

UNIVERSIDAD DEL BÍO-BÍO
FACULTAD DE EDUCACIÓN
DEPTO. DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS DE
Calceolaria talcana y *Condalia microphylla* PRESENTES EN CHILE.”**

**SEMINARIO DE TÍTULO PARA OPTAR AL TÍTULO DE PROFESORA EN
CIENCIAS NATURALES MENCIÓN BIOLOGÍA.**

ALUMNA PARTICIPANTE:

DEISY PAULINA SALDÍAS VILLANUEVA.

PROFESOR GUÍA:

DR. CARLOS LEONARDO CESPEDES ACUÑA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

UNIVERSIDAD DEL BÍO-BÍO

CHILLÁN – 2010

DEDICATORIA.

A mis padres, Pedro Saldías Lara y Paola Villanueva Troncoso, por enseñarme el valor de la educación, y entregarme su apoyo incondicional durante mi carrera.

A mi esposo Fernando Andrés González Franco, que me ha dado amor y comprensión y ha soportado los inconvenientes de mi superación.

A mi hija Valentina Fernanda González Saldías que vino a este mundo a motivarme para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS.

Quiero agradecer primeramente a Dios por guiar mi camino de manera satisfactoria.

Al Dr. Carlos Leonardo Céspedes Acuña por su asesoría, apoyo y dedicación en la realización de esta tesis, por sus experiencias prácticas y culturales transmitidas, así como su amistad y confianza depositada en mi persona.

A Claudio Andrés Lamilla Mardones por su asesoría, disponibilidad y apoyo desinteresado en la realización de este seminario de título.

INDICE

| Contenidos. | Página. |
|--|---------|
| 1.- INTRODUCCIÓN | 6 |
| 1.1.- Insecticidas de origen vegetal. | 7 |
| 1.2.- Metabolitos secundarios. | 7 |
| 1.3.- <i>Calceolaria talcana</i> . | 9 |
| 1.4.- <i>Condalia microphylla</i> | 10 |
| 1.5.- Organismo usado en los bioensayos de la actividad insecticida de <i>Calceolaria talcana</i> y <i>Condalia microphylla</i> . | 12 |
| 2.- HIPÓTESIS | 17 |
| 3.- OBJETIVOS | 17 |
| 3.1.- Objetivo general | 17 |
| 3.2.- Objetivos específicos | 17 |
| 4.- MATERIALES Y MÉTODOS | 18 |
| 4.1.-Preparación de extracto total de <i>Calceolaria talcana</i> | 18 |
| 4.1.1.- Preparación de fracción n-Hexano de <i>Calceolaria talcana</i> | 18 |
| 4.1.2.- Preparación de fracción Acetato de etilo de <i>Calceolaria talcana</i> | 18 |
| 4.1.3.- Preparación de fracción Acuosa de <i>Calceolaria talcana</i> | 19 |
| 4.2.- Preparación de extracto total de hoja <i>Condalia microphylla</i> . | 19 |
| 4.2.1.- Preparación de fracción n- Hexano de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 19 |

| | |
|--|----|
| 4.2.2.- Preparación de fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 19 |
| 4.3.- Preparación de extracto total de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 20 |
| 4.3.1.- Preparación de fracción n- Hexano de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 20 |
| 4.3.2.- Preparación de fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 20 |
| 4.4.- Medio de cultivo de <i>Drosophila melanogaster</i> | 20 |
| 4.5.- Evaluación de la actividad insecticida. | 21 |
| 4.5.1.- Preparación de placas de bioensayo | 21 |
| 5.- RESULTADOS | 23 |
| 5.1.- Tabla N° 1. Porcentaje de mortalidad observada en <i>Drosophila melanogaster</i> a concentración 10 ppm. | 23 |
| 5.2.- Tabla N °2. Porcentaje de mortalidad observada en <i>Drosophila melanogaster</i> a concentración 20 ppm. | 24 |
| 5.3.- Tabla N °3. Porcentaje de mortalidad observada en <i>Drosophila melanogaster</i> a concentración 50 ppm. | 25 |
| 5.4.- Tabla N°4. Porcentaje de mortalidad observada en <i>Drosophila melanogaster</i> a concentración 100 ppm | 26 |
| 5.5.- Grafica N ^a 1: % Mortalidad de <i>Drosophila melanogaster</i> en diferentes extractos de <i>Calceolaria talcana</i> y <i>Condalia microphylla</i> . | 27 |
| 6.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS. | 28 |
| 7.- CONCLUSIONES | 30 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 31 |

1.- INTRODUCCIÓN

Los insecticidas sintéticos son herramientas importantes en el control de plagas y enfermedades en los vegetales, lo que permite una optimización del rendimiento de las tierras de uso agrícola a nivel mundial, éstos insecticidas sintéticos suelen dividirse en fungicidas, herbicidas e insecticidas que utilizan un control completamente a base de químicos.

Si bien los insecticidas sintéticos nos brindan beneficios al momento de incrementar la producción agrícola, ya que atacan directamente a las plagas, el uso continuo e indiscriminado de estas sustancias, no sólo ha causado enfermedades (Waterhouse, 1996) y muertes por envenenamiento a corto y largo plazo, sino también ha afectado al medio ambiente, acumulándose por bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, en el suelo y en el agua. Son responsables además de la resistencia (Bourguet, 2000) a insecticidas por parte de los insectos, sin por ello restar importancia a la destrucción de parásitos, predadores naturales y polinizadores, entre los otros tantos integrantes del ecosistema (Freemark, 1995), que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos.

