

Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Quassia amara L. (Simaroubaceae)

Dominguezia

Vol. 35(2) - 2019

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Edda C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Etile Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. José María Prieto-García
Dra. Catalina M. van Baren
Dr. Rafael A. Ricco
Dra. Graciela B. Bassols
Dra. Cecilia Dobrecky

Secretaría, Edición Electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por
el **Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”** y la **Cátedra de Farmacobotánica**,
Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones, devoted to
Pharmaceutical Botany, Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:
Quassia amara L. (Simaroubaceae)
*Lámina extraída de Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen
Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte. Band I. (1887)*

Incluida en el Directorio de LATINDEX por el Centro Argentino de Información
Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET) con el número de Folio 2787 *Dominguezia*,
y en SISBI, BVS MTCI Americas, CABI, LIS, UBL, PKP Index, Electronic Sites of Leading Botany,
Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 5353064.

Se terminó de editar en diciembre de 2019.

Índice de contenido

Evaluación del efecto insecticida de <i>Picrasma crenata</i> Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— sobre coleópteros plaga de granos almacenados 5 Silvia M. Rodríguez
Calidad botánica de seis plantas andinas, condimenticias y medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina 15 Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni
Evaluación de la genotoxicidad y toxicidad general de extractos acuosos de <i>Acanthospermum australe</i> Loefl. Kuntze (Asteraceae) por medio del test de <i>Allium cepa</i> 23 Carlos G. Altamirano
Diseño de una base de datos de Plantas Medicinales de Entre Ríos, República Argentina 29 Daniel M. Heissenberg, Gerardo N. Guerrero Flores, Renan Lima de Araujo, Nelson Saldaña Baptista, Giovanna Barbalho Leal, Sonia Brandt, Melinca A. Delgado
Evaluación de la acción insecticida de aceites esenciales en larvas de <i>Plutella xylostella</i> (Lepidoptera: Plutellidae) 35 Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa

Index

Evaluation of the insecticidal effect of <i>Picrasma crenata</i> Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— on Coleoptera pests of stored grains 5 Silvia M. Rodríguez	5
Botanical quality of six Andean plants, condiments and medicinal, commercialized in the city of San Salvador de Jujuy, Argentina 15 Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni	15
Evaluation of genotoxicity and general toxicity of aqueous extracts of <i>Acanthospermum australe</i> Loeffl. Kuntze (Asteraceae) through the <i>Allium cepa</i> test 23 Carlos G. Altamirano	23
Design of a database of Medicinal Plants of Entre Ríos, Argentina 29 Daniel M. Heissenberg, Gerardo N. Guerrero Flores, Renan Lima de Araujo, Nelson Saldaña Baptista, Giovanna Barbalho Leal, Sonia Brandt, Melinca A. Delgado	29
Insecticidal activity of essential oils against <i>Plutella xylostella</i> larvae (Lepidoptera: Plutellidae) 35 Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa	35

Evaluación del efecto insecticida de *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— sobre coleópteros plaga de granos almacenados

Silvia M. Rodríguez

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Zoología Agrícola. Avenida San Martín 4453 (1417). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: silro@agro.uba.ar

Compendio de tesis

Lugar y fecha de aprobación de la tesis: Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad de La Plata. 3 de octubre de 2015.

Resumen

Se evaluó la acción de *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl (Simaroubaceae) sobre coleópteros plaga de granos almacenados: *Sitophilus oryzae*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* y *Ulomoides dermestoides*. Se desarrollaron experiencias con distintos extractos obtenidos con solventes de diferente polaridad (no polares a polares) y extractos acuosos (infusión y cocimiento). Se observó el efecto por contacto tarsal y se concluye que la efectividad de los extractos obtenidos de *P. crenata* varía de acuerdo con la polaridad de los solventes utilizados y a mayor concentración del bioinsecticida mayor porcentaje de mortalidad. Además, se observó la acción por ingesta de extractos de acetato de etilo y acetona de *P. crenata* sobre adultos de *T. castaneum*. Los adultos respondieron a las mayores dosis de los extractos de acetona y etanol, la duración del período larval varió con los extractos de acetato de etilo y etanol. La duración del período pupal varió con el extracto de acetato de etilo. En otra experiencia se evaluó la acción de *P. crenata* como regulador de crecimiento al comparar su acción con los reguladores de crecimiento: Novalurón® y Lufenurón®. En relación al desarrollo larval, todos los extractos tuvieron un comportamiento similar al Novalurón®; los extractos de acetato de etilo y etanol tuvieron un comportamiento similar al Lufenurón®. En relación al desarrollo pupal el extracto de acetato de etilo tuvo un comportamiento similar a los reguladores de crecimiento. Se llevaron a cabo ensayos por topicación sobre las plagas de granos almacenados con la conclusión que los extractos de *P. crenata* no responden como bioinsecticidas al aplicarse por topicación. Se evaluaron las cuasinas y neocuasinas por contacto tarsal e ingesta. Los resultados indican que la fracción con la mayor relación cuasina/neocuasina mostró un efecto por contacto tarsal sobre *S. oryzae*, con una eficacia del 100 % al cabo de 48 horas y que la acción sinérgica de cuasina y neocuasina presentó un efecto positivo sobre la mortalidad de *T. castaneum* cuando actuó por ingesta y por contacto tarsal sobre *S. oryzae*.

Evaluation of the insecticidal effect of *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— on Coleoptera pests of stored grains

Summary

The action of *Picrasma crenata* on Coleoptera, pests of stored grains was evaluated: *Sitophilus oryzae*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* and *Ulomoides dermestoides*. Experiences were developed with different extracts obtained with solvents of different polarity (not polar to polar) and aqueous extracts (infusion and decoction). The tarsal contact effect was observed and it is concluded that the effectiveness of the extracts obtained from *P. crenata* varies according to the polarity of the solvents used and an increased in mortality is observed at a higher bioinsecticide concentration. In addition, the effect by ingestion of ethyl acetate and acetone extracts of *P. crenata* on adults of *T. castaneum* was observed. The adults responded to the highest doses of the acetone and ethanol extracts, the length of the larval period varied with the ethyl acetate and ethanol extracts. The duration of the pupal period varied with the ethyl acetate extract. In another experience, the action of *P. crenata* as a growth regulator was evaluated by comparing its action with growth regulators: Novaluron™ and Lufenuron™. In relation to the larval development, all the extracts had a similar behaviour to Novaluron. The ethyl acetate and ethanol extracts had a similar behaviour to Lufenuron. In relation to the pupal development the ethyl acetate extract had a similar behavior to the growth regulators. Experiments were carried out by topication on stored grain pests and it was concluded that extracts of *P. crenata* did not respond as bioinsecticides when applied by top-

Palabras clave: *Picrasma crenata* - bioinsecticida - cuasinas - neocuasinas - reguladores de crecimiento.

Key words: *Picrasma crenata* - bioinsecticide - quassin - neoquassin - growth regulator.

ication. Quassins and nequassins were evaluated by tarsal contact and ingestion. The results indicate that the fraction with the highest quassin/neoquassin ration showed an effect by tarsal contact on *S. oryzae*, with a 100 % efficiency after 48 hours and that the synergy of cuasine and neocuasine had a positive effect on the mortality of *T. castaneum* when acting by ingestion and by tarsal contact on *S. oryzae*.

Introducción

Los granos cosechados y llevados a depósito pasan a formar un nuevo ecosistema en el cual interactúan factores bióticos (hongos, bacterias, insectos, ácaros, roedores, entre otros) y abióticos (temperatura, humedad). Estos factores, así como causas de índole técnica (estado del grano, condiciones de almacenamiento, duración, entre otros), producen un deterioro del producto que se observa en una disminución de su valor comercial (Alonso y col., 1996). Para evitar el efecto de estos factores deben cumplirse tres requisitos básicos: el grano se debe guardar seco, sano y limpio (Casini y Santa Juliana, 2005).

De los 15 millones de organismos vivos (animales y vegetales), los insectos representan el 50 % (Speight y col., 2008). Actualmente se han registrado aproximadamente 250 especies de insectos plagas de granos almacenados, de las cuales 25 son de importancia por los daños que ocasionan (FAO, 2001). Las pérdidas debidas a estos daños oscilan entre 5 y 10 % en países desarrollados, mientras que en países en vías de desarrollo esta cifra es aproximadamente del 50 % (Adam y col., 2006).

De los numerosos órdenes de insectos, solamente tres, Coleoptera (gorgojos), Lepidoptera (mariposas y polillas) y Psocoptera (piojos de los libros), contienen especies consideradas plagas de granos almacenados. Los órdenes Hemiptera (chinchas) e Hymenoptera (avispidas) actúan como predadores y parasitoides de las plagas pertenecientes a los grupos mencionados. Miembros de otros órdenes como Thysanura (pececitos de plata), Blattaria (cucarachas), Diptera (moscas) e Isoptera (termitas) pueden encontrarse accidentalmente contaminando los granos (Riudavets y col., 2002; Rees, 2004; Dal Bello y Padín, 2006; Nerio y col., 2009).

Entre las diversas estrategias disponibles para el control de plagas, aquellas que incluyen el uso de insecticidas sintéticos son las más utilizadas. Sin embargo, su empleo en dosis inadecuadas suele causar fenómenos de resistencia y resurgencia de plagas y, además, provocar fitotoxicidad y contaminación del ambiente ya que al acumularse en los alimentos, los insecticidas pueden resultar tóxicos para el hombre y otros mamíferos e incluso eliminar insectos benéficos (Alonso y col., 1996).

Como consecuencia de la utilización de los insecticidas sintéticos y en relación a una agricultura económica y ecológicamente sustentable, en el mediano y en el largo plazo, resulta imprescindible buscar nuevas pautas de manejo de plagas durante el almacenamiento de la producción de granos (Silva y col., 2002).

Algunos compuestos químicos de origen vegetal, como los metabolitos secundarios, resultan efectivos para controlar las poblaciones de aquellos insectos considerados plaga. Una ventaja del uso de estos metabolitos secundarios es que no dejan residuos tóxicos que puedan afectar sensiblemente tanto a la fauna como al hombre (Davidson, 1992).

La familia Simaroubaceae fue estudiada según distintas perspectivas. Entre los aspectos observados se han comprobado sus propiedades medicinales y antifúngicas. Sus especies se caracterizan por la presencia de principios activos de sabor amargo en su leño descortezado conocidos como cuasinoides. Estos compuestos son de naturaleza terpenoide y, entre ellos, el principal responsable del sabor amargo es la cuasina ($C_{22}H_{28}O_6$), que es la sustancia más amarga encontrada en la naturaleza (50 veces más que la quinina) (Theis, 2003).

Varias especies de la familia Simaroubaceae han demostrado tener actividad insecticida como los aceites esenciales de *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle sobre *Lasioderma serricornis* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae) que actúa como repelente y, además, tiene una alta actividad fumigante sobre esta plaga (Lu y Shi, 2012). La especie más estudiada por sus propiedades insecticidas es *Quassia amara* L., nativa de las Guayanas Francesas y, según la literatura, fue citada por primera vez en el año 1835 (Beserra Almeida, 2007). Los compuestos aislados del leño de *Q. amara* fueron: cuasina, cuasinol, cuasimarina, cuasinasi-na, 18-hidroxicuasina, neocuasina, dihidronorneocuasina, y simalikalactonas A, B, C y D (Alonso, 2004).

Por otro lado, se observó el efecto de la cuasina sobre el pulgón del lúpulo [*Phorodon humuli* (Schrank) (Hemiptera: Aphididae)] (Rosella y col., 1991), el efecto fagodisuasivo sobre el gusano masticador [*Spodoptera eridania* Stoll. (Lepidoptera: Noctuidae)] (Guo y col., 2005) y sobre el escarabajo mexicano del frijol [(*Epilachna varivestis* Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae)] (Leskinen y col., 1984). Por otra parte, Guo y col. (2005) comprobaron que a una concentración de 0,05 % la cuasina no es fitotóxica.

El género *Picrasma* Blume está representado por árboles o arbustos que alcanzan una altura máxima de 20 m y se caracterizan por poseer tanto la corteza como la madera muy amarga. En la Argentina, algunas Simaroubaceae nativas son utilizadas para el control biológico, por ejemplo, *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl (sin.: *Aeschryn crenata* Vell. o *Picrasma palo-amargo* Spreng.), cuyo nombre vulgar es "palo amargo", es una especie citada para el no-

reste del país, en la provincia de Misiones (Vitagliano y Comin, 1971; Zuloaga y Morrone, 1999). Esta especie se encuentra estrechamente emparentada con otras especies de esta familia como *P. excelsa* (Sw) Planch., *Picrasma quasiosoides* Benn, *Picramnia pentandra* Sw, *Simarouba glauca* DC y *Simarouba tulae* Urban (Woodbury y col., 1974). La cuasina, neocuasina y picrasmina se utilizan como insecticidas naturales. Estos compuestos tienen acción insecticida sobre varias especies de Hemiptera, Lepidoptera y Coleoptera (Stoll, 1989, Mambelli y col., 1994). Daido y col. (1995) realizaron estudios de la estructura de los cuasinósidos para determinar su actividad insecticida y antialimentaria; demostraron que se requiere un grupo carbonilo en el anillo A; un carbonilo β insaturado o un metileno dióxido en el anillo C y una lactona en el anillo D.

Debido a la importancia de contar con insecticidas naturales se analizó la actividad de los extractos polares y no polares de *Picrasma crenata* sobre las siguientes plagas de granos almacenados: *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae), *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Ulomoides dermestoides* (Fairm) (Coleoptera: Tenebrionidae).

A través de distintas metodologías se observó su efecto por contacto tarsal, ingesta y topicación. Se lo comparó con la acción de insecticidas convencionales y reguladores de crecimiento, como así también, se estudió la acción directa de los cuasinoides (cuasina y neocuasina).

Materiales y métodos

Material Vegetal

El leño de *P. crenata* fue provisto por la empresa "Platarío S. A.", proveniente de plantaciones comerciales en Apóstol (provincia de Misiones). El material fue determinado por Beatriz G. Varela, y una muestra se encuentra depositada en el Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (Colección BAF de drogas vegetales).

Elaboración de los preparados para el análisis

Extractos orgánicos

Se colocaron 200 g de leño de "palo amargo" trozado en un recipiente adecuado, se le agregó 2 L de éter de petróleo y se dejó macerar durante 48 h. Al cabo de este lapso, se filtró y se llevó a sequedad con un evaporador rotatorio a presión reducida. A los últimos 20 ml de la solución sometida a evaporación se le agregó 2 g de manitol como adsorbente. El material de "palo amargo" utilizado para esta primera extracción se lo puso en contacto con el solvente diclorometano. Se repitió el procedimiento para éste y los

siguientes solventes en escala de polaridad creciente: acetato de etilo, acetona, etanol y metanol.

