso

FIGURA 4.



Macho *T. urticae*, vista dorsal a detalle
Elaboración: Autora y Jean Pierre Reinoso

Cada hembra adulta puede poner unos 100-120 huevos, con una tasa de 3-5 huevos por día. Sin embargo, estas cifras pueden variar según la cantidad y la calidad del alimento, o las condiciones ambientales (Zhang, 2003). *Tetranychus urticae* en condiciones óptimas (~ 30°C), tiene un ciclo de vida corto que consta de cinco fases de desarrollo (huevo, larva, protoninfa, deutoninfa y adulto) (Herbert, 1981).

Este ácaro tiene alta tendencia agregativa y desarrolla sus colonias en el envés de las hojas donde producen tela en abundancia que les protegen de los depredadores, acaricidas y condiciones climáticas adversas. Además, la tela también se utiliza como mecanismo de dispersión. En condiciones de escasez de alimento o cuando la planta está fuertemente infestada, los individuos se acumulan en el extremo de la hoja o del brote y después por corriente de aire o por gravedad son transportados a otra planta (Argolo, 2012).

Temperaturas elevadas y condiciones de baja humedad favorecen el incremento de sus poblaciones que pueden alcanzar niveles perjudiciales y causar graves daños a las plantas hospederas (Argolo, 2012).

Tienen glándulas de seda en el tarso de los palpos. Todos los estadios activos pueden producir telaraña. Se ha visto que existe una correlación positiva entre la cantidad de telaraña producida por los ácaros y la tasa de reproducción por ácaro.

La función de la telaraña en la biología de Tetranychidae:

1. Proteger las masas de huevecillos.
2. Protección contra enemigos naturales.
3. Protección contra factores o condiciones adversas al ambiente.
4. Ayuda en la construcción de la colonia y maximizar el uso de la superficie de la hoja.
5. Protege estadios que acaban de mudar, estos se desprenden de la exuvia bajo protección de la telaraña.
6. Dispersión.
7. Contiene la feromona sexual, la usa el macho para reclamar a las hembras.
8. Confiere a los machos ventajas competitivas, ganan aquellos que producen más telaraña, por ejemplo *Tetranychus urticae* produce mucha telaraña y establece su colonia y gana a *Panonychus ulmi* ya que éste no puede establecer su colonia sobre manzana.
9. Movimiento de tipo masivo: cuando la planta está fuertemente infestada el ácaro se mueve hacia arriba de las plantas y produce una masa de telaraña en el punto terminal de la planta. Situaciones de viento un poco fuertes o insectos o pájaros que vuelan y tocan estas colonias de ácaros y mueven estas masas de ácaros.

2.1.2. Hibernación y diapausa.

Algunas especies poseen diapausa en el estadio de huevo, estas especies ponen los huevecillos en otoño y estos eclosionan en la primavera siguiente. Los huevos diapáusicos tienen una cubierta de cera en la parte dorsal y ventral (para prevenir la desecación o la deshidratación de los huevos), pero los huevos normales o no-diapáusicos tienen cera sólo en la superficie dorsal. Ejemplos de huevecillos con cáscara dura se encuentran en los géneros *Panonychus Bryobia* y algunos *Oligonychus*. En el caso de *Tetranychus*, la diapausa sucede en el estadio de hembra adulta. Las causas de la inducción de diapausa principalmente son hormonales pero los estímulos externos son por fotoperiodo, temperatura, baja cantidad de alimentos y % de HR (Badii *et al.*, 2003).

2.1.3. Control químico

El desarrollo de métodos de control biológico se ha debido en gran medida, a la resistencia que presenta a diferentes tipos de plaguicidas. Además, en muchos casos las poblaciones se incrementan exponencialmente tras la aplicación de determinados plaguicidas, en especial, piretroides y algunos fosforados. En general, se realiza el control químico de la plaga, con avermectina, amitraz, bifentrin, bromopropilato, tetradifón más dicofol, fenbutestán y hexitiazox (Argolo, 2012).

2.1.4. Control biológico

En la actualidad es conocido el fitoseido *Phytoseilus persimilis*, que posee una capacidad depredadora sobre la araña roja en diferentes cultivos, en especial en invernadero, pero tiene una limitante de temperatura no mayor a los 32°C. Otro representante, que resiste altas temperaturas, es el fitoseido *Amblyseius californicus*, cuyo único inconveniente es que abandona la planta en el momento que ya no existen los ácaros presa (Argolo, 2012).

2.1.5. *Tetranychus urticae* en *Fragaria vesca*

La plaga de mayor importancia económica de la fresa en varios lugares alrededor del mundo, es la araña roja, *Tetranychus urticae*. Esta especie se alimenta de la savia de la planta provocando la reducción de su vigor, calidad y rendimiento (Klamkowski, *et al.*, 2007). Su control se basa en la aplicación calendarizada de acaricidas. Sin embargo, la plaga ha mostrado una capacidad de resistencia muy alta, en lapsos cortos de tiempo (Price, *et al.*, 2000).

La gran capacidad de resistencia se debe a los siguientes factores: 1) amplia variación genética heredable en la respuesta a acaricidas (Stumpf & Nauen, 2002); 2) elevada tasa reproductiva, dado que cada hembra puede depositar 50 a 100 huevecillos viables durante su vida; 3) tiempo generacional de 7 a 14 días dependiendo de la temperatura (Shaefers & Shanks, 1991).

2.2. Los inconvenientes ambientales y de salud provocados por el uso de insecticidas.

Los esfuerzos humanos por vencer a las plagas en la carrera del cultivo de productos alimentarios ha sido tan complejo, que no basta confiar en el uso intensivo de las sustancias químicas para conseguir los efectos esperados, como consecuencia es inútil el tratar de controlar las plagas a largo plazo con los denominados agroquímicos, en un esfuerzo por vencerlas en la carrera evolutiva sobre el alimento que cultivamos (Suquilanda, 1999).

El uso de plaguicidas en la producción agrícola en el país es tan grave que se han reportado varios casos alarmantes de intoxicaciones por ejemplo en Manabí se registraron 260 casos; Pichincha 165 casos, Carchi 143 y El Oro con 137 casos, únicamente en la década de los noventa. De acuerdo a un estudio realizado por Fundación Natura entre cien mil habitantes, se estableció que la población más afectada es la del Carchi, con una tasa de

intoxicación de 99.3 por cada 1000 habitantes, porcentaje alto debido a que la mayoría de su población se dedica a tareas agrícolas (Suquilanda, 1999).

Otro problema suscitado a raíz del uso de insecticidas es la resistencia a los mismos. El primer reporte documentado de resistencia se realizó 100 años atrás, involucrado con el sulfuro. Después, unos casos esporádicos de resistencia fueron reportados en los años 1940 (Forgash, 1984). La introducción de insecticidas orgánicos sintéticos (por ejemplo DDT, ciclodienos e insecticidas organofosforados) en los años 1940s generó enormes mejoras en la eficacia y espectro, con consecuencias a larga escala, expandiendo su uso para nuevas herramientas en el control de plagas (Sparks & Nauen, 2014).

Desde la década de 1940, el número de casos de resistencia para insecticidas, y el número de especies y compuestos involucrados ha incrementado continuamente (Sparks & Nauen, 2014). En 1960 y 1970, suscitó la aparición de la resistencia para herbicidas y fungicidas. Sin embargo, los casos de resistencia a los insecticidas excede en número a los casos de herbicidas y fungicidas (Sparks & Nauen, 2014).

Sin embargo, el empleo masivo de pesticidas comenzó con la “revolución verde”, a mediados de la década de 1940, con la creciente demanda de insecticidas de síntesis orgánica, como DDT, lindano y dieldin, para la agricultura. Entre los principales efectos tóxicos relacionados con el DDT y algunos de sus metabolitos, se encuentran las alteraciones en la reproducción y en el desarrollo fetal. (Torres & López, 2007).