El hombre depende del consumo directo de las plantas tanto vegetales, cultivos, cereales como de la obtención de sus productos. Anualmente, una tercera parte de la producción de alimentos se ve destruida por plagas de cultivos y productos almacenados, por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas

vías de control de plagas para aminorar las pérdidas millonarias producidas mundialmente.

1.1.- Insecticidas de origen vegetal.

Los insecticidas vegetales presentan la gran ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos, tales como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, entre otros, lo que aumenta enormemente sus posibilidades de integración a un programa de Manejo Integrado de Plagas.

1.2.- Metabolitos secundarios.

Las plantas, en conjunto, producen más de 100.000 sustancias de bajo peso molecular conocidas también como metabolitos secundarios. Estos son, normalmente, no- esenciales para el proceso metabólico básico de la planta, entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, ácidos grasos, entre otros. Hoy en día se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas (Kubo, 1997; González y Estévez-Braun, 1998), por lo tanto en los últimos años se está retornando al uso de las plantas como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana, debido a que estos son productos naturales y biodegradables de baja toxicidad tanto para el hombre como para el ecosistema.

Se ha propuesto que los metabolitos secundarios, que utilizan las plantas para su protección, tiene diferentes sitios de acción y diferentes dianas

moleculares en los compuestos que interactúan con las enzimas y los procesos de metamorfosis actuando como:

Reguladores del crecimiento: Al ser consumidas, las biomoléculas alteran el desarrollo normal del insecto, evitando que este alcance su crecimiento pleno y en consecuencia su actividad nociva en la planta.

Inhibidores de la alimentación: Desarrollan una acción de bloqueo en la absorción de los nutrimentos básicos para el crecimiento del insecto, por lo que después de que el insecto ingiere el fitometabolito muere por inanición.

Repelentes: Ésta actividad la desarrollan básicamente los compuestos que ejercen efectos irritantes a los agentes que intentan atacar a la planta.

La selección de plantas que contengan metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como insecticidas naturales deben tener algunas propiedades básicas: debe ser de fácil cultivo y con principios activos potentes, con alta estabilidad química y de óptima producción.

Para investigar la eficacia insecticida de los metabolitos secundarios presentes en plantas se utilizaron los extractos de dos tipos de especies presentes en Chile *Calceolaria talcana* y *Condalia microphylla*, para ello se realizaron bioensayos en *Drosophila melanogaster* una de las plagas importantes presentes en Chile.

1.3.-*Calceolaria talcana*.

La *Calceolaria talcana* sp.es un arbusto pequeño que puede llegar a alcanzar 1,2 metros de altura, ésta especie se distribuye principalmente entre la V y la X región de Chile, entre el valle central y la cordillera de la costa, pertenecientes a la familia Scrophulariaceae orden Scrophulariales, se les conoce con los nombres comunes de "Capachito", "Zapatito" y "Topa Topa", se utilizan en medicina popular como tónicos para el estómago, agentes bactericidas y edulcorantes.

Solo un 15 % de las especies de calceolaria existentes en Chile han sido estudiadas químicamente, los resultados obtenidos en las investigaciones sobre sus metabolitos secundarios, indican la marcada presencia de diterpenos con previsible actividad insecticida. (Química de la flora en Chile, Orlando Muñoz, 1992 p.96.)

1.3.1.- Terpenos.

Con el nombre de terpenos se conoce a un grupo importante de componentes vegetales que tienen un origen biosintético común. Todos, aunque con estructuras químicas muy distintas, proceden de la condensación, en número variable, de unidades isoprenicas.

Desde el punto de vista farmacéutico, los grupos de principios activos de naturaleza terpénica más interesantes son: monoterpenos y sesquiterpenos constituyentes de los aceites esenciales, derivados de monoterpenos correspondientes a los iridoides, lactonas sesquiterpénicas que forman parte de los principios amargos, algunos diterpenos que poseen actividades farmacológicas

de aplicación a la terapéutica y por último, triterpenos y esteroides entre los que se encuentran las saponinas y los heterósidos cardiotónicos.

1.3.2.- Diterpenos.

Los diterpenos constituyen un grupo muy amplio de componentes de los vegetales cuya característica común es la de poseer una estructura básica con 20 carbonos y proceder biosintéticamente del ácido mevalónico, aunque existan un gran número de estructuras distintas. Desde el punto de vista de su aplicación directa a la terapéutica, las plantas que contienen diterpenos, carecen hoy por hoy de interés. Sin embargo, dentro de este grupo figuran importantes compuestos naturales de aplicación en terapéutica. Un ejemplo típico es el caso del taxol, también conocido como paclitaxel, compuesto obtenido a partir de las cortezas de tejo americano (*Taxus brevifolia*) que ha mostrado una elevada eficacia en el tratamiento de algunos tipos de cánceres. Este compuesto es un diterpeno tricíclico con una función amida por lo que en ocasiones se considera como un pseudoalcaloide.

1.3.3.- Recolección de *Calceolaria talcana*.

Esta especie fue recolectada en el camino Confluencia hacia Coelemu Km 5,5 (36° 37' 21" S, 72° 28' 16" W elev. 0 ft.) Octava región, Chile.