Extractos acuosos

Cocimiento o decocción: se colocaron 100 g de leño de "palo amargo" finamente molido en un recipiente adecuado, se le agregó 1 L de agua destilada, se calentó la mezcla hasta que el agua hirvió, se mantuvo en esta condición durante 20 min a ebullición lenta. Se dejó enfriar hasta los 40 °C, se filtró y liofilizó (Farmacoepa Argentina, VIII Ed.).

Infusión: se agregaron 100 g de leño de "palo amargo" finamente molido en un recipiente adecuado, se colocó 1 L de agua destilada hirviendo y se dejó reposar por 20 min (Farmacoepa Argentina, VIII Ed.). Se filtró y liofilizó.

Obtención de los cuasinoides (cuasina y neocuasina)

Maceración: se pesaron 200 g de leño trozado de *P. crenata*, se molieron con un molino de cuchillas rotativas y luego se colocaron a macerar en un recipiente adecuado. Por cada 100 g del polvo se agregó 100 ml de diclorometano (CH_2Cl_2), se lo dejó en contacto durante 72 horas agitando periódicamente. Se realizaron dos extracciones sucesivas que fueron unidas posteriormente.

Concentración: para este proceso se utilizó un evaporador rotatorio reduciéndose el volumen a 50 ml.

Con el objetivo de confirmar si los extractos de *P. crenata* obtenidos con diclorometano contenían cuasina y neocuasina, se realizó una cromatografía en capa delgada (CCD) del extracto. Se utilizó como fase estacionaria una placa de sílica gel 60 F254, con zona de concentración, de 2 mm de espesor y tamaño de 20 x 4 cm. Como su nombre lo menciona, esta placa posee un indicador de fluorescencia bajo luz ultravioleta (UV) a 254 nm, que facilita la observación de las bandas de cuasina y neocuasina a esa longitud de onda.

La siembra se realizó con un capilar de vidrio, para garantizar la distribución uniforme y se colocó la placa en una cuba de cromatografía. La solución testigo estaba compuesta por una mezcla de cuasina y neocuasina purificados, que se utilizaron para la comparación de las bandas. La fase móvil utilizada fue cloroformo metanol (95:5).

Luego de realizada la corrida cromatográfica, la placa se observó bajo luz UV a una longitud de onda de 254 nm, luego a 365 nm. Se obtuvieron 6 bandas. Sobre una parte del cromatograma se reveló utilizando una solución de vainillina al 1 % en etanol seguida de ácido sulfúrico al 10 % en etanol (Wagner y Bladt, 1996).

Cuantificación de los cuasinoides

Con el fin de determinar el contenido de los cuasinoides en las seis bandas (o fracciones) obtenidas de la CCD se realizó una cromatografía líquida de alta resolución

(HPLC) con detector UV/visible, bajo los siguientes parámetros (Robins y col. 1984):

Columna. LiChroCart 250-4 RP-18 (5 µm).

Fase móvil. ácido ortofosfórico 0,02 M : metanol : acetonitrilo (50:35:15).

Flujo. 0,5 ml por minuto.

Longitud de onda del detector. 255 nm.

Volumen de inyección. 10 µl.

Solución estándar mixta. 25 mg en 50 ml en fase móvil

Solución muestra. 140 mg de cada banda eluida en 25 ml en fase móvil.

Tiempos de retención. Cuasina, 10,6 min; Neocuasina, 20 min.

Concentración de Cuasinas. Banda 2: 0,0044 mg/ml. Banda 3: 0,0318 mg/ml

Concentración de Neocuasinas. Banda 2: 0,01068 mg/ml. Banda 3: 0,01854 mg/ml. Banda 4: 0,01788 mg/ml

Las bandas 1, 5 y 6 no poseen cuasina ni neocuasina. En base a estas fracciones se elaboraron los tratamientos.

Cría de las plagas de granos almacenados en condiciones de laboratorio

Los individuos utilizados para desarrollar las experiencias fueron obtenidos a partir de la cría realizada en la Cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Las condiciones de laboratorio fueron 28 ± 1 °C y 76 % de HR. La temperatura se mantuvo mediante una estufa con termostato y la humedad con un humidificador y una solución saturada de NaCl (Winston y Bates, 1960). En todos los casos, los insectos provenían de una misma cohorte. Las experiencias se llevaron a cabo sobre cuatro plagas de granos almacenados: *S. oryzae*, *O. surinamensis*, *T. castaneum* y *U. dermestoides*. Para esto se aislaron 200 insectos entre machos y hembras de cada especie. Se colocaron en contacto con el alimento correspondiente, contenidos en frascos de vidrio de 12 cm de diámetro de boca y 25 cm de alto y tapa de tela metálica de 0,5 mm para facilitar el intercambio gaseoso durante 15 días, tiempo suficiente para que se produzca la fecundación de estas especies anfígónicas y su posterior oviposición. Transcurrido este lapso se retiraron los adultos. Se cumplió su ciclo vital en el cual a partir de los huevos se desarrollaron los estados de larva, pupa y posteriormente adulto o imago. Las experiencias se desarrollaron con esta primera generación (F1).

Insecticida organofosforado, metil-clorpirifós, considerado en los bioensayos

Un número reducido de insecticidas se utilizaron con éxito en el control de las plagas de granos almacenados. Los organofosforados no constituyen una solución para el control de estas plagas, pero su aplicación sobre pisos, paredes y techos, así como en el exterior de las estibas, coadyuva a mantener un nivel bajo de plagas, sobre todo en almacenes con un movimiento importante de merca-

dería (Dierksmeier Corcuera, 2007). Un insecticida convencional con estas características es el metil-clorpirifós (5,6 mPa). Este compuesto es un organofosforado sólido, blanco, de apariencia cristalina y de aroma fuerte. Actúa por contacto e ingestión y, además, en fase vapor (inhalación), penetra profundamente en el canopeo del cultivo. Es estable y persistente en el suelo.

Los extractos obtenidos de *P. crenata* fueron contrastados con el insecticida metil-clorpirifós (N° CAS 2921-88-2). Para este experimento se consideraron aquellos extractos que produjeron una mayor mortalidad y estabilidad en las experiencias previas del método del film sobre las plagas de granos almacenados. Estos fueron acetato de etilo, acetona y etanol, los cuales se compararon con el insecticida convencional sobre el insecto *T. castaneum*.

Análisis de Variancia

Se realizó un análisis de variancia a cada uno de los extractos seleccionados, en sus respectivas concentraciones y metil-clorpirifós, testeado a una dosis comercial, durante 72 horas, con un intervalo de 6 h entre cada observación (Infostat, 2009). Se calculó la concentración letal 50 (CL50) y el tiempo letal 50 (TE50).

Bioequivalencia

En la prueba de hipótesis de equivalencia la estrategia es emplear una hipótesis nula de medias distintas, a diferencia de la estrategia clásica. De este modo el rechazo de la hipótesis nula resulta en tener suficientes evidencias de equivalencia de medias. Como dos medias poblacionales nunca van a ser exactamente idénticas, la hipótesis nula usada en la práctica es aquella en que la diferencia entre las medias es mayor que algún valor de tolerancia definido a priori por el investigador. El nivel de tolerancia empleado puede basarse en un nivel arbitrario de similaridad (Garret, 1997).

Las hipótesis para comparar el tratamiento experimental y el estándar fueron planteadas según la técnica de bioequivalencia, más específicamente de no inferioridad, siguiendo a Diletti y col. (1992).

Ensayos biológicos

Exposición por método del film (contacto tarsal)

En el interior de las cajas de Petri se colocó un papel de filtro humedecido con 1 ml de cada una de las soluciones. En los tratamientos testigos se procedió del mismo modo pero con agua destilada. Se introdujeron 10 ejemplares adultos de la plaga de granos almacenados en estudio (*S. oryzae*, *T. castaneum*, *O. surinamensis* y *U. dermestoides*), se realizaron cinco repeticiones. Se efectuó el recuento de los individuos muertos a los 30 min, 6, 12, 24, 48 y 72 ho-

ras luego de comenzado el ensayo. Los datos se analizaron mediante ANOVA y pruebas a posteriori (Tukey, $\alpha = 0,05$) para la mortalidad, calculada como:

$$\text{Mortalidad \%} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de individuos muertos}}{\text{N}^\circ \text{ de individuos totales}} \times 100$$

Concentración Letal 50 y el Tiempo Efectivo 50

Se calculó la Concentración Letal 50 (CL50) y el Tiempo Efectivo 50 (TE50) con sus intervalos de confianza por el método de Probit (Miller y Tainter, 1944; Weil, 1952; Silva y Hepp, 2003).

Exposición por ingestión del alimento tratado

El ensayo se realizó con *T. castaneum* debido a su importancia económica en la conservación de granos y por ser, además, una plaga de infestación secundaria por lo cual, ataca los granos quebrados y productos de la molienda, quedando expuestos los adultos y las larvas a la acción de los insecticidas.

La dieta base consistió en harina de trigo 0000, levadura de cerveza en polvo y fécula de maíz.

Experiencia 1. *Mortalidad de individuos adultos de Tribolium castaneum por la ingesta de extractos de Picroasma crenata.*

Se observó el efecto de los extractos cuando fueron adicionados a la dieta base de los adultos. La unidad experimental fue el frasco de vidrio de 3 cm de diámetro por 5 cm de altura en un diseño completamente al azar (DCA). En cada uno se colocaron 2 g de la dieta base (harina de trigo, fécula de maíz y levadura), más las correspondientes dosis, en polvo, para cada uno de los tratamientos.

Los tratamientos fueron: To: testigo (dieta base); T1 y T2: acetato de etilo, T3 y T4: acetona y T5 y T6: etanol. Las dosis fueron 0,15 g/ml y 0,20 g/ml para cada uno de los extractos. Se realizaron 5 repeticiones (n = 5 con 10 individuos c/u) para cada tratamiento, y los frascos fueron mantenidos en condiciones controladas de temperatura (24 ± 2 °C) y humedad (60 ± 5 %). Se contabilizó la mortalidad de los insectos adultos, realizando en total 10 observaciones, la primera a las 24 horas y las siguientes a intervalos fijos de tres días. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante ANOVA de dos vías (solvente de extracción y dosis) con dos niveles cada uno, para cada momento de observación en forma independiente.

Experiencia 2. *Duración de los estados juveniles de Tribolium castaneum por efecto de los extractos de Picroasma crenata sobre la ingesta y su relación con los reguladores de crecimiento.*

La unidad experimental, el tipo de alimento y el tratamiento estadístico fueron similares a la Experiencia 1.

Se consideraron dos reguladores de crecimiento, a dosis comerciales, como parámetros comparativos: Novalurón® y Lufenurón®. Se incorporó una larva neonata perteneciente a una misma cohorte de *T. castaneum* por frasco.

Los tratamientos fueron: To testigo (dieta base), T1 y T2 acetato de etilo, T3 y T4 acetona, y T5 y T6 etanol. Las dosis fueron 0,15 g/ml y 0,20 g/ml para cada uno de los extractos, respectivamente. T7 Novalurón® (10 % EC, 1 cm³/l) y T8 Lufenurón® (5 % EC, 1 cm³/l). Se realizaron 10 repeticiones (n = 10) para cada tratamiento en condiciones controladas de temperatura (24 ± 2 °C) y humedad (60 ± 5 %). Se contabilizó la duración del estado larval y pupal. Las observaciones se realizaron a intervalos de cuatro días, hasta que las larvas testigo alcanzaron el estado adulto. Los datos se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Mortalidad por topicación de los adultos de Tribolium castaneum, Sitophilus oryzae y Oryzaephilus surinamensis con los extractos de Picroasma crenata

Se observó el efecto de los extractos cuando fueron topicados sobre los adultos de tres especies de plagas de granos almacenados: *T. castaneum*, *S. oryzae* y *O. surinamensis*. Para ello, se tomaron individuos pertenecientes a una misma cohorte (Lagunes y Vazquez, 1994).

La unidad experimental fue la caja de Petri de 90 mm de diámetro con un papel de filtro en la base, en un diseño completamente al azar (DCA). Se efectuó una aplicación tópica sobre la región ventral de los últimos urosternitos, con 0,4 µl de cada una de las diluciones, mediante una microjeringa Hamilton de 10,0 µl.

Los tratamientos fueron: To: testigo (sin tratar), T1: acetato de etilo, 0,30 g/ml; T2: acetona, 0,25 g/ml y T3: etanol: 0,30 g/ml.

Las concentraciones fueron determinadas en relación con las experiencias anteriores.

Se realizaron 5 repeticiones (n = 5 con 10 individuos c/u) para cada tratamiento y las cajas de Petri fueron mantenidas en condiciones controladas de temperatura (24 ± 2 °C) y humedad (60 ± 5 %).

Se contabilizó la mortalidad de los individuos, realizando la primera observación a los 30 min, la segunda a las 6 h y las siguientes a intervalos de 6 horas hasta completar las 48 horas. El análisis estadístico utilizado fue la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

Bioequivalencia entre los extractos de Picroasma crenata y un insecticida convencional sobre Tribolium castaneum

Por experiencias previas con el método del film (contacto tarsal) se determinó que los extractos que producían una mayor mortalidad eran el acetato de etilo, la acetona y el

Tabla 1.- Tratamientos realizados a distintas concentraciones por contacto tarsal con distintos extractos en comparación con un insecticida convencional

Extractos	Tratamiento	Dosis
	To	Testigo
	T1	0,15 g/ml
Acetato de etilo	T2	0,20 g/ml
Acetona	T3	0,25 g/ml
Etanol	T4	0,30 g/ml
	T5	0,35 g/ml
Metil-clorpirifós	T6	2,88 x 10 ⁻⁵ cm ³ /ml

etanol. Se realizó un análisis de varianzaa para cada uno de ellos.

Los tratamientos realizados con los diferentes extractos y las concentraciones empleadas se detallan en la tabla 1. Las observaciones se hicieron a las 0,5; 6; 12; 18; 24; 48 y 72 h. Se calculó la CL₅₀ a las 6 h, por ser el momento más representativo en cuanto al porcentaje de mortalidad y por ser progresiva a través del tiempo de exposición y, por consiguiente, ajustarse a un análisis de Probit.