Los estudios de exposición prolongada a cantidades moderadas de DDT (20-50 mg por kilogramo de peso al día) han demostrado que puede afectar al hígado. Se ha determinado incluso que podría ser cancerígeno en seres humanos (ATSDR, 2002).

En la mayoría de los círculos agrícolas científicos se ha llegado a la percepción general de que la agricultura moderna enfrenta una grave crisis ambiental. La raíz de esta crisis radica en el uso de prácticas agrícolas intensivas basadas en el uso de altos insumos que conllevan a la degradación de los recursos naturales a través de procesos de erosión de suelos, salinización, contaminación con pesticidas, desertificación, pérdida de la fitomasa y por ende reducciones progresivas de la productividad. La pérdida de rendimientos por plagas en muchos cultivos, a pesar del incremento sustancial en el uso de pesticidas, es un síntoma de esta crisis (Altieri, 1994).

En el caso del maíz, en Estados Unidos, las pérdidas por insectos se elevaron desde 1945 a 1989 de 7 al 13%, a pesar de que se aumentó diez veces el volumen de insecticidas aplicados. Esta baja en los rendimientos a causa de los insectos plaga, se debió, en parte, al cambio de prácticas culturales que favorecieron el monocultivo a expensas de las rotaciones con leguminosas, en gran parte del área dedicada a este cultivo (Pimentel, *et al.*, 1990).

Como respuesta a todos los problemas generados a partir de la Revolución Verde, se han generado estrategias alternativas al uso de los agroquímicos, basadas en el manejo ecológico de los insectos plaga y enfermedades de los cultivos. El manejo ecológico, comprende la utilización armónica de una serie de prácticas, que sin alterar el equilibrio del ambiente, pretenden prevenir el desarrollo de las poblaciones insectiles y patógenas, a fin de que no alcancen niveles de daño a los cultivos (Suquilanda, 1999).

La producción sostenible basada en la propuesta agroecológica se deriva del balance apropiado de los suelos, nutrientes, cultivos, luz solar, humedad y de los sinergismos entre los organismos existentes (Altieri, 1994). El agroecosistema es productivo cuando este balance y las condiciones óptimas prevalecen y cuando las plantas cultivadas son resistentes para tolerar el estrés (Altieri, 1994). Alteraciones ocasionales se pueden superar con un agroecosistema vigoroso, adaptable y lo suficientemente diversificado para recuperarse una vez que el estrés haya pasado, el poder de resiliencia (Suquilanda, 1999). Ocasionalmente, podría ser necesario usar medidas más directas

(insecticidas botánicos, fertilizantes alternativos) para controlar plagas, enfermedades o problemas de suelo (Altieri, 1994).

2.3. Los compuestos naturales con actividad insecticida

Los compuestos naturales han sido ampliamente utilizados desde tiempo atrás, bien sea como alimento, medicamento, agente conservante, insecticidas, etc. (Lahlou, 2004). Aunque los avances tecnológicos y de síntesis orgánica fina han ido desplazando cada vez más su uso por sustancias artificiales, hoy por hoy, los consumidores han percibido que los compuestos naturales son más inocuos y por ello los prefieren; de esta manera, se observa cómo crece su consumo y utilización, lo que ha dado paso a un desarrollo importante de la agroindustria de plantas aromáticas y medicinales a nivel mundial (Castañeda, *et al.*, 2007).

El control químico es una estrategia ampliamente usada en la vida diaria. Sin embargo, el uso desmedido de los insecticidas sintéticos ha provocado consecuencias negativas, conduciendo a la búsqueda y atención a los productos naturales (Pavela, 2008). Las plantas juegan un rol muy importante en los sistemas ecológicos (García, *et al.*, 2007). Éstas pueden proveer alternativas potenciales como controladores de insectos, ya que constituyen un recurso muy rico de químicos bioactivos (Qin, *et al.*, 2010).

Los aceites esenciales se encuentran entre las sustancias comprobadas mejor conocidas contra insectos (Pitasawat, *et al.*, 2007). Estos compuestos actúan por fumigación (Choi, *et al.*, 2006), como insecticidas por contacto (Tang, *et al.*, 2007), repelentes y pueden afectar algunos parámetros como el porcentaje de crecimiento (Nathan, *et al.*, 2008), esperanza de vida y reproducción (Isikber, *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales son el producto final del metabolismo secundario de las plantas aromáticas, están constituidos por terpenos con actividad y composición variada; después de la extracción generalmente son líquidos y rara vez sólidos o pastosos (Boatto, *et al.*, 1994). Varias investigaciones han permitido establecer su actividad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e insecticida (Kumar, *et al.*, 1998).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), estima que existen unos 3000 aceites esenciales conocidos a nivel mundial, de los cuales un 10% son de importancia comercial. Un gran porcentaje, son utilizados en cosméticos, aromaterapia y productos de limpieza. Otros son utilizados como repelentes de insectos y en medicina para el tratamiento de afecciones (Thomas & Schumann, 1992).

Varios metabolitos secundarios son conocidos por sus propiedades insecticidas (López, *et al.*, 2008) y en muchos casos las plantas tienen una historia de uso como remedios para matar o repeler insectos. En décadas recientes, la investigación de la interacción entre las plantas y los insectos ha revelado el uso potencial de los metabolitos para este propósito (Zoubiri & Baaliouamer, 2011). Se conoce que algunos constituyentes químicos de los aceites esenciales tienen propiedades insecticidas (Pavela, *et al.*, 2009). Compuestos específicos aislados de los extractos de las plantas o aceites esenciales han sido evaluados para fumigación (Zoubiri & Baaliouamer, 2011).

Algunas familias de plantas son reconocidas por sus efectos insecticidas y dentro de ellas se reconocen varias plantas que han sido usadas con estos fines por mucho tiempo. A continuación se describen algunas representativas:

1. *Nicotiana tabacum* L. es utilizada en diferentes regiones del país gracias a su acción fungicida, insecticida, repelente y acaricida; propiedades atribuidas a su principal componente, la nicotina, metabolito que actúa como una sustancia tóxica de contacto e ingestión; también se han aislado otros constituyentes como N-caffeoliputrescina, tricloroetanol (Cruz Carrillo, *et al.*, 2011).

2. *Ambrosia cumanensis* Kunth, empleada sobre todo para el control de pulgas, chinches y mosquitos. Dentro de sus principales componentes, se encuentran los taninos, inulina, cumarinas, y aceites esenciales producidos en sus partes aéreas. La planta se ha empleado para el control de insectos y plagas en granos almacenados (Makabir, 1999).
3. *Lonchocarpus utilis* Smith, su principio activo se encuentra en las raíces, de las cuales se extrae la rotenona, la deguelina, trefosina y el toxicarol; existen otros compuestos no importantes y poco conocidos. De éstas la más importante y toxica es la rotenona. Esta planta, constituye una fábrica de plaguicidas botánicos con diversas propiedades biológicas (Mariños, Castro, & Nongrados, 2004).
4. *Azadirachta indica* A.juss, conocida como Neem, posee propiedades bactericidas, antiinflamatorias, antivirales, antipiréticas, insecticidas y fungicidas. Posee sustancias activas capaces de combatir varias enfermedades.

2.3.1. Aceites esenciales y actividad insecticida

En la actualidad, se ha reportado acción larvicida de especies de plantas contra insectos vectores de los géneros *Culex*, *Anopheles*, y de las especies *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Además, existe un número variado de metabolitos secundarios que se encuentran en la composición mayoritaria de las plantas, a los cuales se les adjudican las propiedades insecticidas (Prieto, *et al.*, 2011).

Los aceites esenciales de *Piper auritum*, *Piper aduncum* y *Chenopodium abrosioides* provienen de plantas que no son endémicas, pero que están ampliamente distribuidas, sin que sea comprobada su acción insecticida en plagas de la Salud Pública. *Pimenta racemosa*, aunque posee acción insecticida, igualmente no ha sido evaluada en *Ae. aegypti*.