1.4.- *Condalia microphylla*.

La especie *Condalia microphylla* Cav. corresponde a un arbusto espinoso muy ramificado, perenne, leñoso, adaptado a vivir en ambientes secos, puede

alcanzar hasta los 1-2 metros de altura. Su hojas son pequeñas cutinizadas de 5 mm de largo y 2,5 mm de ancho, color verde oscuro, simples, sésiles, sus flores son amarillas las cuales no poseen pétalos, fue utilizada por los indígenas para consumo directo o para la producción de una bebida alcohólica por fermentación. Actualmente es utilizado por los pobladores para la preparación de arrope. Además es muy apreciado como leña de calidad y sus raíces se utilizan para el teñido de lana de color morado.

Si bien ésta especie es endémica de Argentina, la podemos encontrar también presente en Chile en localidades que poseen un ambiente seco o árido. Pertenecen a la familia de las Rhamnaceae, orden de los Rosales y es su nombre común "Piquillín", están constituidas por 49 géneros y aproximadamente 875 especies.

Ésta familia ha sido foco de múltiples estudios químicos, pudiendo determinar la presencia de alcaloides, grupo de compuestos débilmente alcalinos que contienen nitrógeno, y son en su mayoría de origen vegetal; poseen una complejidad molecular moderada que produce varios efectos fisiológicos en el cuerpo, entre los alcaloides estudiados en esta especie se encuentran los alcaloides peptídicos (Morel et. al., 1979), en cuyas propiedades destacan una gran variedad de actividades biológicas, incluida la sedación, propiedades anti fungicidas (Tschesche et al., 1974) y propiedades antibacterianas, Además se ha observado la presencia de hidrocarburos y ácidos grasos que han sido informados en las hojas y semillas.

1.4.1.- Alcaloides.

Se llama alcaloides a aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de aminoácidos, son básicos (excepto colchicina), y poseen acción fisiológica intensa en los animales aun a bajas dosis con efectos psicoactivos, por lo que son muy usados en medicina para tratar problemas de la mente y calmar el dolor. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la colchicina, la quinina, cafeína y la estricnina.

Sus estructuras químicas son variadas, la presencia de oxígeno en la estructura determina que la sustancia sea un sólido blanco, de sabor amargo y cristalizable. La ausencia de oxígeno en la estructura del alcaloide hace que éste sea aceitoso, volátil u odorante.

La mayoría de los alcaloides son insolubles o muy poco solubles en agua, pero se disuelven bien en alcohol, éter, cloroformo u otros solventes orgánicos.

1.4.2.- Recolección de *Condalia microphylla*.

La parte aérea y el tallo de ésta especie fue recolectada en el camino de Portezuelo hacia Ninhue, Km. 3,6 (36° 29' 38" S, 72° 26' 58" W elev. 403 ft) Octava región, Chile.

1.5.- Organismo usado en los bioensayos de la actividad insecticida de *Calceolaria talcana* y *Condalia microphylla*.

1.5.1.- *Drosophila melanogaster*: (Diptera: Drosophilidae)

Se les conoce también como mosca del vinagre o mosca de la fruta, es una especie de díptero braquícero de la familia Drosophilidae (ver figura 1). Recibe este nombre debido a que se alimenta de frutas en proceso de fermentación tales como manzana, uva, entre otros. Se trata de una especie utilizada frecuentemente en experimentación genética, dado que posee un reducido número de cromosomas (4 pares), un ciclo de vida breve (15-21 días) y se reproducen rápidamente, de modo que se pueden estudiar muchas generaciones en un corto espacio de tiempo.



figura 1: *Drosophila melanogaster*.

1.5.2.- Distribución geográfica.

Son consideradas Cosmopolita es decir, están ampliamente distribuidas, por lo que se les encuentran en todo tipo de clima, altitud y latitud. Se localizan especialmente en las frutas suaves donde la fermentación se ha iniciado y en general en alimentos con alto contenido de ácido acético.

1.5.3.- Ciclo de vida.

El ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* incluye 4 estadios (ver figura 2): huevo, larva, pupa y adulto. La duración del ciclo completo varía según la temperatura de cultivo. A 25°C el ciclo dura alrededor de 10 días, pero a 20° C el ciclo puede durar alrededor de 15 días, sin embargo los cultivos de *Drosophila m.* no deben exponerse a temperaturas iguales o superiores a 30°C ya que produce esterilización o muerte de las moscas, ni a bajas temperaturas ya que los ciclos de vida son más prolongados y disminuye la viabilidad. Por lo tanto la temperatura óptima de cultivo es 25°C.