Para el análisis de la bioequivalencia se consideraron los extractos de etanol y acetato de etilo, por producir una mayor mortalidad a una menor dosis (CL₅₀ a las 6 h). Para la variable respuesta binomial se define a θ como la diferencia positiva de la probabilidad de éxito del grupo estándar (Pe) y la probabilidad de éxito para el grupo experimental (Ps), esto es: $\theta = Ps - Pe$. El estadístico de la prueba es el estadístico Z habitual derivado de la aproximación de la distribución binomial a la normal (Atherton Akaff y Sloan, 1998).

$$Z_0 = \frac{\Theta - \delta}{SE}$$

$$SE = \left[\frac{Ps(1 - Ps)}{Ns} + \frac{Pe(1 - Pe)}{Ne} \right]^{1/2}$$

Donde Ns es el tamaño estándar de la muestra estándar y Ne es el tamaño de la muestra experimental. SE es una función de Ps y Pe. La hipótesis nula se rechaza y se concluye que existe equivalencia entre las proporciones de éxito de los tratamientos estándar y experimental si $Z_0 < Z_{\alpha}$, alternativamente (valor $p < \alpha$).

Efecto de los cuasinoides (cuasina y neocuasina) sobre *Sitophilus oryzae*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* y *Ulomoides dermestoides*

Ulomoides dermestoides se incorpora a este experimento

porque es una plaga potencial para la Argentina e interesante de considerar en futuras experiencias.

Para la realización del ensayo se utilizaron las bandas extraídas con diclorometano de *P. crenata* y, en función de ello, se establecieron los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1. Compuestos presentes en las bandas cromatográficas que no poseen cuasinoides (cuasinas y neocuasinas) en concentración significativa (Bandas 1, 5 y 6), con el fin de verificar si existen otros compuestos con propiedades insecticidas.

Tratamiento 2. Compuestos presentes en las bandas cromatográficas que poseen mayor relación cuasina/neocuasina (Banda 2).

Tratamiento 3. Compuestos presentes en las bandas cromatográficas que poseen mayor relación cuasina/neocuasina (Banda 3).

Tratamiento 4. Compuestos presentes en las bandas cromatográficas que poseen únicamente neocuasina (Banda 4).

Todos los ensayos se realizaron en condiciones controladas de temperatura (27 ± 1 °C) y humedad relativa (60 %). Asimismo, todos fueron realizados siguiendo un diseño completamente aleatorizado (DCA) con 5 repeticiones (10 individuos cada una). Se realizaron dos ensayos:

1. Primera Experiencia

- 1_a. Efecto de los cuasinoides a través del método de contacto
 - a₁. Ensayo preliminar utilizando las cuatro plagas mencionadas
 - a₂. Ensayo sobre *S. oryzae*

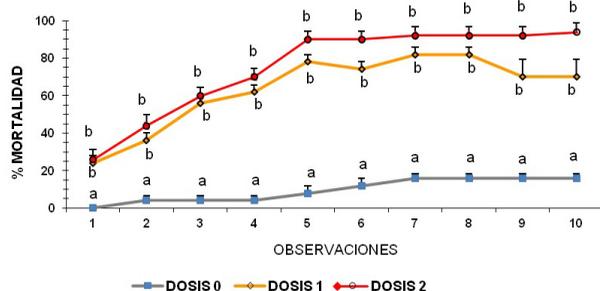
2. Segunda Experiencia

- 2_a. Efecto de los cuasinoides a través de la ingesta

1_a. Método de contacto

a₁. *Ensayo preliminar.* El objetivo de este ensayo fue observar si los cuasinoides de *P. crenata* producen algún efecto por contacto sobre los adultos de *O. surinamensis*, *T. castaneum*, *S. oryzae* y *U. dermestoides*. En las cajas de Petri se colocó un papel de filtro en la base y, en ausencia de alimento, se procedió a ubicar 1 ml de cada tratamiento en las diferentes cajas. Se aireó y se colocaron 10 individuos adultos de cada una de las plagas para los distintos tratamientos. Para el control se utilizó metanol ya que este fue el solvente en el cual se diluyeron los principios activos. Se midió el efecto de los extractos mediante la mortalidad de los adultos a las 3, 6, 12, 18, 48 y 72 horas después de su introducción.

Figura 1.- Mortalidad de los adultos de *T. castaneum* por el efecto de ingesta de los extractos de etanol de *P. crenata*



a. Ensayo por contacto sobre *Sitophilus oryzae*. A partir de los resultados obtenidos en el ensayo preliminar, se repitió el ensayo con *S. oryzae*, duplicando la dosis a 2 ml. Para el análisis de los resultados, se utilizó el análisis de la variancia (ANOVA) para el porcentaje de la mortalidad de los tratamientos y las pruebas a posteriori para las comparación de sus medias (Tukey = 0,05)

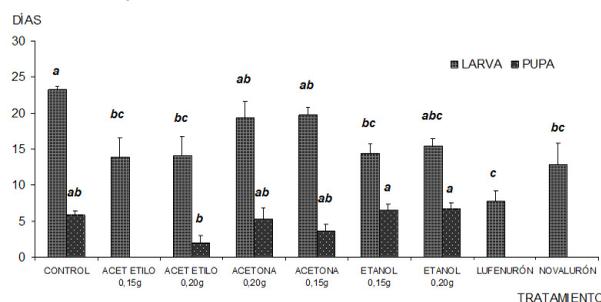
2. Método de ingesta

El ensayo se realizó con *T. castaneum* debido a su importancia económica en la conservación de los granos y por ser, además, una plaga de infestación secundaria por lo cual, ataca los granos quebrados y productos de la molienda, quedando expuestos los adultos y las larvas a la acción de los insecticidas. Para la realización del estudio se procedió de la siguiente manera:

En adultos. La unidad experimental fue un frasco de vidrio de 3 cm de diámetro por 5 cm de altura. Se colocó 1 g de la dieta base (harina de trigo, fécula de maíz, levadura en proporción 10:10:1,5), y luego se introdujo 1 ml de cada banda de *P. crenata*. Se incorporaron 10 insectos adultos por frasco. Se evaluó la mortalidad de estos insectos en cada unidad experimental a las 24 h y luego cada 3 días hasta completar las 10 observaciones. Los ensayos se realizaron en condiciones controladas de temperatura ($27 \pm 1^\circ \text{C}$) y humedad relativa (60 %).

En larvas. La unidad experimental, el tipo de alimento y el tratamiento estadístico fueron similares al tratamiento con los adultos. Se incorporaron 10 larvas en cada unidad experimental. Se evaluó la mortalidad de estos insectos en cada una de éstas a las 24 h y luego cada 3 días hasta completar las 10 observaciones. Los ensayos se realizaron en condiciones controladas de temperatura ($27 \pm 1^\circ \text{C}$) y humedad relativa (60 %). Para el análisis de los resultados, se utilizó análisis de variancia (ANOVA) para el porcentaje de mortalidad de los tratamientos y pruebas a posteriori para las comparación de sus medias (Tukey = 0,05)

Figura 2.- Duración del período larval y pupal de *T. castaneum* en relación al efecto de los reguladores de crecimiento, Lufenurón® y Novalurón®



Larvas (H = 26,01; p = 0,0002); pupas (H = 6,29; p = 0,0653)

Resultados y Discusión

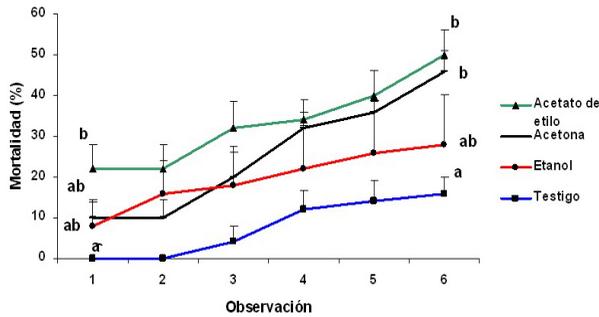
En general, se observó un aumento de la efectividad al aumentar la polaridad de los solventes de extracción y al aumentar la concentración de cada uno de los extractos. De las cuatro especies bajo estudio, se pudo observar un mayor porcentaje de mortalidad sobre *O. surinamensis* y *T. castaneum* (tabla 2 y 3). Los extractos de acetato de etilo, acetona, etanol y metanol mostraron una alta mortalidad en todas las concentraciones. Los extractos obtenidos por cocimiento e infusión lograron una mortalidad, en promedio, de 72 % para *T. castaneum* y *S. oryzae*, mientras que sobre *U. dermestoides* y *O. surinamensis* fue baja.

Se calculó la concentración letal del 50 % de la población (CL50) y el tiempo efectivo de mortalidad del 50 % de la población (TL50), los extractos más efectivos fueron en orden decreciente: acetona, acetato de etilo, etanol, metanol, diclorometano y éter de petróleo. Los valores de la CL50 disminuyeron con el aumento de la polaridad de los solventes.

En base a los resultados obtenidos en el método del film, por contacto, se llevó a cabo la experiencia de la observación de la mortalidad de los adultos de *T. castaneum* por efecto de los extractos de acetona, acetato de etilo y etanol de *P. crenata* incorporados a la dieta. El extracto de etanol fue el más efectivo (Figura 1).

En una segunda experiencia, se incorporaron los mismos extractos a la dieta de las larvas de *T. castaneum*, su acción se comparó con los reguladores de crecimiento Novalurón® y Lufenurón®. Se observó que el período larval se acortó en relación al control y los extractos de acetato de etilo y etanol tuvieron un comportamiento similar al de los reguladores de crecimiento. En el estado pupal la mortalidad fue alta, manifestándose a través del número de individuos que llegaron a adulto, la duración de este período fue similar al control para los extractos de etanol y acetona, mientras que para el acetato de etilo la concentración menor se comportó como los reguladores de crecimiento en los cuales las larvas no llegaron a empupar (Figura 2).

Figura 3.- Mortalidad de *Sitophilus oryzae* por efecto de la topicación con extractos de *Picrasma crenata*



K. Wallis, en forma independiente por momento de lectura y prueba a posteriori) ($\alpha = 0,05$) ($H = 8,33$; $p = 0,0363$)

Con la finalidad de observar el efecto de los extractos en las primeras horas de observación, es decir, un efecto *knock out*, se realizó un análisis de la CL₅₀ a las seis horas de comenzado el ensayo. Los extractos de acetato de etilo y etanol lograron la mortalidad del 50 % de la población con dosis menores. Por este motivo fueron considerados para un análisis de bioequivalencia con el insecticida convencional metil-clorpirifós. Los resultados demostraron que solamente el extracto de etanol presentó evidencias para poder considerarlo bioequivalente al Clorpirifós (Tabla 2).

Por otro lado, al someter las especies *S. oryzae*, *T. castaneum* y *O. surinamensis* a la acción por contacto de los extractos de *P. crenata*, a través de la metodología por topicación, se observó un bajo efecto, excepto la especie *S. oryzae* que difirió significativamente del testigo al alcanzar una mortalidad del 50 % (Figura 3).

Cuando se aislaron los cuasinoides, cuasina y neocuasina, pudo observarse que las cuasinas con el método del film presentaron efectividad sobre los adultos de *O. surinamensis* y *S. oryzae*. La respuesta de éste fue superior a la de *O. surinamensis* con la dosis de 1 ml, por lo que se llevó a cabo un segundo ensayo con una doble dosis de todos los tratamientos sobre *S. oryzae*. Se confirmó la alta mortalidad producida por el tratamiento con mayor porcentaje de cuasinas (Figura 4).

En la segunda experiencia, donde se puso a prueba la eficacia de los cuasinoides a través de la ingesta sobre adultos y larvas de *T. castaneum*, se pudo observar que las larvas presentaron una mejor respuesta que los adultos. Con esta metodología, se evidenció la efectividad de los cuasinoides sobre adultos y larvas de estas plagas de granos almacenados.

En el tratamiento por ingesta se observaron diferencias significativas en la mortalidad respecto del tratamiento testigo, pero no entre las dosis de los extractos de etanol probadas (Figura 4). Las dosis 1 y 2 de este compuesto produjeron una mortalidad acumulada de 70 % y 90 % respectivamente de los adultos de *T. castaneum* (Figuras 5 y 6).

Tabla 2.- Concentración letal media de los extractos a las 6 horas de observación

Fración/CL ₅₀	CL ₅₀ (6 h)	IF (95 %)
Acetato de etilo	0,16	(0,15-0,17)
Etanol	1,38	(0,90-1,66)
Acetona	1,74	(1,58-1,88)

Conclusiones

Los experimentos realizados permiten demostrar la acción de los cuasinoides cuando actúan por ingesta sobre las plagas de granos almacenados y la baja respuesta cuando se aplica directamente sobre el tegumento, es decir, por topicación. En todos los casos la efectividad fue más alta al aumentar la concentración de cada uno de los extractos.

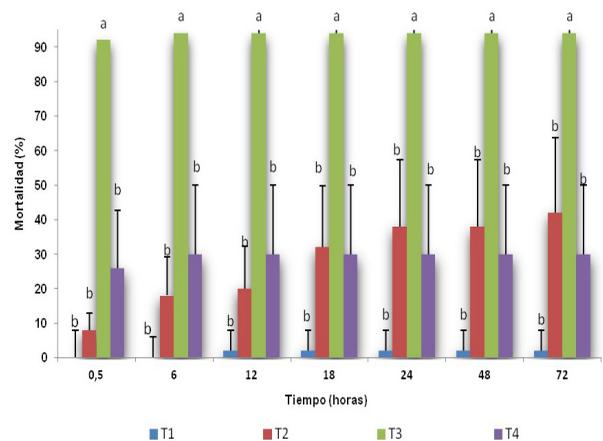
Por consiguiente, los ensayos realizados permiten plantear la hipótesis de que, además de los cuasinoides, otros metabolitos secundarios podrían actuar con acción insecticida o con efecto de sinergismo sobre los sesquiterpenos (cuasina y neocuasina).

Los resultados obtenidos constituyen un aporte interesante a estas nuevas líneas de investigación. *Picrasma crenata* es una buena alternativa en el control de las plagas de granos almacenados.