2.4. Congona *Peperomia inaequalifolia* (Ruiz&Pav.)

La familia Piperaceae C.A. Agardh consiste en 5 géneros y 2500-3000 especies, siendo los principales *Piper* y *Peperomia* (Stevens, *et al.*, 2001). En el Ecuador están representados 4 géneros y 380-400 especies; solo el género *Piper* posee especies arbustivas en los bosques andinos (Jorgensen & Ulloa, 1994). Crece en climas tropicales,

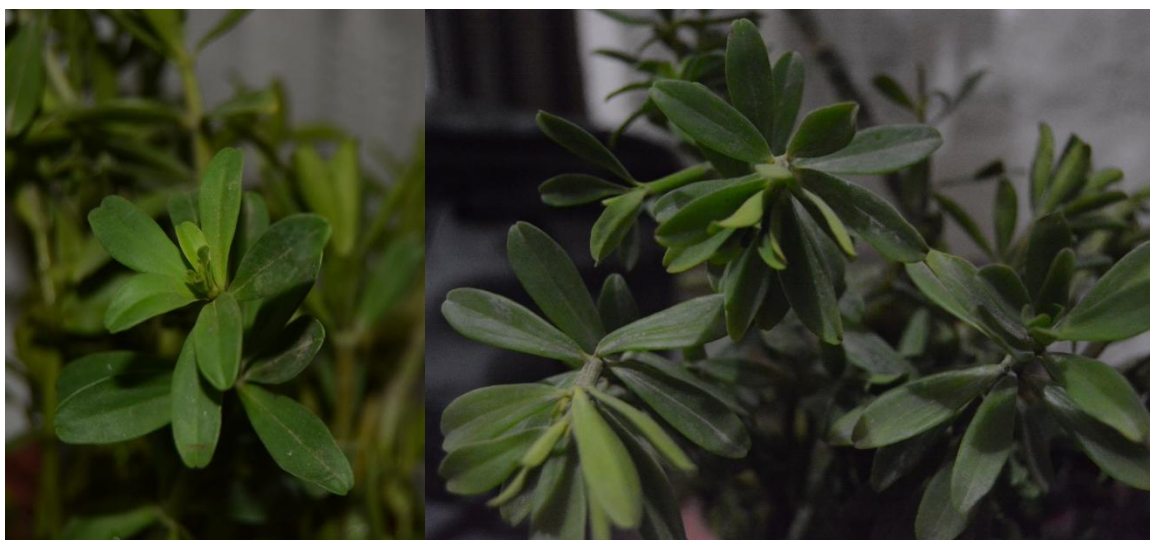
subtropicales y templados; son hierbas o arbustos. Son plantas erectas o postradas, poseen hojas alternas, opuestas o verticiladas, en algunos casos presentan glándulas aromáticas, con hojas enteras con nervadura pinnada o palmatinnada. No presentan meristemo basal persistente; con hidatodes comúnmente presentes. Los tallos tienen nodos, articulados aéreos y subterráneos, presentan el tejido vascular primario en dos o más anillos, o anillos pequeños esparcidos; el xilema sin fibras traqueidas pero con fibras libriformes. Son plantas hermafroditas. Poseen inflorescencias del tipo espada o espádices, son flores diminutas con brácteas succulentas, sin perianto. El fruto es una drupa o baya, y consta de una semilla (Navarro, 2012).

El género *Peperomia* comprende unas 1000 especies, nativo de América tropical y sub-tropical, un alto porcentaje de las especies son nativas de la región amazónica. Plantas herbáceas, erectas o postradas, generalmente de cultivo ornamental. Poseen hojas alternas o verticiladas, carnosas y coloreadas, frecuentemente de pecíolo largo, elípticas, aovadas o hasta en forma de corazón. Sus flores son bisexuales, con dos estambres, un estigma, sin pétalos, ni sépalos, con o sin brácteas. El fruto puede o no ser carnoso, el carpelo es dehiscente, en forma de drupa o baya, característico de la familia. Poseen semillas con escaso tejido endospermico, y abundante perispermo. El embrión es rudimentario, en el momento de liberar la semilla (Navarro, 2012).

Las especies de *Peperomia* tienen propiedades curativas reconocidas en varias regiones andinas. Actúan fundamentalmente como sedantes sobre el aparato neurovegetativo. Son antiinflamatorias, antiespasmódicas y antibióticas. Adicional son de gran valor ornamental (Pino, 2004).

Peperomia inaequalifolia (Figura 5), es una planta nativa del Ecuador y de la región Andina, la cual recibe popularmente nombres como: Congona, Huinayquilla, Siempreviva, Menta, Congonita Cimarrona, Tuna Congona, Pataku yuyu, Congonilla, Cuncuna, Pata cùn yuyu, Pata cùn panga. Es una hierba terrestre, nativa y cultivada (De la Torre, *et al.*, 2008).

FIGURA 5.



Peperomia inaequalifolia
Elaboración: La autora

La congona es una planta herbácea suculenta, de hasta 50 cm de altura, con tallo cilíndrico, nudoso y ramificado. Las hojas son de color verde brillante, redondas, verticiladas, de mayor tamaño las basales que las superiores, opuestas y con el margen entero. Las flores son de color verdoso y dan lugar a un fruto pequeño (Berdonces, 2010).

Esta hierba originaria del Ecuador crece principalmente en bosques húmedo montanos tropicales. También se cultiva en jardines principalmente para la producción de la “horchata lojana”, una infusión de hierbas tradicionales (Feiertag, 2011). Se encuentra ampliamente distribuida en Perú, Ecuador y Colombia (Feiertag, 2011). En el país su rango de distribución está entre los 1500 y 3500 m de altura, en las provincias de Azuay, Cañar, Carchi, Tungurahua y Chimborazo (Macbride, 1936).

Entre las aplicaciones etnobotánicas, las hojas trituradas actúan como cicatrizantes tópicos y son usadas como dentífrico para la gingivitis, la infusión de las hojas es tranquilizante y como analgésico para dolores de cabeza; asadas al fuego, se les extrae el contenido por presión y se aplica en gotas contra la otitis y conjuntivitis ocular (Pino, 2004).

En Ecuador, *Peperomia inaequalifolia* posee diversos usos. Se la utiliza para preparar chicha (bebida fermentada) y agua aromática; sus hojas sirven para condimentar alimentos con sal (Heiser, 1984) y obtener champú. En el aspecto tradicional, la hierba es utilizada por los chamanes, quienes la emplean para curar el mal aire y en baños ceremoniales (De la Torre, *et al.*, 2008).

La congona es usada por los agricultores, quienes la disponen para infusiones, como agua aromática o medicinal, y porque la han convertido en una forma de ganar dinero al venderla a comerciantes de mercados populares en ciudades como Quito y Guayaquil. Además, el aceite de *P. inaequalifolia*, aporta con moléculas de alto peso y de naturaleza de ácido graso como el palmitato de isopropilo, que le atribuye propiedades como agente humectante para el cuidado de la piel. La presencia de la miristicina, además de los efectos reportados como insecticida, le confieren atribuciones terapéuticas, y la molécula 1, 2, 3-triazol, le confieren al aceite acción bacteriana (Coronel & Piedra, 2014).

CAPÍTULO II

3. FUNDAMENTO METODOLÓGICO

3.1. Zona de recolección y material vegetal

Las muestras frescas de las hojas de *Peperomia inaequalifolia*, fueron recolectadas y pesadas con un peso de 20 kg, con un rendimiento de 30 ml de aceite esencial. La recolección se efectuó en la zona de Nayón, parroquia del Municipio de Quito, la cual forma parte de la provincia de Pichincha (Latitud: 0.15; Longitud: -78.40).

La mayoría de la parroquia de Nayón está en el lado occidental del valle interandino de Tumbaco. Un afluente del río Guayllabamba es el San Pedro, fluye en una garganta profunda y forma el límite oriental de la parroquia. La parroquia limita al sur con las parroquias de Cumbayá y Guápulo y al norte con la parroquia de Zámiza. De estas parroquias vecinas, Nayón está separado por profundas barrancas localmente conocidas como quebradas. Por el Oeste la parroquia de Nayón se extiende a través de unas colinas hacia el camino de Batán, Un mejor camino a lo largo del lado oeste del valle en que se localiza Quito Urbano (Nayón, 2014).