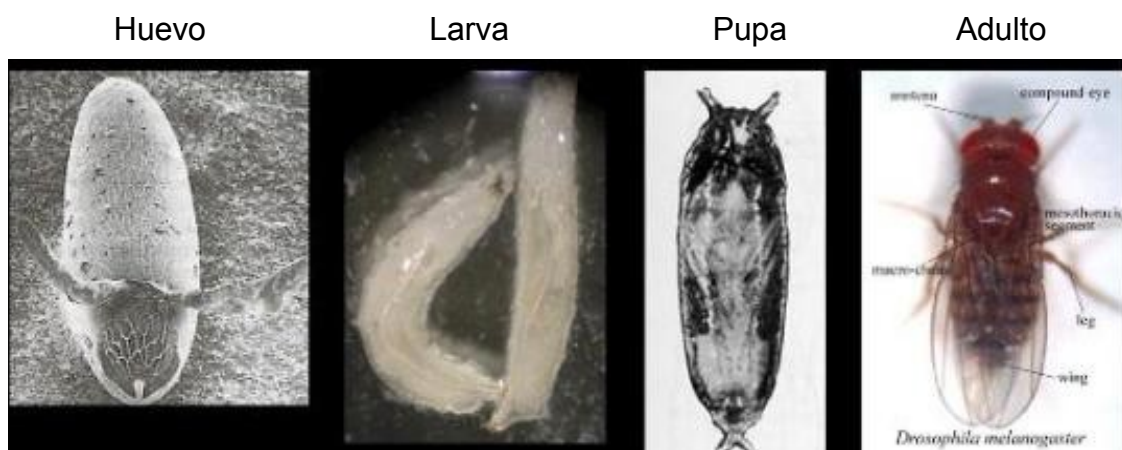


figura 2: Ciclo de vida *D. melanogaster*

Huevo (0.5 mm): Las hembras adultas son capaces de poner huevos dos días después de emerger del estado de pupa, la puesta aumenta por día durante una semana hasta 50 o 75 huevos por día. Los huevos son depositados en la superficie del alimento, éste es ovoide con dos pequeñas proyecciones que emergen de un extremo, éstas son aplanadas y sirven al huevecillo para no hundirse en el medio de cultivo. El desarrollo embrionario del huevo tarda aproximadamente 1 día a 25°C, luego la larva emerge del huevo.

Larva (4-5 mm): Es blanca, segmentada y vermiforme, tiene partes bucales de coloración negra en una región cefálica estrecha, que penetran en el alimento. En esta fase se diferencian tres estadios: El primer estadio larvario es el periodo comprendido entre la eclosión y la primera muda; el segundo estadio larvario comprende el periodo entre las mudas primera y segunda, y el tercer estadio larvario transcurre desde la segunda muda hasta la inmovilización de la larva para dar lugar a la pupa; en este estadio larvario la larva llega a alcanzar una longitud de 4.5 mm o incluso mayor, dependiendo de la cantidad de alimento y la temperatura de desarrollo larvario. Este periodo dura alrededor de 4 días a 25°C.

Pupa (3 mm): La pupa es considerada la fase reorganizativa del ciclo de las moscas, durante el cual la mayoría de las estructuras larvarias son destruidas y las estructuras adultas se desarrollan a partir de tejidos embrionarios, estos tejidos han permanecidos latentes en la mosca desde su diferenciación en el huevo. El estado de pupa se inicia en la última piel larvaria, la cual es en un inicio suave y blanca, pero gradualmente se endurece y adquiere un color más oscuro. Esta fase dura alrededor de 4 días a 25°C.

Adulto (2 mm): El adulto es considerado la fase reproductiva del ciclo, la mosca emerge o eclosiona del pupario forzando su salida por el extremo anterior del pupario. En un inicio la mosca adulta es de forma elongada con alas no expandidas. En una hora las alas se expanden y el cuerpo gradualmente adquiere una forma de adulto más definitiva. En un inicio los adultos son de un color

relativamente claro, pero dentro de las primeras horas se oscurecen y toman su color característico.

2.- HIPÓTESIS

Calceolaria talcana y *Condalia microphylla* poseen metabolitos secundarios con una importante actividad biológica insecticida.

3.- OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general:

3.1.1.- Determinar la actividad insecticida que presentan distintos extractos de *Calceolaria talcana* y *Condalia microphylla* presentes en Chile.

3.2.- Objetivos específicos:

3.2.1.- Indagar bibliográficamente antecedentes sobre *Calceolaria talcana* y *Condalia microphylla* con acción insecticida

3.2.2.- Desarrollar una metodología de cultivo para: *Drosophila melanogaster*.

3.2.3.- Comprobar cuál de los extractos a evaluar presenta actividad insecticida.

3.2.4.- Determinar cuál es la concentración mínima de mortalidad en el extracto con mayor actividad biológica

4.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- Preparación de extracto total de *Calceolaria talcana*.

Se maceró en metanol la cantidad total de la planta, realizando este procedimiento unas cuatro a seis veces hasta que el metanol salga transparente. Luego se filtró el metanol y se juntaron todos los filtrados, para posteriormente concentrar en el rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.1.1.- Preparación de fracción n-Hexano de *Calceolaria talcana*.

Se disolvieron 5 gramos del extracto total de *Calceolaria talcana* obtenido anteriormente, en 1 ml de metanol, se depositó la solución en un embudo de separación, en éste se agregaron 100 ml de n-Hexano por 3 veces, agitando en cada ocasión, luego se dejó reposar hasta obtener 2 fases la fase acuosa y la fase de n- Hexano, guardando la fase de n- Hexano y llevandola al rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.1.2.- Preparación de fracción Acetato de etilo de *Calceolaria talcana*.

Se agregó acetato de etilo a la fase acuosa obtenida en el procedimiento 4.1.1, 100ml por 3 veces, agitando en cada ocasión, se dejó reposar hasta obtener 2 fases: la fase acuosa y la fase de acetato de etilo, se guardó la fase de acetato de etilo y se llevó al rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.1.3.- Preparación de fracción Acuosa de *Calceolaria talcana*.