Referencias bibliográficas

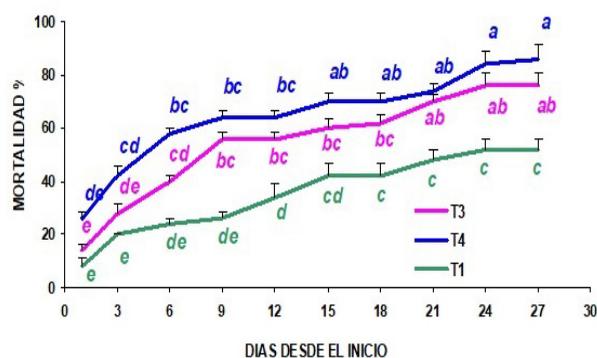
Adam, B.; Phillips, P.; Flinn, P. (2006). "The economics of IMP in stored grain: Why don't more grain handlers use IMP". *Actas y Trab. del 9th International Working Conference on Stored Product*

Figura 4.- Mortalidad promedio producida por los cuasinoides de *Picrasma crenata* sobre adultos de *Sitophilus oryzae* por contacto, por momento de observación



Las barras representan el error estándar de las medias. Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA y Test de Tukey F(6;28; p > 0,05)

Figura 5.- Mortalidad promedio producida por los cuasinoídes de *Picrasma crenata* sobre las larvas de *Tribolium castaneum* por ingesta a través del tiempo



Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas. ANOVA 2 vías (tratamiento x tiempo) ($F = 189,29$; $p < 0,0001$)

Protection. Plenary session 1. Stored Grain Losses, ABRAPOS, Campinas, Sao Paulo, Brazil pp. 3-12.

Alonso, J. (2004). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*. Corpus. Rosario, Argentina.

Alonso, A.; Calderini, D.F.; Cantamutto, M.A.; Carmona, M.; Chiara, G.; Di Nápoli, M.; Duarte, G.; Estenssoro, M.; Fraschina, J.; Gallez, E.L.; Gallo Candolo, E.G.; Montaner, J.G.; Grosse, R.; Maluf, J.E.L.; Lamédica, C.; Leaden, M.; Maddoni, G.A.; Peck, R.M.; Miralles, D. J.; Miravalles, M.T.; Mockel, F.; Nisi, J.; Vila J.M.O.; Permingeat, O.; Pozzi, R.; Santamarina, A.; Savin, R.; Slafer G.A.; Tombetta, E.; Zorraquín, T. (1996). *Cuadernillo de Actualización Técnica N° 56*. Area de comunicaciones AACREA 10: 87-89.

Atherton Akaff, P.J.; Sloan, J.A. (1998). "Design and Analysis of Equivalence Clinical Trials Via the SAS System. Statistics, Data Analysis, and Modeling". *SUGI 23 Conference Leaders Contents*. Proceedings of the Twenty-Third Annual, Opryland Hotel Nashville, Tennessee.

Beserra Almeida, M.M.; Campos Arriaga, A.M.; Lima dos Santos, A.K.; Lemos, T.L.G.; Braz-Filho, R.; Curcino Vieira, I.J. (2007). "Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década". *Química Nova* 30 (4). São Paulo: 935-951. ISSN 0100-4042. doi: 10.1590/S0100-40422007000400033. [Consulta: 24 de enero de 2011]

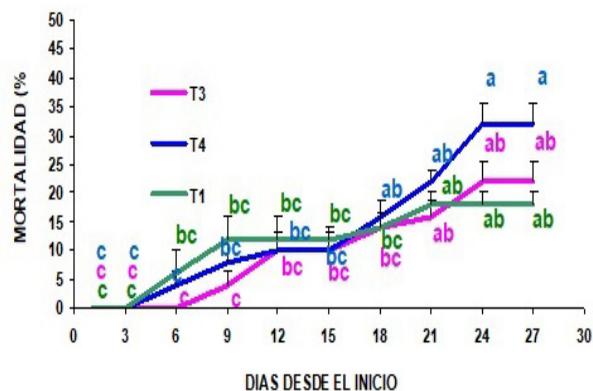
Casini, C.; Santa Juliana, M. (2005). "Postcosecha de trigo. Secado y almacenaje". *Jornadas técnicas de capacitación, en siembra, cosecha, postcosecha, pulverización y fertilización*. INTA, Manfredi, Pcia. de Córdoba, pp. 55-70.

Daido, M.; Ohmo, N.; Imamura, K.; Fukamiya, N.; Hatakashi, M.; Yamazaki, H.; Tagaharo, K.; Lie, K.; Okano, M. (1995). "Antifeedant and insecticidal activity of quassinoids against the diamond backmoth (*Plutella xylostella*) and structure activity relationships". *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 59: 974-979.

Dal Bello, G.; Padín, S. (2006). "Olfatómetro simple para evaluar la actividad biológica de aleloquímicos vegetales en *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae)". *Agrociencia* 10(2): 23-26.

Davidson, R.H.; Lyon, W.F. (1992). *Plagas de insectos agrícolas y del jardín*. Limusa-Noriega, México, D. F. 743 pp.

Figura 6.- Mortalidad promedio producida por los cuasinoídes de *Picrasma crenata* sobre adultos de *Tribolium castaneum* por ingesta a través del tiempo



Distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas. ANOVA 2 vías (tratamiento x tiempo) ($F = 4,8$; $p = 0,0099$)

Dierksmeier Corcuera, G. (2007). "Características y mecanismos de acción de algunos compuestos usados en el combate de plagas de almacén". *Fitosanidad* 11 (2): 81-84.

Diletti, E.; Hauschke, D.; Steinijans, V.W. (1991). "Sample size determination for bioequivalence assessment by means of confidence intervals". *International Journal of clinical pharmacology, therapy and toxicology* 29: 1-8.

FAO (2001). *Breves normas de control de calidad en granos almacenados*. Farmacopea Nacional Argentina, VII Edición (2003). Ministerio de Salud de la Nación.

Garrett, K.A. (1997). "Use of Statistical Tests of Equivalence (Bioequivalence Tests)". *Plant Pathology* 87 (4): 372-374.

Guo, Z., Vangapandu, S., Sindelar, R., Walker, L., Sindelar, R. (2005). "Biologically Active Quassinoids and Their Chemistry: Potential Leads for Drug Design". *Current Medicinal Chemistry* 12 (2): 173-190.

Koike, K.; Yokoh, M.; Furukawa, M.; Ishii, S.; Ohmoto, T. (1995). "Quassinoids from *Picrasma javanica*". *Phytochemistry* 40 (1): 233-238.

Lagunes, A.; Vazquez Navarro, M. (1994). *El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas*. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. 159 pp.

Leskinen, V.; Polonsky, J.; Bhatnagar, S. (1984). "Antifeedant activity of quassinoids". *Journal Chemical Ecology* 10 (10): 1497-1507.

Lu, J.; Shi, L. (2012). The bioactivity of essential oil from *Ailanthus altissima* Swing (Sapindales: Simaroubaceae) Bark on *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). *Advanced material Research* 365: 428-432.

Mambelli, P.; Marchini, B.; Bazzocchi, C.; Pari, P.; Tellarini, S. (1994). "El Valutazioni preliminari sull'ottimizzazione delle modalità d'uso del legno quassio (*Quassia amara* L.; *Picrasma excelsa* (Swz.) Lindl. Quale insecticida biológico". El Atti Convegno Internazionale: *Coltivazione e miglioramento di piante officinali*, Pari Ministero Agricoltura e Foresta. Trento, Italia, 2-3.

Marinoni, R.C.; Ribeiro-Costa, C.S. (2001). "Influence of temperature and diet on the development of *Ulomoides dermestoides*

- (Fairmaire, 1893) (Coleoptera, Tenebrionidae, Diaperinae)". *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44 (2): 129-134.
- Miller, L.C.; Tainter, M.L. (1944). "Estimation of DL 50 and its error by means of logarithmic-Probit graph paper". *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 57 (2) 261-264 <https://doi.org/10.3181/00379727-57-14776>.
- Nerio, L.; Olivero-Verbel, J.; Stashenko, E. (2009). "Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grow in Colombia against *Sitophilus zeamais* Mostschulsky (Coleoptera)". *Journal of Stored Products Research* 45: 212-214.
- Rees, D. (2004). *Insects of Stored products*. CSIRO. Australia.
- Riudavets, J.; Lucas, E.; Pons, M. (2002). *Insects and mites of stored products in the northeast of Spain*. International Organization for Biological and Integrated Control West Palearctic Regional Section, 25: 41-44.
- Robin, R.J.; Rhodes, M.J.C. (1984). "High performance liquid chromatography methods for the analysis and purification of quassinoids from *Quassia amara* L.". *Journal of Chromatography* 283: 436-440.
- Rosella, M.A.; Mandrile, E.L.; Bongiorno De Pfrter, G. (1991). "Nueva Farmacognosia de las 'Cuasias' (Simaroubaceae)". *Revista Farmacéutica* 133 (1): 19-28.
- Silva, G.; Hepp, R. (2003). *Bases para el manejo racional de insecticidas*. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Fundación para la Innovación Agraria, Chillán, Chile.
- Silva, G.; Lagunes, A.; Rodríguez, J.; Rodríguez, D. (2002). "Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas". *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 4-12.
- Speight, M.; Hunter, M.; Watt, D. (2008). *Ecology of Insects. Concepts and Applications*. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, Second Edition: 628.
- Stoll G, (1989). *Protección natural de cultivos en las zonas tropicales*. Editorial Científica Josef Margraf, Alemania Federal: 180.
- Theis, N.; Lerda, M. (2003). "The evolution of function in plant secondary metabolites". *International Journal of Plant Science* 164 (3): 93-102.
- Vitagliano, J. C.; Comin, J. (1971). "Quassinoids from *Aeschynomene creanata*". *Phytochemistry* 11: 807-810.
- Wagner, H.; Blatt, S. (1996). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2^{da} Edición Springer: 384.
- Weil, C. (1952). "Tables for convenient calculation of median effective dose (DL 50 or ED 50) and instructions in their use". *Biometrics* 8: 249-263.
- Winston, P.W.; Bates, D. H. (1960). "Saturated solutions for the control of humidity in biological research". *Ecology* 41: 232-237.
- Woodbury, R.O.; Little Jr, E.L.; Wadsworth, F.H. (1974). "Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands". *Guide of standard floras of the world*. David Frodin. Second Volume. Cambridge: 1107.
- Zuloaga, F.O.; Morrone, O. (1999). *Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina*. Missouri Botanical Garden Press: 1269.

Calidad botánica de seis plantas andinas, condimenticias y medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina

Leila A. Giménez*, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni

Universidad Nacional de Jujuy. Facultad de Ciencias Agrarias

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gimenezleila2013@gmail.com

Resumen

Se aplicó el método micrográfico para conocer su calidad botánica a hojas de seis especies andinas disponibles en mercados y herboristerías de San Salvador de Jujuy, capital de la provincia de Jujuy, Argentina, empleadas como condimentos de platos tradicionales y medicinales. Mediante disociado leve (solución de NaOH al 5 %, a ebullición, lavado y observación al microscopio óptico) se analizaron *Aloysia salsoloides* (Griseb.) Lu-Irving & O'Leary, "rica rica"; *Baccharis grisebachii* Hieron., "quinchamal"; *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze, "muña muña"; *Parastrephia lepidophylla* (Wedd.) Cabrera, "tola"; *Senecio nutans* Sch. Bip., "chachacoma" y *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk., "pupusa". En el presente trabajo, se aplicó el patrón de referencia de calidad (materia extraña) que el Código Alimentario Argentino establece para *Origanum vulgare* L., "orégano", por ser el único condimento para el que esta normativa ofrece valores. Del total de las muestras solo 33 % posee calidad botánica y el 67 % restante carece de aptitud bromatológica. La metodología propuesta contribuye en la provisión de calidad botánica de productos de origen vegetal comercializados en la provincia.

Botanical quality of six Andean plants, condiments and medicinal, commercialized in the city of San Salvador de Jujuy, Argentina

Summary

The micrographic method is applied to leaves of six Andean species used as condiments or as medicinal plants, available in markets and herbalists of San Salvador de Jujuy, capital of the province of Jujuy, Argentina, to know their botanical quality. By soft dissociation (boiling in 5 % NaOH solution, washing and observing with an optical microscope) were analyzed: *Aloysia salsoloides* (Griseb.) Lu-Irving & O'Leary, "rica rica"; *Baccharis grisebachii* Hieron., "quinchamal"; *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze, "muña muña"; *Parastrephia lepidophylla* (Wedd.) Cabrera, "tola"; *Senecio nutans* Sch. Bip., "chachacoma" and *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk., "pupusa". The reference quality standard (foreign matter) provided by the Argentine Food Code for *Origanum vulgare* L., "oregano", was used, since it is the only condiment for which this regulation offers values. Of the total samples only 33 % have botanical quality and the remaining 67 % lack bromatological aptitude. This methodology contributes to the provision of botanical quality control of products of vegetable origin marketed in the province.

Introducción

El conocimiento sobre las plantas usadas tanto en alimentación como en medicina tradicional ingresa como saber popular a las zonas urbanas o rurales periurbanas, a través de las sociedades tradicionales, proporcionando una combinación de saberes generados "in situ", a partir de la experiencia, con otros incorporados de fuentes externas (Hurrell, 2011).

Las plantas usadas como condimentos a menudo son

conocidas como "especies" o "hierbas aromáticas". La distinción entre ambas suele carecer de claridad y precisión. Las "hierbas aromáticas" comprenden, por lo común, plantas herbáceas cuyas hojas y tallos jóvenes y tiernos se consumen frescos; sin embargo, también pueden conservarse desecados, desmenuzados y triturados. Técnica-mente se considera una "especia" a las partes duras, como las semillas o cortezas de ciertas plantas aromáticas, aun-

Palabras clave: micrografía - calidad botánica - contaminación - plantas condimenticias - flora medicinal.

Key words: micrography - botanical quality - contamination - condiment plants - medicinal flora.

que por similitud muchas veces también se engloba a las fragantes hojas de algunas plantas herbáceas (Gerhardt, 1975).

El Código Alimentario Argentino (C.A.A) (De la Canal y asociados, 1999) especifica que las “especias” y “condimentos vegetales” comprenden ciertas plantas o partes de ellas que contienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes que se emplean para aderezar, aliñar o mejorar el aroma y el sabor de los alimentos y bebidas.

Teniendo en cuenta que también el C.A.A prohíbe la adulteración de los alimentos y el fraude en cuanto a su origen, naturaleza y calidad, y además considerando que a la denominación común de un alimento vegetal le corresponde incluir la denominación taxonómica, es necesario aplicar controles para que estas normativas y correspondencias se cumplan y se garantice al consumidor inocuidad y calidad en los alimentos.

En la Argentina la cocina andina tradicional está representada por una gran variedad de comidas regionales que incorpora a nivel de saborizantes varias especies nativas de altura, integrantes de la farmacopea tradicional, que contribuyen a la identidad cultural y a la valoración de costumbres ancestrales (Scarpa y Arenas, 1996; Vignale, 2002; Castro y Fabron, 2017), instancia que define un espacio de uso de interés bromatológico.