Las dimensiones de la parroquia están en alrededor de 15 a 16 kilómetros con un total de superficie de tierras de aproximadamente 240 kilómetros cuadrados. La más baja elevación en la esquina noreste de la parroquia es cerca de 2.200 metros, la más alta cerca de 2.900 metros. El pueblo de Nayón está cerca de los 2.580 metros de elevación. Las temperaturas reflejan la diferencia en elevación, los rangos anuales promedian los 23 grados centígrados a lo largo de los límites del río San Pedro, 20 grados centígrados en la sección conocida como El Valle, a 16.8 grados en el pueblo de Nayón con una variación mensual promedio de 1,1 grados. A elevaciones más altas prevalecen temperaturas más bajas, en Quito 13,0 grados. Los rangos de temperaturas afectan el crecimiento de las especies de cosechas en diferentes partes de la parroquia (Nayón, 2014).

Después de recolectadas las hojas de las plantas, fueron colocadas en un funda negra para que puedan ser transportadas ese mismo día para la ciudad de Macas, con extremo cuidado de no dañar sus tejidos, para obtener la mayor cantidad de aceite esencial.

3.2. Destilación del aceite

Para la obtención del aceite de las plantas se utilizó la técnica de destilación con agua y vapor de agua. En el caso del aceite de *Peperomia inaequalifolia*, se usó un destilador artesanal de acero inoxidable de 250 litros de la Fundación Chankuap Recursos para el futuro, ubicada en la ciudad de Macas, capital de la provincia Morona Santiago.

Materiales, equipos y reactivos:

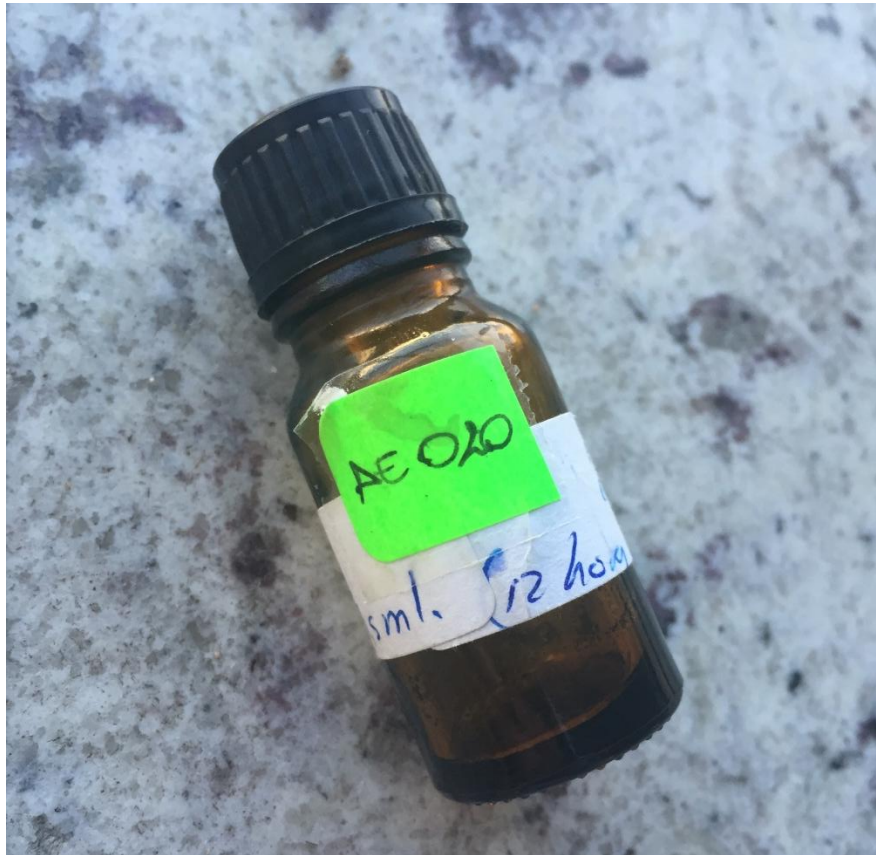
- Agua
- Destilador industrial
- Material vegetal
- Molino
- Vasos de precipitación
- Viales de vidrio ámbar con tapa negra.

3.3. Purificación del aceite esencial

El aceite esencial separado a partir de la destilación con agua y vapor de agua, fue depositado en el embudo de decantación; se lo dejó en reposo por un día, hasta observar la separación del agua y el aceite, procediendo luego a su decantación.

El aceite fue sometido a desecación por medio de sulfato de sodio anhidro (2 gramos), filtrado y finalmente depositado en un frasco oscuro, cerrado herméticamente y refrigerado (Figura 6).

FIGURA 6.



Aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*
Elaboración: La autora

Materiales, equipos y reactivos:

- Aceite objeto de estudio
- Embudo
- Papel filtro
- Sulfato de sodio anhidro
- Vasos de precipitación
- Viales de vidrio ámbar con tapa negra.

3.4. Análisis de composición química del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*

La calidad de actividad química del aceite esencial se realizó por medio de cromatografía de gases. Previo a la inyección de las muestras en el cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas (GC/MS) se pesaron 10 mg de aceite esencial y se añadió 1 ml de diclorometano (DCM) en un vial, y posteriormente se agitó para su correcta homogenización.

Materiales, equipos y reactivos

- Aceite objeto de estudio
- Balanza analítica
- Cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas (GC/MS)
- Diclorometano
- Pipetas de 1 ml

3.4.1. Condiciones del cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas

Las características del equipo y los parámetros establecidos en el análisis cromatográfico fueron:

Equipos GC/MS: Varian 3900 y MS Saturn 2001

Parámetros del GC

- Flujo de gas helio: 1m x min
- Temperatura del inyector: 280°C
- Split Ratio: 1:40
- Columna capilar: Factor Four VF-5MS (30 Mx0,25 mm, 0,25µm film thickness)

- Temperaturas: 45°C-100°C, Rate 1°C x min, 100°C-250°C, Rate 5°C x min, Tiempo de espera a 250°C: 15 min, tiempo total de análisis: 90 minutos.

Condiciones del espectrómetro de masas

- Rango de masa de 35 a 400 Da
- Voltaje de ionización: 70 eV
- Corriente de emisión: 10 µAmp
- Scan rate, 1scan/min.
- Temperature de la trampa: 220 °C
- Temperatura de la línea de transferencia: 260°C.

3.5. Crianza y mantenimiento de *Tetranychus urticae*

La crianza y mantenimiento *in vitro* de *T. urticae*, fue realizado por medio de la obtención de la población madre de la florícola Valle Flor, ubicada en Pifo. La identificación de la especie *T. urticae*, se realizó por medio del uso de claves taxonómicas en el laboratorio de la Escuela Politécnica Nacional.

Después de colectados fueron mantenidos en su planta hospedera inicial que fue un árbol de tilo (*Sambucus peruviana*) siendo colectadas las hojas y colocadas en botellas de plástico con agua y algodón para mantener la humedad. Se realizó el cambio del agua de los recipientes pasando un día, siempre vigilando que la población de ácaros se encuentre en óptimas condiciones. Dos días después se colocó una hoja nueva en la botella, permitiendo que los ácaros migren, para que puedan alimentarse y establecerse exitosamente, sin provocar estrés previo a la realización de los ensayos. El establecimiento y mantenimiento de las colonias de ácaros previa la realización de los ensayos, tomó un mes y medio.

En el momento de que cada población fue llevada al laboratorio para la evaluación del aceite esencial, se tomaron hojas ya revisadas bajo el estéreo-microscopio en las cuales se

encontraban al menos 30 ácaros para mantenerlas en cajas Petri, bajo condiciones controladas de laboratorio, manteniendo su vida por el lapso de una semana, previa la realización de los ensayos.