La fase acuosa obtenida de los dos procedimientos anteriores se concentró en el rotavapor a presión reducida, hasta obtener un aceite.

4.2.- Preparación de extracto total de hoja *Condalia microphylla*.

Se maceró en metanol la cantidad total de hojas de *Condalia microphylla*, realizando este procedimiento unas cuatro a seis veces hasta que el metanol salga transparente. Luego se filtró el metanol y se juntaron todos los filtrados, para posteriormente concentrar en el rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.2.1.- Preparación de fracción n- Hexano de hoja *Condalia microphylla*.

Se disolvieron 5 gramos del extracto total de hoja *Condalia microphylla*, obtenido anteriormente, en 1 ml de metanol, luego se puso la solución en un embudo de separación, en éste se agregaron 100 ml de n-Hexano por 3 veces, agitando en cada ocasión, luego se dejó reposar hasta obtener 2 fases: la fase acuosa y la fase de n- Hexano, se guardó la fase de n- Hexano y se llevó al rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.2.2.- Preparación de fracción acuosa de hoja *Condalia microphylla*.

La fase acuosa obtenida del procedimiento 4.2.1 se concentró en el rotavapor a presión reducida, hasta obtener un aceite.

4.3.- Preparación de extracto total de tallo *Condalia microphylla*.

Se maceró en metanol la cantidad total de tallo de *Condalia microphylla*, realizando este procedimiento unas cuatro a seis veces hasta que el metanol salga transparente. Luego se filtró el metanol y se juntaron todos los filtrados, para posteriormente concentrar en el rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.3.1.- Preparación de fracción n- Hexano de tallo *Condalia microphylla*.

Se disolvieron 5 gramos del extracto total de tallo *Condalia microphylla*, obtenido anteriormente, en 1 ml de metanol, se colocó la solución en un embudo de separación, en éste se agregó 100 ml de n-Hexano por 3 veces, agitando en cada ocasión, luego se dejó reposar hasta obtener 2 fases: la fase acuosa y la fase de n- Hexano, se guardó la fase de n- Hexano y se llevó al rotavapor a presión reducida hasta obtener un aceite.

4.3.2.- Preparación de fracción acuosa de hoja *Condalia microphylla*.

La fase acuosa obtenida del procedimiento 4.3.1 se concentró en el rotavapor a presión reducida, hasta obtener un aceite.

4.4.- Medio de cultivo de *Drosophila melanogaster*.

El medio de cultivo artificial de *Drosophila melanogaster* es una mezcla nutritiva diseñada para la alimentación de las larvas y adultos, para un litro está compuesta por; 16 g Agar, 60 g de sémola, 10 g levadura, 43 g de azúcar, 4.2 g de nitrato de potasio, 4.2 g Nitrato de sodio, 0.7 g de cloruro de potasio, 0.7 g de sulfato de potasio, 12,5 mg de Sulfato de hierro y 2 ml de ácido propanoico.

Para la realización del medio de cultivo, los ingredientes fueron agregados, en un recipiente con 1 litro de agua destilada, agitando a 60°C hasta obtener una mezcla homogénea, para luego agregar el ácido propanoico.

4.5.- Evaluación de la actividad insecticida.

4.5.1.- Preparación de placas de bioensayo.

Para la preparación de los bioensayos se utilizaron placas petri pequeñas, estériles, a las cuales se les agregó una capa fina de la dieta artificial de *Drosophila melanogaster* descrita en el punto 4.4.

En esta ocasión se utilizaron 4 concentraciones de cada compuesto a ensayar, 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm y 100 ppm.

Se introdujeron 10 larvas de *Drosophila melanogaster* que se encontraban en el primer estadio del proceso de desarrollo, por cada cápsula de petri, la cual contenía la dieta artificial y una de las cuatro concentraciones anteriormente nombradas.

Todos los tratamientos se llevaron a cabo en un entorno controlado en una cámara de fotoperiodo con 12 hrs luz y 12 hrs oscuridad a $25^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ y una humedad relativa del $80 \pm 5\%$. Durante el periodo de observación que

consistió en 24 hrs., 48 hrs. y 72 hrs, se registró el número de larvas vivas y muertas, en las diferentes concentraciones ensayadas.

Grupo control.

Una dieta se tratará sólo con etanol al 10% como grupo control.

5.- RESULTADOS

5.1.- Tabla N° 1. Porcentaje de mortalidad observada en *Drosophila melanogaster* a concentración 10 ppm.

| Muestras: | N° de larvas muertas* | | | %Porcentaje de mortalidad (72 hrs.) |
|---|-----------------------|------------|------------|-------------------------------------|
| | Tiempo | | | |
| | 24 hrs | 48 hrs | 72 hrs | |
| Control** | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0.7 ± 0.6a | 7% |
| Fracción n-Hexano <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0.7± 0.6a | 7% |
| Fracción Acetato de etilo <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0.7 ± 0.6a | 1.3 ± 0.6a | 13.3% |
| Fracción acuosa <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 3.6 ± 0.6b | 6.0 ± 1.0c | 60% |
| Fracción n-Hexano de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0.3 ± 0.6a | 0.7 ± 0.6a | 1.3 ± 0.6a | 13.3% |
| Fracción acuosa de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 1.7 ± 0.6a | 2.3 ± 0.6b | 23% |
| Fracción n-Hexano de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0.7 ± 0.6a | 7% |
| Fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |

*Nota: cada valor corresponde al promedio de tres experimentos diferentes ± D.S. Los valores seguidos con la misma letra no son significativamente diferentes. El nivel de significancia P < 95%.