En este caso cuando los alimentos de origen vegetal son fraccionados o pulverizados, los caracteres de morfología externa desaparecen y resulta difícil su identificación exomorfológica y para ello es preciso recurrir al estudio de los caracteres anatómicos. La existencia de contaminación o adulteración con especies de menor calidad debe ser detectada a tiempo en los productos alimenticios. La microscopía ofrece, mediante el método micrográfico, las técnicas adecuadas que aportan solución a éste dilema.

Se dispone del conocimiento fundamental para la identificación de las especies en estudio que conforman el grupo de saborizantes y condimentos andinos, a nivel de los órganos comestibles (Vignale y Gurni, 2003). Sin embargo, la ausencia de reportes científicos sobre la calidad botánica de las especies nativas que circulan en los comercios de la ciudad de San Salvador de Jujuy, provincia de Jujuy, Argentina, expresa un vacío de información que se pretende cubrir. Se valoran antecedentes de análisis de calidad de especies exóticas, como el “orégano” (Varela y col, 2009), planta condimenticia que integra el C.A.A. y que, además y como ya se expresara, se adopta como referente en los porcentajes de materia extraña. El presente estudio tiene por objetivo aplicar los parámetros de identificación micrográfica a seis especies andinas que se comercializan de modo formal (herboristerías habilitadas legalmente) e informal (otros sin habilitación comercial) y que se encuentran a disposición de cualquier consumidor, con el propósito de conocer la calidad botánica del producto.

Materiales y Métodos

Materiales

Las muestras comerciales han sido adquiridas por la primera autora. De cada especie se dispone de 10 muestras, las que se encuentran depositadas en el Muestrario de Plantas Útiles de la Cátedra de Botánica Sistemática y Fitogeografía de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNJU, cuya sigla es M-CBSF.

Especies estudiadas

***Aloysia salsoloides* (Griseb.) Lu-Irving & O’Leary**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Giménez, L. A., Puesto ambulante, 13-XI-2011. M-CBSF 150; 26-XI-2011. M-CBS 151; 3-XII-2011. M-CBSF 152; Mercado Central, 4-XII-2011. M-CBS 153; Farmacia, 15-XII-2011. M-CBS 154; Puesto ambulante, 15-XII-2011. M-CBS 155; Mercado Central, 7-III-2012. M-CBS 156; Mercado Central, 12-III-2012. M-CBS 157; Herboristería, 19-III-2012. M-CBSF 158; Tilcara, puesto de venta en el “Museo Indígena”, 14-VI-2012. M-CBSF 159.

***Baccharis grisebachii* Hieron.**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Puesto ambulante, 13-XI-2011. M-CBSF 160; 26-XI-2011. M-CBS 161; Mercado Central, 3-XII-2011. M-CBSF 162; 4-XII-2011. M-CBS 163; Farmacia, 15-XII-2011. M-CBS 164. 21-VIII-13 M-CBSF 165; Puesto ambulante, 21-VIII-13 M-CBSF 166; 21-VIII-13 M-CBSF 167; 21-VIII-13 M-CBSF 168; 21-VIII-13 M-CBSF 169.

***Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Puesto ambulante, 3-XII-2011. M-CBSF 170; Mercado Central, 4-XII-2011. M-CBS 171; B° San Pedrito, “Mercado de Abasto”, 6-XII-2011. M-CBS 172; Puesto ambulante, 8-XII-2011. M-CBS 173; Farmacia, 15-XII-2011. M-CBS 174; Mercado Central, 7-III-2012. M-CBS 175; 13-III-2012. M-CBS 176; Herboristería, 5-V-2012. M-CBS 177; Tilcara, puesto de venta en el “Museo Indígena”, 14-VI-2012. M-CBS 178; Perico, local comercial en el Aeropuerto Internacional “Dr. H. Guzmán 20-X-2012. M-CBS 179.

***Parastrephia lepidophylla* (Wedd.) Cabrera**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Puesto ambulante, 13-XI-2011. M-CBSF 180; 26-XI-2011. M-CBS 181; Mercado Central, 3-XII-2011. M-CBSF 182; 4-XII-2011. M-CBS 183; 15-XII-2011. M-CBS 184; 7-III-2012. M-CBS 185; Puesto ambulante, 21-VIII-13; M-CBSF 186; 21-VIII-13 M-CBSF 187; 21-VIII-13 M-CBSF 188; 21-VIII-13 M-CBSF 189.

***Senecio nutans* Sch. Bip.**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Mercado Central, 3-XII-2011. M-CBSF 190; Puesto ambulante, 4-XII-2011. M-CBS 191; Mercado Central, 4-XII-2011. M-CBS 192; Farmacia, 15-XII-2011. M-CBS 193; Mercado Central, 13-III-2012 M-CBS 194;

Figura 1.- *Aloysia salsoloides*. Disociado leve

A: pelos toctores 1-celulares; **B:** pelos glandulares de pie corto y cabeza secretora alargada; **C:** pelo glandular con pie y cabeza pluricelular. A: 10x; B-C:40 x.

Herboristería, 24-III-2012. M-CBS 195; B° San Pedrito, Mercado de Abasto, 4-IV-2012. M-CBS 196; Tilcara, puesto de venta en el “Museo Indígena”, 14-VI-2012. M-CBS 197; Herboristería, 5-V-2012. M-CBS 198; Perico, local comercial en el “Aeropuerto Internacional”, 20-X-2012. M-CBS 199.

***Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk**

ARGENTINA. Jujuy. S. S. de Jujuy. Puesto ambulante, 3-XII-2011. M-CBSF 200; Mercado Central, 4-XII-2011. M-CBS 201; Puesto ambulante, 4-XII-2011. M-CBS 202; Farmacia, 15-XII-2011. M-CBS 203; Herboristería, 15-XII-2011. M-CBS 204; Mercado Central, 7-III-2012. M-CBS 205; Herboristería, 13-III-2012. M-CBS 206; 5-V-2012. M-CBS 207; Tilcara, puesto de venta en el “Museo Indígena”, 14-VI-2012. M-CBS 208; Herboristería, 20-VII-2012. M-CBS 209.

Métodos

Se desarrollan las siguientes etapas sucesivas:

1. Análisis macroscópico. Se separaron los componentes de la totalidad de las muestras, se fotografiaron con una cámara digital Kodak AF 5X Optical Aspheric Lens, se pesaron en una balanza Digital Kitchen Scale HD-806 y se calcularon los porcentajes de los elementos (hojas, ramas, materia inorgánica y orgánica extraña).

2. Análisis microscópico. Dado que los órganos empleados son hojas se aplica la técnica micrográfica de disociado (o disgregado) leve. Consiste en tratar el material con una solución acuosa de NaOH al 5 %, a ebullición, durante 5 min, para luego lavar con agua destilada, y observar al microscopio óptico previa colocación entre porta y cubreobjetos (Gattuso y Gattuso, 1999).

Esta técnica se aplicó diez veces a cada una de las muestras comerciales adquiridas; de cada disociado obtenido se confeccionaron diez preparados transitorios. Las observaciones se registraron mediante fotomicrografías tomadas con una cámara de fotografía digital Canon modelo Powershot A640 adosada a un microscopio trinocular Carl Zeiss, modelo Axiostar Plus.

El C.A.A. establece en el art. 1226, que en la comercialización de “orégano”, *Origanum vulgare* L., se permite hasta

un máximo de 2 % de material vegetal proveniente de otras plantas y 3 % del tallo de la misma planta.

Dichos valores se constituyen en referenciales para abordar los criterios de “genuinidad” y “contaminación” de las especies aquí analizadas por ser la única considerada en el C.A.A., cuyas partes comestibles son las hojas. También se trabajó el concepto de “calidad aceptable” para muestras que se corresponden con porcentajes mínimos de contaminación y que no alcanzan a calificar 100 % genuina (Crosby, 1979).

Cabe señalar que este trabajo aborda la calidad botánica de hojas de especies silvestres andinas empleadas como alimentos, las que también son medicinales en otros contextos de usos; de allí que la búsqueda del patrón de referencia cuantitativo de materia extraña se realice en el C.A.A., y no en la Farmacopea Nacional Argentina, con la que existen algunas leves diferencias de criterios de calidad.

Resultados y Discusión

***Aloysia salsoloides* (Griseb.) Lu-Irving & O’Leary —Verbenaceae— “Rica rica”**

Usos: los tallos y las hojas se emplean para aderezar mistelas y para elaborar el maíz puimado; también para tomar con té o mate cebado. Posee propiedades medicinales; se usa para calmar los dolores de estómago, tratar la diarrea, para la limpieza de riñones y para problemas del corazón y circulación (Scarpa y Arenas, 1996).

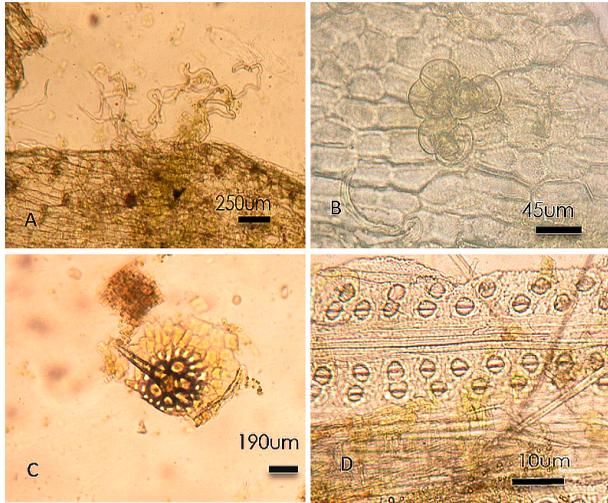
Análisis Macroscópico: se detecta presencia de tierra, carbón, trozos de ramas y hojas (Tabla 1).

Análisis Micrográfico: se observan los elementos de valor diagnóstico de la especie (Vignale, 2002). Estos elementos son los pelos toctores 1- celulares, cónicos y rígidos con base ancha (Figura 1 A), los pelos glandulares con pie corto 1-celular y cabeza secretora alargada (Figura 1 B) y con pie 3-celular y cabeza secretora 2-celular biseriada (Figura 1 C).

***Baccharis grisebachii* Hieron. —Asteraceae— “Quinchamal”**

Usos: sus hojas constituyen ingredientes de platos andi-

Figura 2.- *Baccharis grisebachii*. Disociado leve



A: pelos tectores 1-celulares; **B:** pelos glandulares agrupados; **C:** material extraño, pelos citolíticos; **D:** material extraño, epidermis. A, B, C-D: 10x.

nos elaborados con maíz como chilcán, tostado, ulpada y maíz puimado (Scarpa y Arenas, 1996). También se usa como refrescante, para lavar la cabeza, como combustible y para hacer la “rueda de hilar” (Vignale, 2002). La parte aérea (hojas y tallos jóvenes) se emplea para hacer una infusión con la que se trata el resfrío (Vignale y Gurni, 2009).

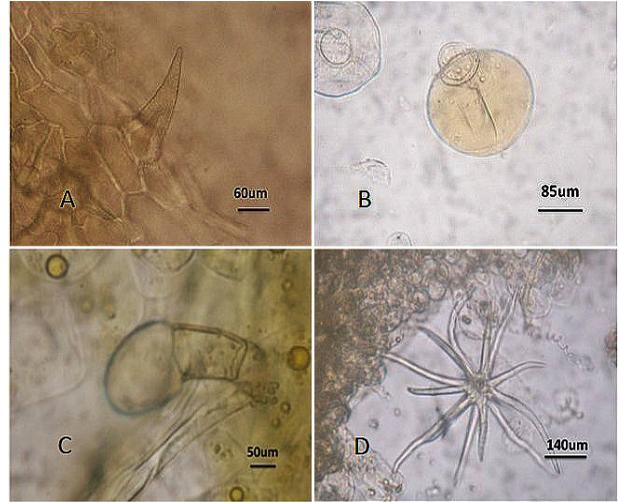
Análisis Macroscópico: se observan ramas de la especie en estudio, materia orgánica extraña representada principalmente por hojas de otras especies como *Aloysia citrodora* Palau, “cedrón”, *Equisetum sp.* y material indeterminado (Tabla 1).

Análisis Micrográfico: los identificadores micrográficos (Vignale, 2002) detectados son los pelos tectores 1-celulares, largos, flexuosos (Figura 2 A), pelos glandulares con cabeza secretora 2-celular biseriada, agrupados y solitarios de pie 1-celular y cabeza secretora 2- celular (Figura 2 B). Como elementos ajenos se observaron pelos citolíticos (Figura 2 C) y trozos de epidermis con estomas con estriaciones notorias transversales (Figura 2 D) de *Equisetum sp.*

***Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze —Lamiaceae— “Muña muña”**

Usos: se emplean las hojas por sus cualidades condimentarias y aromatizantes de sopas y de las bebidas elabora-

Figura 3.- *Clinopodium gilliesii*. Disociado leve



A: pelos tectores; **B:** pelos lamiáceos; **C:** pelos glandulares con pie y cabeza secretora 1-celular; **D:** material extraño, pelo tector estrellado. A, B, C- D: 10x.

das a base de leche, como leche piri y leche hervida. También se lo usa en infusiones para el apunamiento, como estimulante y vigorizante (Scarpa y Arenas, 1996; Vignale, 2002).

Análisis Macroscópico: se detectaron ramas, hojas de material indeterminado, piedras, trozos de ladrillos y tierra (Tabla. 1).

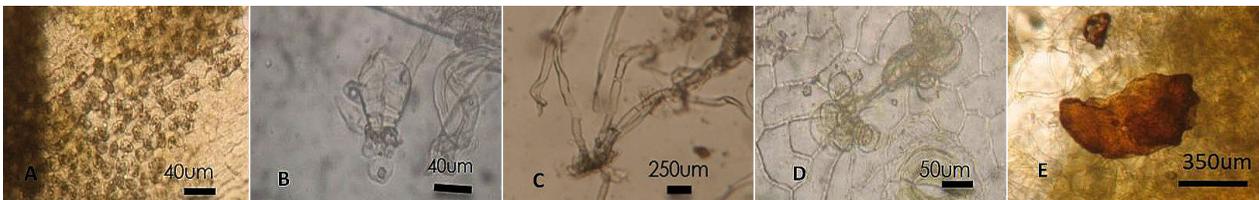
Análisis Micrográfico: se observan los elementos de valor diagnóstico (Vignale, 2002) constituidos por los pelos tectores de base ancha 1-celulares (Figura 3 A), los pelos glandulares, tipo lamiáceo con pie corto y cabeza secretora globosa pluricelular (Figura 3 B) y no lamiáceo, con pie 1-celular y cabeza secretora 1-celular (Figura 3 C). Aparece un pelo tector con célula apical estrellada (Figura 3 D) cuya identificación no se puede precisar.