3.6.Pruebas de efecto insecticida: *in vitro*, producto a distintas concentraciones

Las pruebas del efecto insecticida *in vitro* fueron realizadas según la metodología descrita en (Prieto, *et al.*, 2011). Se utilizó papel filtro (Nº 1-2 cm de diámetro) que fue colocado en un número de dos, dentro de cada caja Petri cubierta (90 x 15 mm) usada para los ensayos.

En cada una de las cajas Petri fueron colocados 20 ácaros en el primer ensayo, y 10 en los siguientes. Los ácaros fueron colocados en su mayoría con una edad de diez días, siendo estadio adulto en todos los ensayos.

En cada uno de los ensayos realizados se colocó la dosis de 100 microlitros por cada repetición correspondiente a cada concentración del aceite esencial de la congona. Las cajas Petri usadas en cada uno de los ensayos fueron selladas por medio de Parafilm y encubadas a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 70± 5 %. Cada concentración y control fueron replicados tres veces. La mortalidad fue determinada a las 24h, desde el inicio de la exposición (Figura 7).

FIGURA 7.



Ensayo *in vitro* del efecto acaricida del aceite esencial de la congona

Elaboración: La autora

Se realizaron tres ensayos, bajo la metodología descrita en párrafos anteriores. En el primer ensayo se impregnó el aceite esencial, con una dosis de 100 microlitros para todas las concentraciones descritas a continuación: 10%, 5%, 2.5%, 2%, 1%, 0.5%, se consideró un control positivo con una dosis de 100 microlitros (acaricida Vertimec, cuyo compuesto activo es la Abamectina, concentración 1.8%) y dos controles negativos con una dosis igual de 100 microlitros (sin nada y con agua).

En el segundo ensayo se procedió con la misma metodología pero bajo concentraciones menores 0.5%, 0.25%, 0.125%, control positivo (acaricida Vertimec, cuyo compuesto activo es la Abamectina, concentración 1.8%), y un control negativo con agua.

En el tercer ensayo se procedió bajo la misma metodología pero se usó en lugar del aceite esencial de la congona, un estándar de la miristicina (Figura 8), con las siguientes concentraciones: 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.06%, 0.05%, un control positivo (acaricida Vertimec, cuyo compuesto activo es la Abamectina, concentración 1.8%), y un control negativo con agua.

FIGURA 8.



Estándar de Miristicina
Elaboración: La autora

3.7. Pruebas del efecto insecticida por aspersión

Partiendo de la población madre de *Tetranychus urticae*, se colocaron uno por uno, los ácaros en plantas de frutilla (*Fragaria vesca*), vigorosas y sin presencia de otro agente patógeno, por medio de la ayuda de un pincel y un estéreo microscopio. Se logró que se establezcan comunidades en cada una de las plantas, para luego separar un número de diez individuos adultos por hoja para realizar el ensayo (Figura 9).

FIGURA 9.



Ensayos por aspersión efecto acaricida del aceite esencial de la congona
Elaboración: La autora

En cada una de las pruebas experimentales se usaron diferentes concentraciones del aceite esencial que fue colocado en una dosis de 1000 microlitros, en un micropulverizador, que permitía que la cantidad de sustancia que se rociaba en cada hoja no causara la muerte de los ácaros por inmersión. El tiempo en el cual se observó el índice de mortalidad fue de 24 horas.

Se realizaron dos ensayos con la metodología descrita en los párrafos anteriores. En el ensayo número uno se usó del aceite esencial de la congona disuelto en propinilglicol, texapon y agua, en las siguientes concentraciones: 10%, 5%, 2.5%, 2%, 1%, 0.5% un blanco negativo con agua, y un blanco positivo (acaricida Vertimec, cuyo compuesto activo es la Abamectina, concentración 1.8%).

En el ensayo número dos se procedió bajo la misma metodología, pero con concentraciones menores del aceite esencial de la congona, en porcentajes de 0.5%, 0.25% y 0.1%, un blanco positivo (acaricida Vertimec, cuyo compuesto activo es la Abamectina, concentración 1.8%), y un blanco negativo con agua.

3.8. Análisis Estadístico

El porcentaje de mortalidad de los ácaros fue considerado en cada ensayo (Pitasawat, *et al.*, 2007). Los datos son presentados por medio de la desviación estándar. La significancia estadística fue determinada por los test de Tukey. Se realizó Anova simple entre y dentro los ensayos realizados para determinar si eran estadísticamente diferentes. La significancia estadística se determinó con un $P < 0.05$.

CAPÍTULO III

4. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Composición química del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*

Quince compuestos fueron identificados por cromatografía de gases y espectrometría, en el aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* (Cuadro 1). Los aceites esenciales contienen principalmente monoterpenos y sesquiterpenos. En la composición química el 86.67% fueron terpenoides, mientras un 13.33% correspondía a fenilpropeno y triazoles. El safrol, es uno de los compuestos de mayor presencia en el aceite

CUADRO 1. Composición química del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia*

No.	RT	Compuestos	RAA%	%NI	IK
1	41.107	Safrol	32.10		1287
2	51.293	Beta-cariofileno	2.22		1419
3	52.977	Alfa-humuleno	0.299		1454
4	54.069	Germacreno D	0.873		1481
5	54.462	Viridifloreño	3.672		1496
6	54.628	Biciclogermacreno	0.439		1500
7	55.797	Miristicina	13.287		1518
8	56.752	Elemicina	10.070		
9	56.998	NI	0.991		
10	57.392	Espatulenol	0.444		1578
11	57.524	N.I.		0.256	N.D.
12	57.643	Globulol	0.193		1590
13	57.879	Viridiflorol	5.273		1592
14	60.421	11 alfaH-himachacal-4-en beta-ol	25.294		1699
15	66.448	1,2,3- triazol	4.621		N.D.
		Total	99.766	0.256	

De izquierda a derecha: No.: número; RT: Tiempo de retención Compuestos; RAA%: porcentajes identificados; %NI: porcentajes no identificados; IK: Índice de retención de Kovats

Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

4.2 Análisis de las técnicas de aplicación y concentraciones del aceite esencial ensayadas

Se analizaron las técnicas de aplicación a iguales concentraciones, siendo las utilizadas las de 0.5%, 0.25% y 0.125% para determinar si existen diferencias significativas. En el Cuadro 2 y Figura 10 se pueden observar que existieron diferencias con una significación <0.05 entre las concentraciones al igual que entre el método de aspersión y por impregnación del papel.

En el caso del ensayo realizado con el método in vitro, existió un porcentaje de mortalidad del 100% en las concentraciones de 0.5% y 0.25% y un 83.33% en 0.125%; mientras que por el método de aspersión directa comparado con las mismas concentraciones, se constató una mortalidad del 30%, 23.3% y ninguna, respectivamente. Se realizó el análisis de Tukey por medio del cual se observan las diferencias entre las concentraciones dentro de cada forma de método de aplicación del aceite esencial (Cuadro 3).

Cuadro 2. Análisis de las técnicas de aplicación y concentraciones del aceite esencial de la congona

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	p-valor
Modelo	85200,000 ^a	8	10650,000	60,857	,000
Método	20416,667	1	20416,667	116,667	,000
Concentraciones	15250,000	3	5083,333	29,048	,000
Método * Concentraciones	6183,333	3	2061,111	11,778	,000
Error	2800,000	16	175,000		
Total	88000,000	24			

a. R cuadrado = ,968 (R cuadrado corregida = ,952)

gl: grados de libertad; F: estadístico F para $P=0.05$; p=valor probabilístico de F.

Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

Cuadro 3. Análisis de Tukey para concentraciones del aceite esencial. Se muestran las medias de los subconjuntos homogéneos basados en las medias observadas.