** El control corresponde a dieta con etanol al10%.

5.2.- Tabla N °2. Porcentaje de mortalidad observada en *Drosophila melanogaster* a concentración 20 ppm.

| Tiempo | N° de larvas muertas* | | | %Porcentaje de mortalidad (72 hrs.) |
|---|-----------------------|------------|------------|-------------------------------------|
| | 24 hrs | 48 hrs | 72 hrs | |
| Control | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0.7 ± 0.6a | 7% |
| Fracción n-Hexano <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0.7± 0.6a | 1.3 ± 0.6a | 13.3% |
| Fracción Acetato de etilo <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 6.0 ± 1.0d | 6.7± 0.6d | 67% |
| Fracción acuosa <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 4.7 ± 0.6c | 6.3 ± 0.6d | 63% |
| Fracción n-Hexano de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0.3 ± 0.6a | 4.3 ± 0.6c | 5.3 ± 0.6c | 53.3% |
| Fracción acuosa de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 3.3 ± 0.6b | 4.3 ± 0.6c | 43.3% |
| Fracción n-Hexano de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 1.3 ± 0.6a | 2.3 ± 0.6b | 23.3% |
| Fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |

*Nota: cada valor corresponde al promedio de tres experimentos diferentes ± D.S. Los valores seguidos con la misma letra no son significativamente diferentes. El nivel de significancia P < 95%.

** El control corresponde a dieta con etanol al10%.

5.3.- Tabla N °3. Porcentaje de mortalidad observada en *Drosophila melanogaster* a concentración 50 ppm.

| Tiempo | N° de larvas muertas * | | | %Porcentaje de mortalidad (72 hrs.) |
|---|------------------------|------------|------------|-------------------------------------|
| | 24 hrs | 48 hrs | 72 hrs | |
| Control | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de <i>Calceolaria talcana.</i> | 1.7 ± 0.6a | 2.6 ± 0.6b | 3.3 ± 0.6b | 33.3% |
| Fracción n-Hexano <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 4.0± 1.0c | 6.3 ± 0.6d | 63.3% |
| Fracción Acetato de etilo <i>Calceolaria talcana.</i> | 0.7± 0.6a | 9.3 ± 0.6e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción acuosa <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 1.7 ± 0.6a | 8.7 ± 0.6e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción n-Hexano de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0.3 ± 0.6a | 4.7 ± 0.6c | 5.6 ± 0.6c | 63.3% |
| Fracción acuosa de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0.3 ± 0.6a | 6.3 ± 0.6d | 7.0 ± 1.0d | 70% |
| Fracción n-Hexano de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0.3 ± 0.6a | 6.3 ± 0.6d | 6.6 ± 0.6d | 66.6% |
| Fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |

*Nota: cada valor corresponde al promedio de tres experimentos diferentes ± D.S. Los valores seguidos con la misma letra no son significativamente diferentes. El nivel de significancia P < 95%.

** El control corresponde a dieta con etanol al10%.

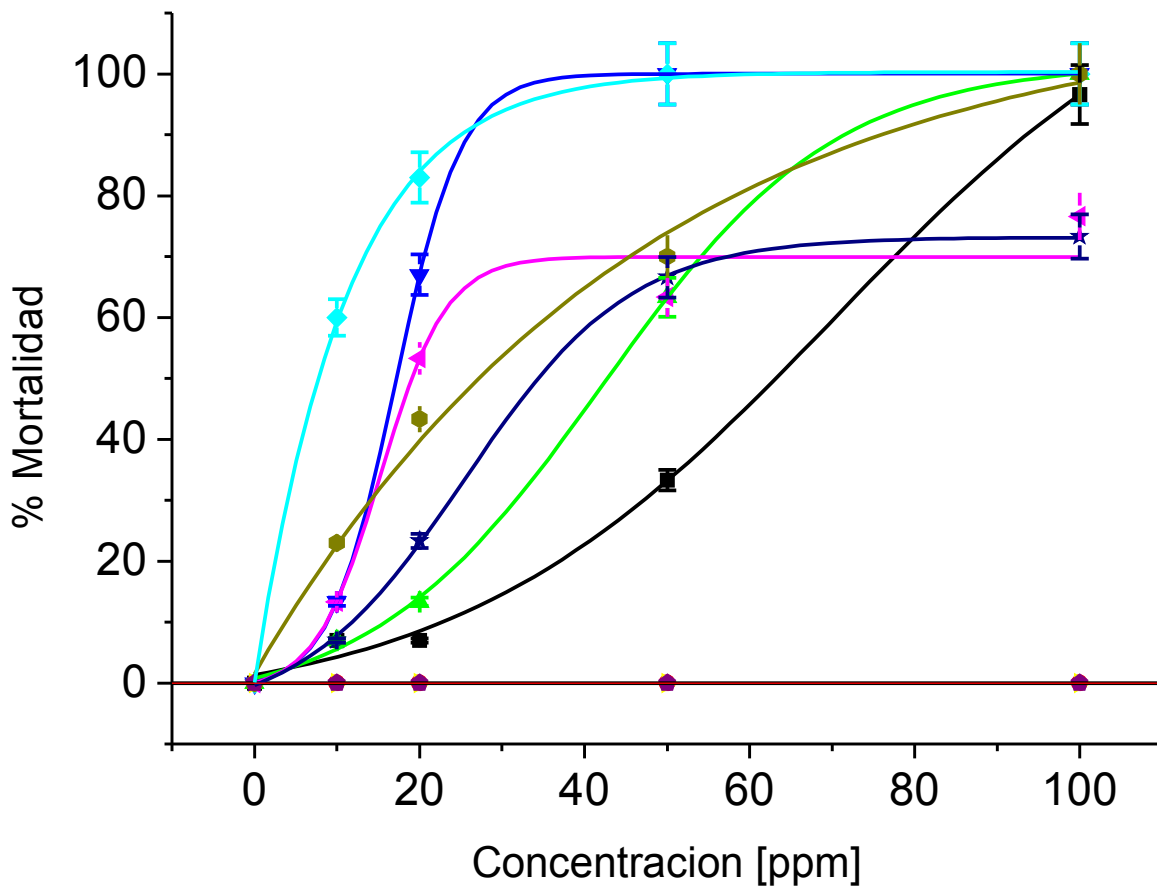
5.4.- Tabla N°4. Porcentaje de mortalidad observada en *Drosophila melanogaster* a concentración 100 ppm.