***Parestrephia lepidophylla* (Wedd.) Cabrera —Asteraceae— “Tola”**

Usos: sus hojas se emplean para condimentar sopas y asado de carne de llama; también para elaborar té o infusiones para el tratamiento del efecto de la puna y en el mate (Scarpa y Arenas, 1996; Cabrera, 1993).

Análisis Macroscópico: se identificaron piedras, carbón, tierra, materia orgánica extraña y hojas de una especie indeterminada; una muestra presentó un clavo (Tabla 1).

Figura 4.- *Parestrephia lepidophylla*. Disociado leve



A-B: pelos glandulares de pie corto 1-celular y cabeza secretora biseriada pluricelular; **C:** pelos tectores 2-3-celulares; **D:** material extraño, pelos glandulares; **E:** material extraño, tejido no identificado. A, C- E: 10x; B- D: 40x.

Figura 5.- *Senecio nutans*. Disociado leve**A:** epidermis de células isodiamétricas; **B:** pelos glandulares con pie 2-celular y cabeza secretora 1-celular; **C:** material extraño, pelos tectores rígidos. A, B- C: 10X.

Análisis Micrográfico: se aprecian los elementos de valor diagnóstico (Vignale, 2002), los pelos glandulares con pie corto y cabeza secretora biseriada pluricelular (Figuras 4 A y B) y los pelos tectores alargados con base 2-3-celular, flexuosa (Figura 4 C). El disociado leve de la materia extraña separada en la etapa macroscópica, evidenció fragmentos de epidermis con estomas y pelos glandulares agrupados de a cuatro, de pie corto 1-celular y cabeza secretora 1-celular (Figura 4 D) y tejido no identificado (Figura 4 E).

***Senecio nutans* Sch. Bip. —Asteraceae— “Chachacoma”**

Usos: las hojas constituyen un condimento de diversas comidas andinas elaborados con maíz como chilcán, tostado, ulpada, calapurca, guiso de achacana, majadillo, sopas y asado de carne de llama e interviene en el maíz puimado y en infusiones de té (Scarpa y Arenas, 1996; Vignale, 2002).

Análisis Macroscópico: se identificaron ramas, tierra, piedras e insectos y hojas ajenas a la especie en estudio (Tabla 1).

Análisis Micrográfico: se aprecian los elementos de valor diagnóstico foliares de la especie representada por la epi-

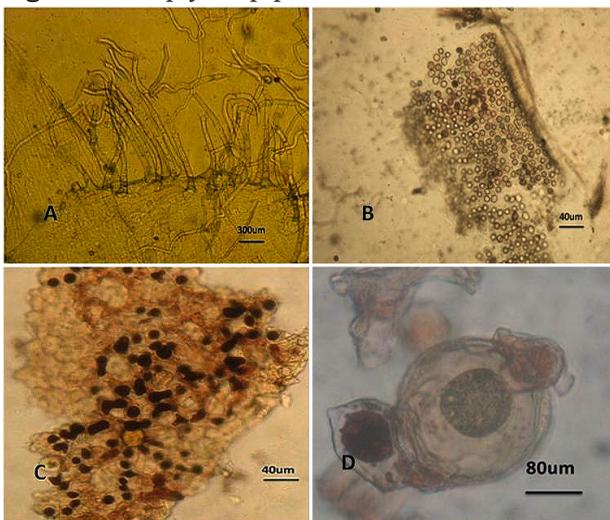
dermis, cuyas células son isodiamétricas, de borde liso, con presencia de estomas (Figura 5 A) y pelos glandulares de pie 2- celular y cabeza secretora 1-celular (Figura 5 B). Se detectaron elementos que no pertenecen a la especie y que no han sido identificados. Se trata de trozos de tejidos previamente diferenciados durante el examen macroscópico, cuyas células epidérmicas muestran pelos tectores 1-celulares rígidos con base ancha y pared engrosada (Figura 5 C).

***Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk. —Asteraceae— “Pupusa”**

Usos: como alimenticia sus ramas y hojas integran la nómina de condimentos y aromatizantes de las comidas puneñas en Jujuy, mayormente las elaboradas con maíz como chilcán, tostado y ulpada, combinando muy estrechamente estas propiedades con las medicinales (Scarpa y Arenas, 1996).

Análisis Macroscópico: se detectó materia orgánica e inorgánica (piedras, tierra), insectos (muertos y vivos) y pequeños trozos de órganos foliares que no pertenecen a la especie en estudio (Tabla 1).

Análisis Micrográfico: se verifica la presencia de los elementos de valor diagnóstico; pelos tectores pluricelulares, cuya célula apical es muy larga (Figura 6 A) y los cuerpos resinosos (Figura 6 B). También se detectaron pequeños fragmentos de tejidos cuya identificación no resulta posible de lograr (Figura 6 C) y pelos tipo lamiáceos con pie corto y cabeza secretora pluricelular (Figura 6 D).

Figura 6.- *Xenophyllum poposum*. Disociado leve**A:** pelos tectores pluricelulares; **B:** cuerpos resinosos; **C:** material extraño, tejido no identificado; **D:** material extraño, pelos lamiáceos. A, C- E: 10x; B- D: 40x.

Discusión y Conclusión

Los resultados obtenidos confirman la presencia de la especie que corresponde en cada producto. Se revela que las muestras N° 159 de “rica rica” y N° 208 de “pupusa” son las únicas que expresan calidad botánica ya que son genuinas. Por otro lado, 18 muestras: 9 de “rica rica”, 4 de “quinchamal”, 1 de “muña muña”, 1 de “tola”, 1 de “chachacoma” y 2 de “pupusa” presentan materia extraña en cantidades que oscilan entre 1 y 2 %, motivo por el cual se clasificaron en la categoría “calidad aceptable”. Un total de 35 muestras: 6 de “quinchamal”, 6 de “muña muña”, 9

Tabla 1.- Relación entre el peso total de los productos y los porcentajes del material separado en las muestras

Especie	Muestra (M-CBSyF)	Peso (g)	Hojas (%)	Ramas (%)	Materia Inorgánica Extraña (%)	Materia Orgánica Extraña (%)	Materia Extraña Total (%)
<i>Aloysia salsoloides</i> (Griseb.) Lu-Irving & O'Leary "rica rica"	150	45	98	1	1	-	1
	151	50	99	-	1	-	1
	152	15	99	-	1	-	1
	153	40	98	-	2	-	2
	154	65	98	-	2	-	2
	155	50	98	1	1	-	1
	156	40	99	-	1	-	1
	157	90	97	2	1	-	1
	158	30	98	-	1	-	1
	159	90	100	-	-	-	-
<i>Baccharis grisebachii</i> Hieron. "quinchamal"	160	37	63	27	5	5	10
	161	25	94	5	-	1	1
	162	25	69	40	-	1	1
	163	40	72	25	2	1	3
	164	30	81	15	1	3	4
	165	50	98	1	-	1	1
	166	50	98	-	1	1	2
	167	35	85	14	-	1	1
	168	25	98	1	1	-	1
	169	60	70	30	-	-	-
<i>Clinopodium gilliesii</i> (Benth.) Kuntze "muña muña"	170	25	6	92	-	2	2
	171	80	96	3	1	-	1
	172	40	92	5	3	-	3
	173	26	90	10	-	-	-
	174	60	26	70	2	2	4
	175	40	90	10	-	-	-
	176	30	88	12	-	-	-
	177	30	70	30	-	-	-
	178	80	96	1	3	-	3
	179	25	93	7	-	-	-

de "tola", 7 de "chachacoma" y 7 de "pupusa" presentaron materia orgánica e inorgánica entre 3 y 8 % aproximadamente, por ello se considera que expresan contaminación. Solo 5 presentaron sustitución debido al exceso de ramas presentes en las muestras, con valores oscilando entre 26 y 92 %; se trata de 3 muestras de "muña muña" y 2 muestras de "chachacoma".

Se concluye que las especies integrantes de éste estudio resultan de interés para ser incluidas en el C.A.A. ya que su uso se mantiene vigente en la elaboración de comidas tradicionales, constituyendo un rasgo de identidad cultural que por ello merece su consideración.

Respecto a "tola" dado que la especie presenta hojas es-

camosas pequeñas y aplicadas a las ramas, casi imposibles de separar de ellas se propone definir el límite de calidad en 4 %. El análisis global de los resultados precedentemente detallados indica que el 3 % de los materiales son productos genuinos, 30 % presentan calidad aceptable, 59 % están contaminados y 8 % poseen evidencias de sustitución. Esta relación numérica es muy importante ya que se trata de productos alimenticios que deben estar exentos de cualquier anomalía, pues su uso está directamente vinculado a la salud de la población. La visibilidad de esta realidad sobre la calidad botánica de plantas alimenticias nativas que se comercializan en la ciudad capital de la provincia de Jujuy realza su importancia si se tiene en cuenta su ver-

Tabla 1.- Relación entre el peso total de los productos y los porcentajes del material separado en las muestras (Cont.)

Especie	Muestra (M-CBSyF)	Peso (g)	Hojas (%)	Ramas (%)	Materia Inorgánica Extraña (%)	Materia Orgánica Extraña (%)	Materia Extraña Total (%)
<i>Parastrephia lepidophylla</i> (Wedd.) Cabrera "tola"	180	30	93	3	3	1	4
	181	50	95	4	-	1	1
	182	50	90	5	1	4	5
	183	30	92	5	3	-	3
	184	25	90	4	3	3	6
	185	50	93	4	3	-	3
	186	30	73	26	-	1	1
	187	30	77	20	2	1	3
	188	35	79	20	-	1	1
	189	30	86	10	2	2	4
<i>Senecio nutans</i> Sch. Bip. "chachacoma"	190	25	98	2	-	-	-
	191	50	34	60	2	4	6
	192	50	64	28	3	5	8
	193	50	95	1	1	3	4
	194	30	94	1	3	1	4
	195	60	84	11	5	-	5
	196	30	90	1	2	2	4
	197	30	95	2	2	1	3
	198	50	55	42	3	-	3
	199	50	41	5	3		3
<i>Xenophyllum poposum</i> (Phil.) V.A. Funk. "pupusa"	200	50	95	3	-	2	2
	201	25	70	26	3	1	4
	202	50	94	4	1	1	2
	203	50	97	-	3	-	3
	204	50	93	5	1	1	2
	205	65	80	13	3	4	7
	206	35	99	-	1	-	1
	207	30	93	4	1	2	3
	208	30	100	-	-	-	-
	209	30	93	2	2	3	5

satilidad, expresada en la combinación de su aplicación en virtud de sus propiedades medicinales. Expresan una luz amarilla que debe ser atendida de modo inmediato con el fin de lograr mejorar las condiciones de comercialización de las plantas disponibles en mercados, ferias y herboristerías.

Referencias bibliográficas

- Cabrera, A.L. (1993). *Flora de la provincia de Jujuy. Colección Científica INTA XIII* (9):1-560, Verbenáceas a Caliceráceas: 17, 44 - 46,170, 234, 500, 598.
- Castro, M.; Fabron, G. (2017). "Saberes y prácticas alimentarias: familias migrantes entre tierras altas y bajas en Argentina". *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo regional* 51: 28.
- Crosby, P. (1979) "Quality is Free". *The Art Of Making Quality Certain*. Editorial Mcgraw Hill, New York, E. E. U. U.: 139, 145, 152.
- De La Canal y Asociados. (1999). *Código Alimentario Argentino*, Art. 1199 - Capítulo XVI, "Condimentos Vegetales". http://64.76.123.202/site/economias_regionales/producciones_regionales/01_origen_vegetal/04_hierbas_ arom%C3%A1ticas_y_especies/_calidad/caa_condimentos.pdf. [Consulta Octubre 12, 2011].

- Gattuso, M.A.; Gattuso, S.J. (1999). *Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo*. Universidad Nacional de Rosario. REUN. AUGM. UNESCO. RIPROFITO. Rosario: 6 – 11 - 15, 27 – 32.
- Gerhardt, U. (1975). *Espicias y condimentos*. Acriba. Zaragoza.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Arenas, P.M.; Pochettino, M.L. (2011). *Plantas de herboristería: plantas que se comercializan en herboristerías de la Ciudad de Buenos Aires*. 1ª. ed. Editorial L.O.L.A. Buenos Aires: 58, 123, 168.
- Scarpa, G.F.; Arenas, P. (1996). "Especias y colorantes en la cocina tradicional de la puna jujeña (Argentina)". *Candollea* 51: 483-514.
- Varela, B.G.; Ganopol, M.J.; Bosco, P.; Agostinelli, L.; Gurni, A.A. (2009). "Presencia de salvado de cereal en "oréganos" comercializados en la ciudad de Buenos Aires (Argentina)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8: 305 – 307.
- Vignale, N.D. (2002). Relevamiento y análisis exomorfológico y micrográfico de plantas medicinales de la puna y prepuna jujeñas, con especial referencia a la Reserva de Biósfera Laguna de Pozuelos, Jujuy, Argentina. *Tesis Doctoral*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. 52, 60, 92, 96, 98, 104, 109.
- Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2003). "Micrografía de plantas medicinales andinas usadas como aditivos alimentarios en la provincia Jujuy (Argentina)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 38 (Supl.): 142.
- Vignale N.D.; Gurni A.A. (2009). "Parámetros micrográficos para identificar doce especies medicinales andinas de Asteraceae de la provincia de Jujuy Argentina". En: Vignale, N. D. y Pochettino, M. L. (eds.) *Avances sobre plantas medicinales andinas*. CYTED.S. S. de Jujuy. 129-204.