Concentraciones		N	Subconjunto		
			1	2	3
dimension 1	Control	6	1,6667		
	0.125 %	6		41,6667	
	0.250 %	6		61,6667	61,6667
	0.50 %	6			65,0000
	Sig.		1,000	,079	,971

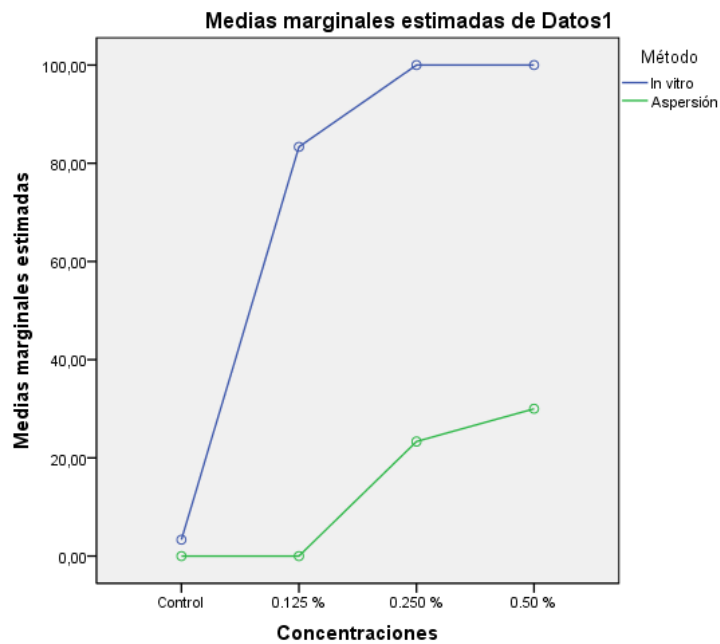
El término de error es la media cuadrática (Error) = 175,000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000

b. Alfa = ,05.

Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

FIGURA 10. Se muestra en el eje de las x las concentraciones usadas en los ensayos, y en el eje de las y el porcentaje de mortalidad de los ácaros comparado entre el método *in vitro* y el de aspersion.



Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

4.2.Comparación bajo el método *in vitro* del aceite esencial de *Peperomia inaequalifolia* vs el extracto de Miristicina

Dentro de la metodología se utilizaron dos productos, el aceite esencial y un estándar específico del mismo, la miristicina, cuyo efecto insecticida ha sido ampliamente estudiado. Las concentraciones efectivas usadas fueron 0.5%, 0.25% y 0.125%, en ambos casos.

El resultado de esta comparación demostró que existen diferencias significativas entre las distintas concentraciones con un $p \leq 0.05$ (Cuadro 4), al igual que diferencias entre los dos extractos; sin embargo, el índice de mortalidad es mayor con el aceite esencial, siendo efectivo en un 100% en concentraciones de 0.5% y 0.25% mientras que un 83.3% en un porcentaje del 0.125%; en el ensayo realizado con la miristicina, el porcentaje de mortalidad fue del 36.7%, 16.7% y 13.3% respectivamente (Cuadro 5) (Figura 11).

CUADRO 4. Anova Simple que muestra las diferencias existentes entre iguales concentraciones entre el aceite esencial de congona y la miristicina

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gol	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	86266,667 ^a	8	10783,333	184,857	,000
Principios	18150,000	1	18150,000	311,143	,000
Concentraciones	15650,000	3	5216,667	89,429	,000
Principios *	5650,000	3	1883,333	32,286	,000
Concentraciones					
Error	933,333	16	58,333		
Total	87200,000	24			

a. R cuadrado = ,989 (R cuadrado corregida = ,984)

Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

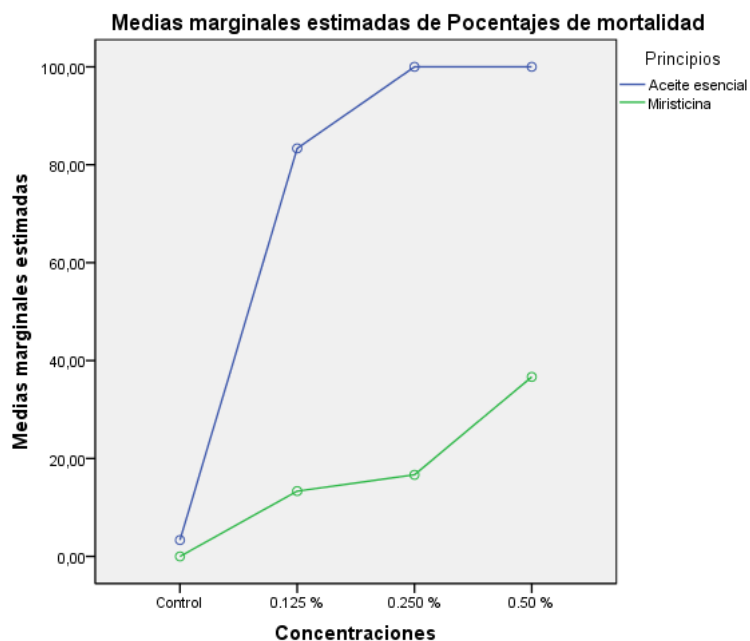
CUADRO 5. Análisis de Tukey entre las concentraciones de la congona vs. La miristicina. Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos, basadas en las medias observadas.

Concentraciones	N	Subconjunto		
		1	2	3
Control	6	1,6667		
0.125 %	6		48,3333	
0.250 %	6		58,3333	58,3333
0.50 %	6			68,3333
Sig.		1,000	,148	,148

El término de error es la media cuadrática (Error) = 58,333.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000
b. Alfa = ,05.

Elaboración: La autora
Fuente: La investigación

FIGURA 11. La mortalidad de los ácaros en porcentaje mayor correspondió a la aplicación del aceite esencial, manteniendo los mismos agentes externos para minimizar el error experimental. En azul se muestra la mortalidad provocada por el aceite esencial de la congona y en verde el de la miristicina en concentraciones de 0.5%, 0,25% y 0,125%, respectivamente.



Elaboración: Autora
Fuente: La investigación

CAPÍTULO IV

5. DISCUSIÓN

Dentro de la composición química de los aceites esenciales, el grupo más grande está conformado por terpenos y terpenoides y otros compuestos aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por un peso molecular bajo (Bakkali *et al.*, 2008). Este resultado fue comprobado en los resultados obtenidos en esta investigación, en el aceite esencial de la congona.

El alto índice de mortalidad reportado en *T. urticae*, provocado por el aceite esencial de la congona, podría deberse a que los aceites esenciales pueden provocar la depolarización de las membranas mitocondriales al provocar la disminución del potencial de membrana, afectando el ciclo iónico del calcio y otros canales iónicos, además de reducir el gradiente del pH, afectando al igual que en las bacterias, la bomba de protones y de ATP (Bakkali *et al.*, 2008). Los aceites esenciales, cambian la fluidez de las membranas, las que se vuelven anormalmente permeables provocando la muerte celular por apoptosis y necrosis (Yoon, *et al.*, 2000; Armstrong, 2006).

Las diferencias significativas ($p \leq 0.001$), entre el uso del aceite esencial versus la miristicina, se infiere se debe a la sinergia de los compuestos del aceite esencial de la congona. En literatura, en muchos casos, solo los compuestos principales de ciertos aceites esenciales como el terpinol, eugenol, timol, carvacrol, carvone, geraniol, linalool, citronellol, nerol, safrol, eucaliptol, limonene, cinnamaldehido, han sido analizados (Bakkali, *et al.*, 2008).

Generalmente, se ha encontrado que reflejan bastante bien los rasgos biofísicos y biológicos de los aceites esenciales de los cuales fueron aislados (Ipek, *et al.*, 2005), la amplitud de sus efectos fueron dependientes de la concentración en la cual fueron testeados solos o dentro del aceite esencial (Bakkali, *et al.*, 2008). De esta manera el resultado obtenido en este estudio en el cual se compara el efecto acaricida del aceite esencial en

contraste con el del compuesto activo miristicina, en las mismas concentraciones, permite un acercamiento a la sinergia existente en el aceite. Sin embargo, esta aseveración, ha sido ampliamente debatida por Bakkali (2008) quien mantiene que la sinergia versus un compuesto único es cuestionable.