| Tiempo | N° de larvas muertas * | | | %Porcentaje de mortalidad (72 hrs.) |
|---|------------------------|------------|------------|-------------------------------------|
| | 24 hrs | 48 hrs | 72 hrs | 72 hrs. |
| Control | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de <i>Calceolaria talcana.</i> | 5.3 ± 0.6c | 8.3 ± 0.6d | 9.6 ± 0.6e | 96.6% |
| Fracción n-Hexano <i>Calceolaria talcana.</i> | 3.7 ± 0.6b | 9.6 ± 0.6e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción Acetato de etilo <i>Calceolaria talcana.</i> | 1.0 ± 1.0a | 10.0± 1.0e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción acuosa <i>Calceolaria talcana.</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 1.7 ± 0.6a | 9.0 ± 1.0e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción n-Hexano de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 1.0 ± 1.0a | 7.0 ± 1.0d | 7.6 ± 0.6d | 76.6% |
| Fracción acuosa de tallo <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |
| Extracto total de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 1.7 ± 0.6a | 9.3 ± 0.6e | 10.0±1.0e | 100% |
| Fracción n-Hexano de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0.7 ± 0.6a | 4.3 ± 0.6c | 7.3 ± 0.6d | 73.3% |
| Fracción acuosa de hoja <i>Condalia microphylla</i> | 0 | 0 | 0 | 0% |

*Nota: cada valor corresponde al promedio de tres experimentos diferentes ± D.S. Los valores seguidos con la misma letra no son significativamente diferentes. El nivel de significancia P < 95%.

** El control corresponde a dieta con etanol al 10%.

5.5.- Grafica N^a 1: % Mortalidad de *Drosophila melanogaster* en diferentes extractos de *Calceolaria talcana* y *Condalia microphylla*.



- Extracto total *Calceolaria talcana*.
- Fracción acuosa *Calceolaria talcana*.
- ▲ Fracción n-Hexano *Calceolaria talcana*.
- ▼ Fracción acetato de etilo *Calceolaria talcana*.
- ◆ Extracto total tallo *Condalia microphylla*.
- ◄ Fracción n-Hexano tallo *Condalia microphylla*.
- Fracción acuosa tallo *Condalia microphylla*.
- Extracto total hoja *Condalia microphylla*.
- ★ Fracción n-Hexano hoja *Condalia microphylla*.
- ◆ Fracción acuosa hoja *Condalia microphylla*.

6.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según los resultados obtenidos de los bioensayos realizados en *Drosophila melanogaster* al cabo de 72 horas, se observa que el extracto que posee mayor efectividad en una menor concentración en [ppm] corresponde a el extracto total metanolico (MeOH) de tallo de *Condalia microphylla*, este extracto es efectivo a un 60% en la concentración mínima estudiada de 10 ppm, alcanzando una efectividad de 100% a una concentración de 50 ppm.

El segundo extracto que resulta ser efectivo a una baja concentración es el extracto total MeOH de hoja de *Condalia microphylla*, este extracto alcanza una efectividad de 23% de mortalidad a la concentración de 10 ppm, y aumenta gradualmente hasta llegar a un 100% de efectividad (mortalidad) a la concentración máxima utilizada de 100 ppm.

Los extractos fracción acetato de etilo de *Calceolaria talcana* y fracción n-Hexano de tallo de *Condalia microphylla* presentan una efectividad de 13.3% de mortalidad a concentración de 10ppm. Sin embargo, la fracción acetato de etilo de *Calceolaria talcana* muestra un 100% de efectividad (mortalidad) a la concentración de 50 ppm, la fracción n-Hexano de tallo de *Condalia microphylla* alcanza solo un 76.6% de mortalidad a la concentración máxima estudiada de 100 ppm.