Evaluación de la genotoxicidad y toxicidad general de extractos acuosos de *Acanthospermum australe* Loefl. Kuntze (Asteraceae) por medio del test de *Allium cepa*

Carlos G. Altamirano

Laboratorio de Farmacobotánica "Dr. Aníbal Amat", Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552 piso 5, Posadas, Misiones, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: carlos-altamirano@live.com

Resumen

Actualmente el uso corriente de plantas medicinales para el tratamiento de las diferentes afecciones se ha incrementado y en la mayoría de los casos se comercializan sin previos estudios de toxicidad, lo que pone en riesgo la salud de las personas que la utilizan. En el presente trabajo se propuso analizar la genotoxicidad y toxicidad general de extractos acuosos de *Acanthospermum australe* Loefl. (Asteraceae) por medio del test de *Allium cepa*. Se seleccionaron 5 bulbos por cada concentración a ensayar, y 5 para el control (utilizando agua mineral baja en sodio), en cada ensayo. Los extractos se prepararon por medio de infusiones, y luego se filtraron. En un primer ensayo se determinó la IC₅₀ y se analizaron las anomalías macroscópicas observadas: tumores 10 %, ganchos 13 % y necrosis 35 %. En un segundo ensayo se analizaron las anomalías microscópicas, los índices mitóticos y porcentajes de cada fase de la mitosis, para cada una de las concentraciones estudiadas de 150,0; 75,0 y 37,5 g/L. También aberraciones cromosómicas, principalmente micronúcleos, metafases pegajosas y puentes anafase/telofase, de un total de 2500 células contabilizadas por raíz, de cada concentración analizada. Las concentraciones más elevadas mostraron mayor inhibición de la mitosis (IM=11 % y 14 % respectivamente) con respecto a los controles (IM=20 %). Se fotografiaron los preparados con Moticam10, para el posterior conteo de fases. Si bien no son concentraciones usuales en las que se utiliza *A. australe*, se evidencia actividad genotóxica de los extractos acuosos en correlación con el aumento de la concentración.

Evaluation of genotoxicity and general toxicity of aqueous extracts of *Acanthospermum australe* Loefl. Kuntze (Asteraceae) through the *Allium cepa* test

Summary

Currently the current use of medicinal plants for the treatment of different conditions has increased and in most cases they are marketed without previous toxicity studies, which puts the health of the people who use it at risk. In the present work it was proposed to analyze the genotoxicity and general toxicity of aqueous extracts of *Acanthospermum australe* Loefl. (Asteraceae) by means of the *Allium cepa* test. Five bulbs were selected for each concentration to be tested, and 5 for the control (using mineral water low in sodium), in each test. The extracts were prepared by means of infusions, and then filtered. In a first trial the IC₅₀ was determined and the observed macroscopic anomalies were analyzed: tumors 10 %, hooks 13 % and necrosis 35 %. In a second trial, microscopic anomalies, mitotic index and percentages of each phase of mitosis were analyzed for each of the studied concentrations of 150.0, 75.0 and 37.5 g/L. Also chromosomal aberrations, mainly micro-cores, sticky metaphases and anaphase/telophase bridges, of a total of 2500 cells counted per root, of each concentration analyzed. The highest concentrations showed greater inhibition of mitosis (MI = 11 % and 14 % respectively) with respect to the controls (MI = 20 %). The preparations were photographed with moticam10, for the subsequent phase counting. Although they are not usual concentration in which *A. australe* is used, genotoxic activity of the aqueous extracts is correlated with the increase of the concentration.

Introducción

Acanthospermum australe (Loefl.) Kuntze, es una planta herbácea perteneciente a la familia Asteraceae, tribu Heliantheae, comúnmente conocida en la Argentina y Paraguay como "tapecué", en Brasil como "carrapichinho"

Palabras clave: genotoxicidad - toxicidad general - *Acanthospermum australe* - test de *Allium cepa*.

Key words: genotoxicity - general toxicity - *Acanthospermum australe* - *Allium cepa* test.

principalmente. Crece vigorosamente en suelos agrícolas, en campos y terrenos baldíos, siendo considerada muchas veces una planta dañina (Martins y col., 2006).

Presenta tallos ramosos, decumbentes, pubescentes, hojosos hasta el ápice. Hojas opuestas, rómbico-ovadas, agudas u obtusas en el ápice, dentado- aserradas en el margen, laxamente pubescentes y con pequeñas glándulas en ambas caras, especialmente en la inferior. Flores amarillentas, dimorfas. Aquenios completamente envueltos por las brácteas interiores del involucre, dando lugar a un fruto fusiforme, cubierto totalmente de cerdas ganchedas rígidas (Araújo y col., 2013).

Sus partes aéreas son utilizadas por medio de extractos acuosos en la medicina tradicional de Argentina y países limítrofes para el tratamiento de heridas cutáneas, como tónico, diaforético, eupéptico, vermífugo, antidiarreico, antimálarico, antigonorréico, febrífugo, antianémico, entre otros (Lorenzi y Matos, 2002; Arenas y Azorero, 1977).

A pesar de ser ampliamente utilizada en forma empírica, carece de estudios de toxicidad y genotoxicidad. Por lo que el objetivo principal del presente estudio es evaluar la genotoxicidad y toxicidad general de los extractos acuosos de partes las aéreas de *A. australe*, por medio del test de *Allium cepa*.

La aplicación del test de *A. cepa* en el análisis genotóxico de compuestos químicos y mezclas complejas es ampliamente utilizado desde su implementación (Andrioli y col, 2006). Corresponde un buen modelo biológico para el análisis de aberraciones cromosómicas inducidas luego de la exposición a un agente (Grant, 1982).

Materiales y Métodos

Recolección de *A. australe*

Partes aéreas de *A. australe* fueron recolectadas durante los meses de julio a septiembre de 2017 en Avenida 117 y calle 178 (27° 25' 26'' S 55° 56' 33.8'' O) situado en el barrio Itaembé Mini, zona ubicada al sur de la ciudad de Posadas Misiones, e identificado por medio de técnicas taxonómicas de rutina. El material de herbario (voucher) fue depositado en el Herbario del Departamento de Farmacia (MNESF) en el Laboratorio de Farmacobotánica "Dr. Aníbal Gumersindo Amat", de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Acondicionamiento del material vegetal

Los bulbos de *A. cepa* fueron adquiridos en el comercio local, se seleccionaron unidades de un tamaño homogéneo, de buen aspecto e integridad. El material vegetal fue limpiado, y luego secado a estufa a 45 °C por 48h. Posteriormente se trituro en mortero manual, hasta obtener un tamaño de polvo homogéneo.

Preparación de los extractos de *A. australe*

El método extractivo seleccionado fue la infusión, según Farmacopea Nacional Argentina 6ta Edición, colocando agua mineral baja en sodio hirviendo, en contacto con la cantidad necesaria de droga vegetal previamente molida, por el transcurso de 20 minutos. Posteriormente se filtró y se lavó el residuo hasta completar el volumen necesario para cada experiencia (Farmacopea Nacional Argentina, 1978). El extracto se expresa en gramos de droga vegetal seca (partes aéreas de *A. australe*) por litro de infusión (g/L).

Pretratamiento de bulbos

Los bulbos fueron despojados de sus catáfilas más externas, se raspó el disco inferior con cuidado de no dañar la zona meristemática, y fueron lavados con agua corriente durante 2 horas, para eliminar cualquier residuo que pudieran contener provenientes de la actividad comercial (Fiskesjo, 1993).

Test de *A. cepa*

El test de *A. cepa* fue realizado por duplicado, utilizando para todas las diluciones y los controles agua mineral baja en sodio. Fue dividido en dos ensayos (Etapa 1 y Etapa 2), donde en cada experiencia se seleccionaron 5 bulbos de *A. cepa* por cada concentración a ensayar (ensayando 3 concentraciones diferentes en cada experiencia), y 5 bulbos para el control (considerando un total de 20 bulbos por experiencia) (Mudry y Carballo, 2006).

Tanto para la Etapa 1 y la Etapa 2, los bulbos fueron colocados en agua mineral baja en sodio durante 24 horas, a temperatura ambiente, al resguardo de la luz, hasta que liberasen raicillas y estas alcanzaran una longitud promedio de 1 cm.

Para los ensayos se utilizó un dispositivo diseñado para el experimento (Figura 1) con recipientes de vidrio fijos donde apoyar los bulbos, sumergiendo los discos, provistos de un suministro de aire constante por medio

Figura 1.- Diseño del experimento



de 2 aireadores impulsando el aire que fue distribuido por mangueras hacia cada uno de los recipientes.

Las distintas concentraciones probadas y el agua mineral baja en sodio fueron reemplazadas cada 24 h. Los extractos de *A. australe* se prepararon al momento de ser utilizados por medio de infusiones, utilizando también agua mineral baja en sodio.

Una vez transcurridas las 48 h y emergidas las raicillas, se procedió a realizar la Etapa 1. En esta instancia se probaron concentraciones de 12,5; 25,0; 50,0 y 100,0 g/L, y se fotografiaron las raíces de todos los bulbos para determinar las anomalías macroscópicas (tumores, ganchos y necrosis). Además, se midió la longitud de todas las raíces para construir la curva de toxicidad y determinar la IC_{50} .

En la Etapa 2 se probaron concentraciones de 37,5; 75,0 y 150,0 g/L. Para posteriormente obtener los biomarcadores de genotoxicidad.

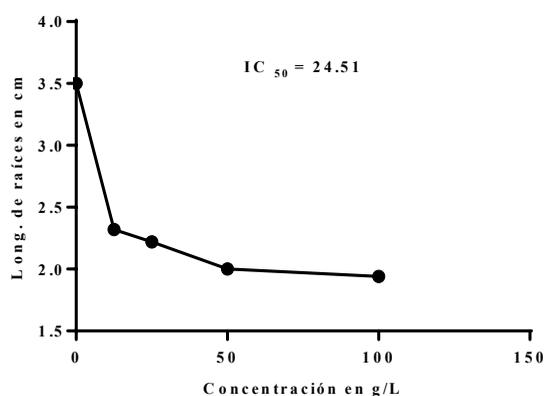
Tanto en la Etapa 1 como en la Etapa 2, los bulbos estuvieron en contacto con los extractos por 48 h (Mudry y Carballo, 2006).

Obtención de biomarcadores de genotoxicidad

Para observar el estado de las mitosis en los meristemas de las raicillas de *A. cepa* expuesta a los extractos, se realizaron preparados histológicos *in situ*. Para ello se cosecharon las raíces, que fueron fijadas en Farmer (Zarlavsky, 2014) por 24 h en heladera a $-3^{\circ}C$ y luego se trasladaron a alcohol 70° donde se mantuvieron hasta el momento de realizar los preparados (Mudry y Carballo, 2006).

Bajo la lupa se seccionó la zona meristemática y se la colocó en un portaobjeto con orceína acética al 2 % que fue llevado directo a la llama. Luego se colocó el cubreobjeto y se ejerció una leve presión sobre el preparado ("squash"). Posteriormente se observó en un microscopio óptico Motiic BA2000 y se tomaron fotografías con cámara Motiocio para su posterior análisis (Mudry y Carballo, 2006).

Figura 2.- Cálculo de la IC_{50} de las infusiones de *A. australe*



Longitud promedio de las raíces en función de la concentración

Índices mitóticos

Los índices mitóticos se calcularon como la relación entre las células en división y el total de células. Se contabilizaron un total de 2500 células por cada raicilla, tomando 2 raicillas por cada bulbo de cada uno de los 20 bulbos en total, utilizados para cada experiencia (Mudry y Carballo, 2006).

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado por medio de Statgraphic 6.0 (ANOVA y test de Tukey) y los gráficos se realizaron por medio de Graphpad Prism 6.0.

Resultados

IC_{50} de *A. australe*

Se obtuvo un promedio de 3,50 cm para las raíces control, 1,94 cm para 100 g/L, 2,00 cm para 50 g/L, 2,22 cm para 25 g/L y 2,32 cm para 12,5 g/L. Con los datos obtenidos se realizó un gráfico de longitud de las raíces en función de la concentración (Figura 2). Gráficamente se obtiene el valor de $IC_{50} = 24,51$ g/L con un $R^2 = 0,9672$. Por lo que se procederá a realizar el análisis de la genotoxicidad a dosis superiores a 24,51 g/L.

Toxicidad general de las infusiones de *A. australe*

Los datos de toxicidad general fueron obtenidos también durante la Etapa 1 y se observan en la figura 3. Fueron fotografiadas todas las raicillas, de todos los bulbos de todas las concentraciones probadas, contabilizando tumores 10 %, ganchos 13 % y necrosis 35 %.

Figura 3.- Anomalías macroscópicas relevadas



A y C: detalle de ganchos. **B y D:** tumores y necrosis.

Tabla 1.- Porcentajes de cada fase de la mitosis, en función de las concentraciones probadas de *A. australe*

Concentraciones [g/L]	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	Citocinesis
150,0	89 %	7 %	1,5 %	1,0 %	1,0 %	0,5 %
75,0	86 %	10 %	1,0 %	1,5 %	1,0 %	0,5 %
37,5	84 %	12 %	2,0 %	1,0 %	0,5 %	0,5 %

Tabla 2.- Resumen de los resultados obtenidos para las infusiones de *A. australe*

Concentración [g/L]	% Anomalías Microscópicas	Índices Mitóticos	Tiempo de exposición [horas]	Células contabilizadas
0	0 %	20	48	2500
150,0	0,95 %	11	48	2500
75,0	0,68 %	14	48	2500
37,5	0,33 %	16	48	2500

Tabla 3.- ANOVA para las aberraciones por concentraciones

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	Razón F	Valor de P
Entre grupos	6299,2	3	2099,73	271,81	0,0000
Intra grupos	123,6	16	7,73		
Total	6422,8	19			

Genotoxicidad de *A. australe*

En la Etapa 2 se analizaron los porcentajes de cada fase de la mitosis para cada una de las concentraciones estudiadas de 150,0; 75,0 y 37,5 g/L (Tabla 1), los índices mitóticos (Tabla 2) y finalmente los biomarcadores de genotoxicidad (anomalías microscópicas).

Índices mitóticos

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{Total de células en división}}{\text{Total de células contadas}} \times 100$$

Las concentraciones más elevadas mostraron mayor inhibición de la mitosis (IM igual a 11 % y 14 %, respectivamente) con respecto a los controles (IM= 20 %) (Tabla 2).

Biomarcadores de genotoxicidad

Se contabilizaron un total de 2500 células por raíz y por cada bulbo a cada concentración analizada. Las aberraciones cromosómicas se corresponden a un 1 % del total de células contabilizadas. Fueron encontrados micro

núcleos, metafases pegajosas y puentes anafase/telofase principalmente. Con los datos obtenidos fueron analizados utilizando el software Statgraphics 6.0 (Tabla 3).

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Aberraciones entre un nivel de concentraciones y otro, con un nivel del 95,0 % de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aberraciones por concentraciones

En la tabla 4, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. Las diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de concentración se muestran con las diferencias en las X's.