Otros autores, mantienen la posibilidad de que la actividad de un compuesto principal sea modulado por otras moléculas menores (Franzios *et al.*, 1997; Santana-Rios *et al.*, 2001; Hoet *et al.*, 2006). Al parecer varios compuestos del aceite esencial juegan un rol específico en definir la fragancia, la densidad, la textura, el color, la penetración celular (Cal, 2006), atracción lipofílica e hidrofílica, la fijación en las paredes y membranas celulares y la distribución celular (Bakkali, *et al.*, 2008).

Ciento diecinueve compuestos han sido citados en literatura como actividad insecticida. Estos compuestos químicos fueron distribuidos en 11 tipos. (Boulogne & Petit, 2012). Dentro de estos 11 tipos, 3 fueron identificados con una gran actividad insecticida: los terpenoides (43 compuestos químicos), los alcaloides (38) y los compuestos fenólicos (21). (Boulogne & Petit, 2012). De la misma forma fueron identificadas 656 especies de plantas a nivel mundial, distribuidas en 110 familias. La más citada Lamiaceae, con 181 sp distribuidas en 48 géneros, contando con un 28% de las familias de plantas con una actividad insecticida. De estos compuestos, existen algunos compuestos que cumplen con actividad insecticida y fungicida 9 de los cuales son parte de los terpenoides. (miristicina), 8 son de los fenoles y 3 alcaloides.

Las plantas de la familia Piperaceae han sido estudiadas por sus propiedades, en la medicina tradicional, desórdenes intestinales y como citotóxico y antimicrobiano. Los metabolitos secundarios encontrados en extractos, obtenidos de diferentes partes de estas plantas, muestran actividad antifúngica, insecticida, antialimentaria, estimulante, bactericida y citotóxica (Sánchez *et al.*, 2009). Sus aceites esenciales en particular inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes en el hombre, las plantas y los animales, siendo particularmente útiles como antivirales, antimicóticos y antibacterianos (Sánchez, *et al.*, 2009).

Se han efectuado estudios acerca de la composición química de varios aceites esenciales del género *Piper*, encontrándose como constituyentes principales fenilpropanoides, monoterpénoides y sesquiterpenoides. Los trabajos relacionados con la composición de *P. auritum* coinciden con la presencia de safrol como componente mayoritario. Por ejemplo Gupta *et al.*, informaron como constituyente principal del aceite esencial de caisimón el safrol, encontrándose en un rango de 70 a 85 % de la composición total.

Esta investigación suma un aporte al tener a *Peperomia inaequalifolia*, que comparte la composición química de del género *Piper* con un 32,10% de su composición el safrol, seguido por un 25,294% de 11-alfaH-himachal-4-en-1-beta ol. Esta es una consideración muy importante ya que el safrol tiene una alta demanda en la industria de insecticidas y plaguicidas en general.

Otro de los compuestos activos de importancia por su efecto insecticida es la miristicina, a pesar de la baja incidencia de mortalidad reportada en esta investigación. Según estudios realizados por Qin, *et al.*, (2010) encontraron que la miristicina, tiene un fuerte efecto de toxicidad, efectos para fumigación, que inhiben el desarrollo de *B. longissima*. Sus estudios sugieren que la miristicina es uno de los compuestos activos más importantes del aceite esencial de *P. sarmentosum* y lleva consigo las principales funciones del aceite, cuando se encuentra aislada o de forma sinérgica con otros compuestos.

Este estudio demostró que la utilización del aceite esencial de la congona fue más efectiva cuando se aplicó con papeles impregnados, en el cual los volátiles no tuvieron contacto directo con los ácaros; mientras que en el uso de la aspersion directa el nivel de efectividad y el índice de mortalidad fue mucho menor, a pesar del uso de propinilglicol como emulsionante que en otros estudios ha reportado ser más eficiente (Ricci, *et al.*, 2006).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- ✓ La obtención del aceite esencial de la congona demostró ser altamente eficiente, considerando su rendimiento.
- ✓ Dentro de la metodología planteada, la crianza y mantenimiento de los ácaros permitió la realización correcta de los ensayos posteriores, sin que exista un error debido a la mortalidad por otros agentes externos al aceite esencial probado.
- ✓ Este estudio demostró que la utilización del aceite esencial de la congona fue más efectiva cuando se aplicó con papeles impregnados, en el cual los volátiles no tuvieron contacto directo con los ácaros, en lugar de la aspersion directa en la planta hospedera, en iguales concentraciones.
- ✓ Los volátiles del aceite esencial de la congona demostraron poseer una actividad acaricida potente en bajas concentraciones. Sería necesario desarrollar estudios complementarios sobre la estabilidad del producto, su disolución en agua, su efecto sobre la salud humana y la entomofauna benéfica, así como su eficiencia sobre otros ácaros.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Altieri, M. (1994). Bases de la agricultura sustentable. *Agricultura Tecnica*, 371-386.
- Argolo, P. (2012). Gestión integrada de *Tetranychus urticae*, Acari:Tetranychidae: optimización de su control biológico en clementinos. *Tesis Doctoral Universidad de Valencia*, 28-39.
- Armstrong, J. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *BioEssays*, 253-260.
- ATSDR, A. p. (2002). Resumen de Salud Pública DDT, DDE y DDD. *Toxicología*.
- Badii, M., Varela, S., Flores, A., & Landeros, J. (2003). Temperature-based life history and life table parameters of Texas citrus mite on orange. *Systematic & Applied Acarology*, 25-38.
- Badii, M., Landeros, J., & Cerna, E. (2010). Regulación Poblacional de Ácaros plaga de Impacto Agrícola. *International Journal of Good Conscience*, 270-302.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology*, 446-475.
- Berdonces, J. (2010). Gran enciclopedia de las plantas medicinales. *Océano*, 138, 389-390, 589, 793-795.
- Boatto, G., Pintore, G., Palomba, M., De Simone, F., Ramundo, E., & Todice, G. (1994). Composition and antibacterial activity of *Imula helenium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Fitoterapia*, 279-280.
- Boulogne, I., & Petit, P. (2012). Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letter*.
- Cal, K. (2006). Skin penetration of terpenes from essential oils and topical vehicles. *Planta Med.*, 311-316.
- Castañeda, M., Muñoz, A., Martínez, J., & Stanshenko, E. (2007). Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia et Technica*, 165-170.
- Choi, W., Park, B., Lee, Y., Jang, D., Yoon, H., & Lee, S. (2006). Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop protection*, 398-401.
- Coronel, I., & Piedra, J. (2014). Tesis: Estudio de las propiedades físicas y composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* Ruiz &

Pav. y *Piper pubinervulum* C. DC y del rizoma de *Renealmia thyrsoides* subs. *thyrsoides*.

- Cruz Carrillo, A., Rodríguez, C., & Ortiz, C. (2011). Efecto insecticida *in vitro* del extracto etanólico de algunas plantas sobre la mosca adulta *Haematobia irritans*. *Rev Cubana Plantas Medicinales*.
- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M., & Balslev, H. (2008). Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Quito: Herbario QCA & Herbario AAU.
- Donald, P., Green, R., & Heath, M. (2001). Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proc. R. Soc. London*, 25-29.
- Feiertag, S. (2011). Recuperado el 28 de 01 de 2014, de <http://www.ethno-botanik.org>
- Fernández, I., & Roma, F. (2004). Intoxicación y uso de pesticidas por agricultores del municipio de Alferes, Río de Janeiro. *Cad. Saude Publica*, 180-186.
- Flick, T., Feagana, S., & Fahrig, L. (2012). Effects of landscape structure on butterfly species richness and abundance in agricultural landscapes in eastern Ontario. *Can.Agric Ecosys.Environ.*, 123-133.
- Forgash, A. (1984). History, evolution and consequences of insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 178-186.
- Franzios, G., Mirotsoy, M., Hatziapostolou, E., Kral, J., Scouras, Z., & Mavragani-Tsipidou, P. (1997). Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric.Food Chem.*, 2690-2694.
- García, M., González, A., Donadel, O., Ardanaz, C., Tonn, C., & Sosa, M. (2007). Insecticidal effects of *Flourensia oolepis* Blake (Asteraceae) essential oil. *Biochemical Systematics and Ecology*, 181-187.
- Gupta, M., & al., e. (1985). Safrole: the main component of essential oil from *Piper auritum* H.K.B. of Panamá. *J. Nat. Prod.*, 330-343.
- Heiser, C. (1984). Economic Botany. *New York: Botanical Garden*.
- Herbert, H. (1981). Biology, life-tables, and innate capacity for increase of twospotted spider-mite, *Tetranychus urticae* (Acarina, Tetranychidae). *Can Entomol.*, 371-378.
- Hoet, S., Stevigny, C., Herent, M., & Quetin-Leclercq, J. (2006). Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. *Planta Med.*, 480-482.
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B., Kurkcuglu, M., & Husnu Can Baser, K. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chem.*, 551-556.