Los extractos MeOH de *Calceolaria talcana*, fracción n-Hexano de *Calceolaria talcana* y fracción n-Hexano de hoja de *Condalia microphylla* alcanzan solo un 7% de efectividad a la concentración mínima de 10 ppm. El extracto MeOH de *Calceolaria talcana* consigue un 96.6% de mortalidad a la concentración de 100ppm, la fracción n-Hexano de *Calceolaria talcana* alcanza un 100% de mortalidad a la concentración de 100ppm y la fracción n-Hexano de hoja de *Condalia microphylla* solo obtiene 73.3% de efectividad a 100 ppm.

Las fracciones acuosas tanto de *Calceolaria talcana* como de hoja y tallo de *Condalia microphylla* no presentan actividad insecticida alguna en ninguna de las concentración analizadas, teniendo un porcentaje de 0% de mortalidad a la concentración máxima analizada de 100ppm.

7.- CONCLUSIONES

Se ha demostrado que los metabolitos secundarios aislados de diferentes tipos plantas poseen actividad insecticida en diferentes tipos de plagas conocidas (Jacobson M., 1989).

La evaluación biológica realizada frente a *Drosophila melanogaster* demuestra una clara efectividad insecticida de los metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones evaluadas, que poseen tanto *Calceolaria talcana* como *Condalia microphylla*.

Las muestras que presentan mayor efectividad en una baja concentración corresponde a las encontradas en Extracto total (MeOH) de tallo de *Condalia microphylla*, lo que muestra que la composición de alcaloides presentes en esta planta presentan una potente actividad insecticida y a la vez una expectativa ecológica en el manejo integrado de plagas.

Los resultados obtenidos son concordantes con estudios reportados en la literatura especializada.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ademir F. Morel *, Graciela Maldaner, Vinicius Ilha, Fabiana Missau, Ubiratan F. Silva, Ionara I. Dalcol. Cyclopeptide alkaloids from *Scutia buxifolia* Reiss and their antimicrobial activity. *Phytochemistry* 66 (2005) 2571–2576.
- Benjamín A. ROJANO, Carlos A. GAVIRIA M, Jairo A. SÁEZ V., Francisco YEPES, Felipe MUÑOZ y Felipe OSSA. BERENJENOL AISLADO DE *Oxandra cf xylopioides* (ANNONACEAE) COMO INSECTICIDA. *Vitae* vol. 14 no. 2 Medellín 2007.
- Laura Böhm, Nolberto Arismendi, and Luigi Ciampi. (2009). Nematicidal activity of leaves of common shrub and tree species from Southern Chile against *Meloidogyne hapla* Cien. Inv. Agr. 36(2):249-258.
- Carlos L. Céspedes, José S. Calderón, Laura Lina y Eduardo Aranda. (2000) Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids Isolated from *Cedrela spp.* (Meliaceae). *J. Agric. Food Chem.* 48, 1903-1908.
- Céspedes CL, Aranda E, Salazar R, Martínez M. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. *Phytochemistry*. 2005; 66: 2481-2493
- Carlos L. Céspedes, Julio Alarcón, Sergio Águila, Patricio Torres, Pedro Aqueveque, José Becerra y Mario Silva. (2008). Antifeedant and Insect

Growth Regulatory Activities of Methanolic Extracts from Chilean Podocarpaceae. *Biopestic. Int.* 4(1): 35-51.

- Juan A. Garbarino, M. Cristina Chamy y Marisa Piovano. Química y biología de los géneros *Calceolaria* (Scrophulariaceae) y *Nolana* (Nolanaceae). XIII CONGRESSO ITALO-LATINO AMERICANO DI ETNOMEDICINA
- Jacobson, M. Botanical Pesticides Past, Present and Future. In *Insecticides of Plant Origin*; Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Morand, P., Eds.; ACS Symposium Series 387, Washington, DC, 1989, pp95-109.
- Madeleine M. Joullie^{*} and David J. Richard. Cyclopeptide alkaloids: chemistry and biology; This journal is _The Royal Society of Chemistry (2004) 2011–2015.
- Morel, A.F., Bravo, R.V.F., Reis, F.M., Ruveda, E.A., 1979. Peptide alkaloids from *Scutia buxifolia*. *Phytochemistry* 18, 473-477.
- Morel, A.F., Maldaner, G., Ilha, V., Marangon p, Stuker, C.z. Study of the relation between structure and antimicrobial activity of condalinal-A, derivates and synthetic peptidic fragments. 4 th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry. 2008.
- PERRY, A. S., YAMAMOTO I., ISHAYA I., PERRY R. Y. (1998). *Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects*. Springer-Verlag, Berlin. 261 p.
- RODRÍGUEZ, C.; SILVA, G.; DJAIR, V. (2003) Bases para el manejo racional de insecticidas: Insecticidas de origen vegetal. Facultad de

Agronomía, Universidad de Concepción, y Fundación para la Innovación Agraria. pp. 89-111.

- Silva, G., A. Lagunes, J.C. Rodríguez, y D. Rodríguez. (2001). Insecticidas vegetales; una vieja nueva opción en el combate de insectos. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66:4-12.
- Patricio Torres, J. Guillermo Ávila, Alfonso Romo de Vivar, Ana M. García, Juan C. Marín, Eduardo Aranda, Carlos L. Céspedes, Antioxidant and insect growth regulatory activities of stilbenes and extracts from *Yucca periculosa*. *Phytochemistry* 64 (2003) 463–473
- VILLALOBOS, P. (1996) Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid. 35 p.