- Isikber, A., Alma, M., Kanat, M., & Karci, A. (2006). Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica*, 167-177.
- Jorgensen, P., & Ulloa, C. (1994). *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav, Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. 789.
- Klamkowski, K., Sekrecka, M., Fonyodi, H., & Treder, W. (2007). Changes in the rate of gas exchange, water consumption and growth in strawberry plants infested with the twospotted spider mite. *Fruit and Ornamental Plant Res.*, 155-162.
- Kremen, C., Williams, N., & Thorp, R. (2002). Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proc.Natl.Acad.Sci*, 16812-16816.
- Kumar, A., Sharma, V., & Singh, A. (1998). Antibacterial properties of different Eucalyptus oils. *Fitoterapia*, 141-144.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother*, 18,pp. 435-436.
- Landeros, J., Guevara, L., Badii, M., Flores, A., & Pámanes, A. (2004). Effect of different densities of the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* on CO₂ assimilation, transpiration, and stomatal behaviour in rose leaves. *App. Acarol.*, 187-198.
- Li, A., Chen, A., Miller, R., Davey, R., & George, J. (2007). Acaricide resistance and synergism between permethrin and amitraz against susceptible and resistant starins of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae). *Pest Management*, 882-889.
- Lopez, M., Jordan, M., & Pascual-Villalobos, M. (2008). Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *Journal of Stored Products Research*, 273-278.
- Macbride, J. (1936). Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series. *Missouri Botanical Garden*.
- Makabir, P. (1999). Especies vegetales promisorias de países del convenio Andrés Bello. *Convenio Andrés Bello*, 56-78.
- Malais, J., & Ravensberg, M. (1992). Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse crops. En R. Albajes, M. Odovica, & J. E. Van enteren, *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse crops* (págs. 4-6). New York: Kluwer Academic Publishers.
- Mariños, C., Castro, J., & Nongrados, D. (2004). Efecto biocida del barbasco *Lonchocarpus utilis* Smith 1930 como regulador de larvas de mosquitos. *Revista Peruana de Biología*.
- Matos, E., Loria, D., Albiano, N., Sobel, N., & Buján, E. (1988). Efectos de los plaguicidas en trabajadores de cultivos intensivos. *Bol Oficina Sanitaria Panama*, 160-170.

- Monetti, L. (1999). Estudio de los atributos vitales de los ácaros fitoseidos y su aplicación al control biológico de plagas. *Rev. Soc. Entomol. Argentina*, 48-57.
- Moraes, G., & Flechtmann, C. (2008). Manual de Acarología: Acarología básica de ácaros cultivados de Brasil. *Holos Editora*.
- Mourand, T. (2015). Adverse impact of insecticides on the health of Palestian farm workers in the Gaza Strip. *Int J. Occup. Environ. Health.*, 144-149.
- Nathan, S., Hisham, A., & Jayakumar, G. (2008). Larvicidal and growth inhibition of the malaria vector *Anopheles stephensi* by triterpenes from *Dysoxylum malabaricum* and *Dysoxylum beddomei*. *Fitoterapia*, 106-111.
- Navarro, F. (2012). Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Cajamarca, Perú. Recuperado el 01 de Febrero de 2014
- Nayón, J. P. (2014). *XPerto Solutions*. Recuperado el 30 de 05 de 2015, de <http://www.minayon.com>
- Palacios-Nava, M., & Moreno, T. L. (2004). Diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa, México. *Salud Pública Mex.*, 286-293.
- Pavela, R. (2008). Larvicidal effects of various Euro-asiatic plants against *Culex* sp (Diptera:Culicidae). *Parasitology Research*, 555-559.
- Pavela, R., Vrchotova, N., & Triska, J. (2009). Mosquitocidal activities of thyme oils (Thymus vulgaris L.). *Parasitology Research*, 1365-1370.
- Pimentel, D., Andow, D., Dyson-Hudson, R., Gallahan, D., & Vinzant, B. (1990). Environmental and Social Costs of pesticides: a preliminary assessment. *Oikos*, 127-140.
- Pino, G. (2004). *Peperomia* de la provincia de Cajamarca. *Rev. Peru. Biológica.*, 1-10.
- Pitasawat, B., Champakaew, D., Choochote, W., Jitpakdi, A., Chaithong, U., Kanjanapothi, D., y otros. (2007). Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. *Fitoterapia*, 205-210.
- PNUMA. (2000). Comité intergubernamental de negociación de un instrumento internacional jurídicamente vinculante para la aplicación de medidas internacionales respecto de ciertos contaminantes orgánicos persistentes . *Quinto período de sesiones*.
- Price, J., Legard, E., & Chandler, C. (2000). Mite resistance to abamectin on strawberry and strategies for resistance management. *Acta Horticulturae*, 683-685.

- Prieto, J., Patiño, O., Delgado, W., Moreno, J., & Cuca, L. (2011). Chemical composition, insecticidal, and antifungal activities of fruit essential oils of three colombian *Zanthoxylum* species. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(1): 72-82.
- Qin, W., Huang, S., Li, C., Chen, S., & Peng, Z. (2010). Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 132-139.
- Ricci, M., Padín, S., Ringuelet, J., & Kahan, A. (2006). Utilización del aceite esencial de Lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) como repelente de *Diuraphis noxia* Kurdj (Hemiptera:Aphididae) en trigo. *Agricultura Tècnica*, 256-263.
- Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T., Naranjo, E., & Iglesia, A. (2009). Estudio químico y microbiológico del Aceite Esencial de *Piper auritum* KUNTH. *Revista Protección Vegetal*.
- Santana-Rios, G., Orner, G., Amantana, A., Provost, C., Wu, S., & Dashwood, R. (2001). Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. *Mutat.Res.*, 61-74.
- Shaefers, A., & Shanks, C. (1991). Pest management for strawberry insects. *Handbook of Pest Management in Agriculture*, 535-552.
- Sparks, T., & Nauen, R. (2014). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1-7.
- Stevens, W., Ulloa, C., Pool, A., & Montiel, O. (2001). Flor de Nicaragua. Angiospermas (Pandanaeae-Zygophyllaceae). Missouri Botanical Garden Press.
- Stumpf, N., & Nauen, R. (2002). Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). *Pesticide Biochem.*, 111-121.
- Suquilanda, M. (1999). *Agricultura Orgánica*. Cayambe: ABYA-YALA.
- Tang, G., Yang, C., & Xie, L. (2007). Extraction of *Trigonella foenum-graecum* L. by supercritical fluid CO₂ and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius). *Journal Pest Science*, 151-157.
- Thomas, M., & Schumann, D. (1992). Suing the forest instead of the trees. Income opportunities in special forest products. *Midnust Research Institute*.
- Torres, L., & López, L. (2007). Efectos a la salud y exposición a p,p'-DDT y p,p'-DDE. El caso de México. *Ciencia y Salud Colectiva*, 51-60.
- Yoon, H., Moon, S., Kim, N., Park, B., Jeong, M., & Yoo, Y. (2000). Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochemistry.Biophys. Res. Commun.*, 151-156.

Zhang, Z. (2003). Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control. . *CABI*, 244-245.

Zoubiri, S., & Baaliouamer, A. (2011). Potentiality of plants as source of insecticide principles. *Journal of Saudi Chemical Society*, 1-14.