La tabla 5 se muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0 % de confianza. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0 % al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Tabla 4.- Test de Tukey HSD

Concentraciones [g/L]	Casos	Media	Grupos homogéneos
0	5	0,6	X
150,0	5	9,8	X
75,0	5	16,2	X
37,5	5	47,8	X

Tabla 5.- Diferencias estimadas entre las media

Contraste	Significativa	Diferencia	± Límites
0 - 37,5	*	- 9,2	5,03152
0 - 75,0	*	- 5,6	5,03152
0 - 150,0	*	- 47,2	5,03152
37,5 - 75,0	*	- 6,4	5,03152
37,5 - 150,0	*	- 38,0	5,03152
75,0 - 150,0	*	- 31,6	5,03152

* indica una diferencia significativa.

Finalmente, en el figura 4, se observan las medias y desvío estándar de las aberraciones cromosómicas obtenidas durante la Etapa 2, en función de las concentraciones de infusión de *A. australe*. En la figura 5, se observan los controles y en figura 6 las anomalías microscópicas relevadas.

Discusión

Las anomalías macroscópicas observadas en la Etapa 1, tumores en un 10 %, ganchos en un 13 % y necrosis un 35 % (considerando el total de las raíces analizadas), además de la variación de las longitudes de las raíces observadas, indican efectos de toxicidad a nivel general.

También se observa como varía el índice mitótico en función del aumento de la concentración del extracto de *A. australe*, así como también los porcentajes de cada fase de la mitosis.

La inducción de alteraciones del huso mitótico en la célula de *Allium cepa* por estos agentes genotóxicos puede conducir a aneuploidía o formación de micronúcleos en la siguiente etapa de la división celular. En general, esto ocurre cuando se produce una separación irregular de los cromosomas en la anafase, por lo tanto, algunos cromosomas llegan a los polos antes que los otros. Alrededor del o de los cromosomas rezagados se pueden formar una membrana nuclear generando los micronúcleos (Akinboro y Bakare, 2007), siendo las principales anomalías microscópicas observadas en el presente estudio.

A. australe ha sido fruto de numerosas investigaciones fitoquímicas donde se ha logrado el aislamiento de germacránolidos, melampólidos (Sánchez y col., 2009; Bohlmann y col., 1979), lactonas diterpénicas y 6-metoxiflavonoides (Bohlmann y col., 1981 y 1984; Matsunaga y col., 1996).

De las partes aéreas fue aislado el acanthostral, una lactona sesquiterpénica con actividad antitumoral (Matsunaga y col., 1996), además los extractos y las fracciones obtenidas poseen actividad antiviral *in vitro* (Rocha Martins y col., 2011). Probablemente los metabolitos secundarios asociados a esta especie, estén relacionados también con los efectos genotóxicos observados en el presente trabajo.

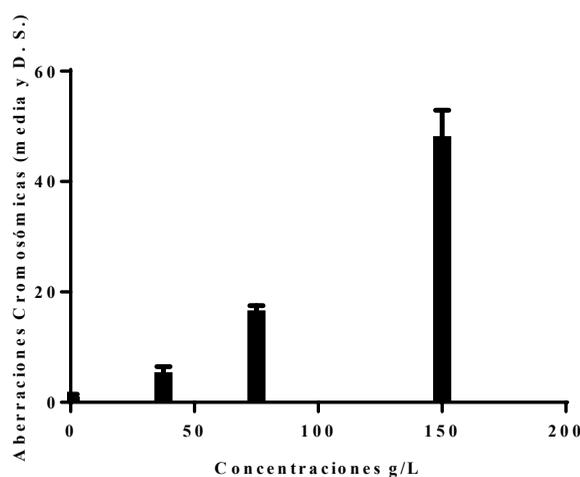
Los datos presentados en las tablas 4 y 5 muestran que hubo diferencias estadísticamente significativas de las aberraciones cromosómicas en todas las concentraciones probadas en comparación con los controles, con un 95 % de confianza, lo que podría servir de base para futuras investigaciones en la especie.

Conclusión

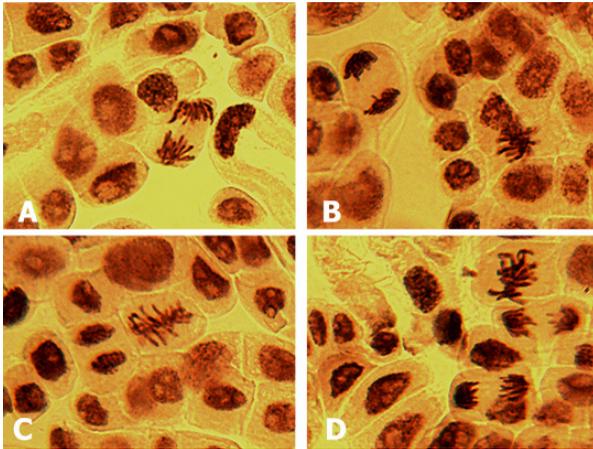
De los resultados obtenidos en Etapa 1, podemos considerar que las concentraciones utilizadas en el experimento (100,0; 50,0; 25,0 y 12,5 g/L) presentan toxicidad a nivel general, manifestadas por medio de las anomalías macroscópicas relevadas (tumores, ganchos y necrosis), determinándose una $IC_{50} = 24,51$ g/L.

Del segundo experimento (Etapa 2) podemos observar una variación porcentual de las diferentes fases de la mitosis, permaneciendo las células principalmente en interfase.

El índice mitótico fue disminuyendo a medida que aumentó la concentración, demostrando que la mitosis se ve afectada de alguna manera por la presencia del extracto de *A. australe*.

Figura 4.- Aberraciones cromosómicas producidas por las infusiones de *A. australe*

Medias y desvío estándar de aberraciones cromosómicas

Figura 5.- Resultados de Controles**A:** Anafase; **B:** Telofase y Metafase; **C y D:** Metafase y Telofase.

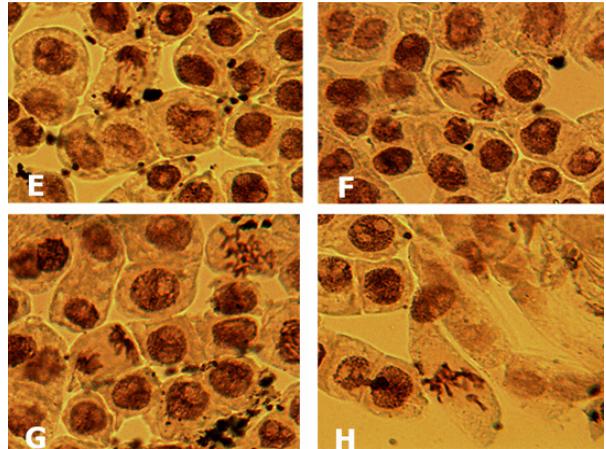
Podríamos concluir finalmente en base a los resultados obtenidos que las infusiones de *A. australe* presentan efectos genotóxicos. Las aberraciones cromosómicas encontradas representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) conformando grupos homogéneos en todas las concentraciones de 37,5; 75,0 y 150,0 g/L (prueba de Tukey).

Cabe destacar que las concentraciones de infusiones de *A. australe* utilizadas en el presente estudio no son dosis usuales en las que se utiliza *A. australe* en la medicina tradicional.

Serían necesarias futuras investigaciones en diferentes modelos biológicos incluso modelos in vivo, en diferentes concentraciones a los fines de establecer los límites de seguridad de *A. australe*, incluso probando otras formas de extracción también utilizadas en la medicina tradicional, como decocciones o emplastos.

Referencias bibliográficas

- Akinboro, A.; Bakare, A.A. (2007). "Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn". *Journal of Ethnopharmacology* 112 (3): 470-475.
- Andrioli, N.B.; Wulff, A.F.; Mudry, M.D. (2006). "*Allium cepa* como monitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol". *Theoria* 15 (2): 9-16.
- Araújo, E.D.L.; Xavier, H.S.; Ferreira, C.P.; Pimentel, R.D.M. (2013). "Macro and microscopical identification of two *Acanthospermum* medicinal plants". *Journal of Medicinal Plants Research* 4 (35): 2606-2615.
- Arenas, P.; Azorero, R. (1977). "Plants of common use in Paraguayan folk medicine for regulating fertility". *Economic Botany* 31 (3): 298-300.
- Bohlmann, F.; Jakupovic, J.; Dhar, A.K.; King, R.M.; Robinson, H. (1981). "Two sesquiterpene and three diterpene lactones from *Acanthospermum australe*". *Phytochemistry* 20 (5): 1081-1083.

Figura 6.- Resultados de genotoxicidad**E y F:** Detalle de Anafase. **G y H:** Metafase anómala con cromosomas rezagados y desordenados.

- Bohlmann, F.; Jakupovic, J.; Zdero, C.; King, R.M.; Robinson, H. (1979). "Neue melampolide und cis, cis-germacranolide aus vertretern der subtribus Melampodiinae". *Phytochemistry* 18 (4): 625-630.
- Bohlmann, F., Schmeda-Hirschmann, G.; Jakupovic, J. (1984). "Neue melampolide aus *Acanthospermum australe*". *Planta medica* 50 (01): 37-39.
- Farmacopea Nacional Argentina (1978). Buenos Aires. (6° ed.)
- Fiskesjo, G (1993). The *Allium* test in wastewater monitorin. *Environmental Toxicology and Water Quality* 8 (3): 291-298.
- Grant, W.F. (1982). "Chromosome aberration assays in *Allium*: A report of the US Environmental Protection Agency gene-tox program". *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 99 (3): 273-291.
- Lorenzi, H.; Matos, F.J.A. (2002). *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa Plantarum, Nova Odessa.
- Martins, L.R.R.; Mourão, K.S.M.; Albiero, A.L.M.; Cortez, D.A.G.; Dias-Filho, B. P.; Nakamura, C.V. (2006). "Estudo morfoanatómico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae)". *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16: 42-52.
- Matsunaga, K.; Saitoh, M.; Ohizumi, Y. (1996). "Acanthostrale, a novel antineoplastic cis, cis, cis-germacranolide from *Acanthospermum australe*". *Tetrahedron letters* 37 (9): 1455-1456.
- Mudry, M.D.; Carballo, M.A. (2006). *Genética Toxicológica*. De los Cuatro Vientos Editorial. Buenos Aires.
- Rocha Martins, L.R.; Brenzan, M.A.; Nakamura, C.V.; Dias Filho, B.P.; Nakamura, T.U.; Ranieri Cortez, L.E.; Garcia Cortez, D.A. (2011). "In vitro antiviral activity from *Acanthospermum australe* on herpesvirus and poliovirus". *Pharmaceutical biology* 49 (1): 26-31.
- Sánchez, M.; Kramer, F.; Bargardi, S.; Palermo, J.A. (2009). "Melampolides from Argentinean *Acanthospermum australe*". *Phytochemistry Letters* 2 (3): 93-95.
- Zarlavsky, G.E. (2014). *Histología Vegetal: Técnicas simples y complejas*. Sociedad Argentina de Botánica. Buenos Aires.

Diseño de una base de datos de Plantas Medicinales de Entre Ríos, República Argentina

Daniel M. Heissenberg*, Gerardo N. Guerrero-Flores, Renan Lima de Araujo, Nelson Saldaña Baptista, Giovanna Barbalho Leal, Sonia Brandt, Melina A. Delgado

Centro para la Investigación en Ciencias de la Salud, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Adventista del Plata. 25 de Mayo 99, E3103XAF Libertador San Martín, Entre Ríos, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: daniel.heissenberg@uap.edu.ar

Resumen

El uso de plantas medicinales es una forma popular de tratar enfermedades y su uso se remonta a miles de años atrás en diferentes civilizaciones. La provincia de Entre Ríos presenta varias especies que han sido objeto de usos etnobotánicos. Esta investigación tuvo por objeto construir una base de datos con información científica y etnobotánica actualizada de plantas de esta región. Se hizo una revisión del libro "Las Plantas Medicinales de la Flora de la Provincia de Entre Ríos" y páginas como Tropic.org, PubMed, Sistema de Información de Biodiversidad de Argentina, entre otras, para la elaboración de fichas informativas de cada especie. De un total de 698 plantas estudiadas, 463 reportaron alguna propiedad medicinal. Este trabajo puede ser de ayuda para futuras investigaciones ya que pone a disposición una lista ordenada y actualizada de distintas especies de plantas con sus posibles efectos medicinales, organizadas según el aparato o sistema sobre el cual actúa.

Design of a database of Medicinal Plants of Entre Ríos, Argentina

Summary

The use of medicinal plants is a popular way of treating diseases and their use goes back thousands of years in different civilizations. The province of Entre Ríos presents several species that have been the object of ethnobotanical uses. This research aimed to construct a database with updated scientific and ethnobotanical information in plants of this location. A review was made of the book The Medicinal Plants of the Flora of the Province of Entre Ríos and pages like Tropic.org, PubMed, Sistema de Información de Biodiversidad of Argentina among others, for the elaboration Of the fact sheet of each species. Of a total of 698 studied plants, 463 reports some medicinal property. This work can be of help for future research as it makes available an orderly and updated list of different species with their possible medicinal effects, organized according to the apparatus or system on which it acts.

Introducción

La fitomedicina o fitoterapia es el uso del reino vegetal como terapia para el tratamiento de las enfermedades. Es un tipo de medicina milenaria, la más antigua conocida y la más utilizada en la historia de la humanidad. Existen documentos sumerios y chinos que ya hablaban del uso medicinal de las plantas y datan de casi 3000 años a.C. También hay registros de su uso extendido en Egipto, Mesopotamia, Grecia, Roma, India, África y en la medicina árabe. En la Edad media los monasterios eran verdaderos huertos botánicos en los cuales se producían plantas para uso medicinal. Desde el siglo XVIII los boticarios y químicos, vinculados a los médicos, preparaban sus recetas magistrales para tratar enfermedades. Con el avance de la ciencia se empezaron a conocer los principios activos

que producen el efecto terapéutico. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002) en los países en desarrollo casi el 80 % de la población hace uso de la medicina popular o tradicional, la que incluye la fitoterapia para atender los problemas de su salud. Se entiende por planta medicinal, a aquella que contenga en uno o más de sus órganos sustancias que puedan ser utilizadas con fines terapéuticos o que sean precursoras de la síntesis de fármacos útiles (Sofowora y col., 2013). También es preciso destacar que la investigación sobre las propiedades medicinales de las plantas es aún exigua. Por ejemplo, de las angiospermas existentes en el mundo, pocas han sido evaluadas para determinar su composición química y sus propiedades farmacológicas (Bermúdez y col., 2014).

Palabras clave: flora nativa - Entre Ríos - base de datos - planta medicinal.

Key words: native flora - Entre Ríos - database - medicinal plant.

Uno de los retos actuales de la farmacología es documentar y preservar la riqueza biológica empleada en la medicina tradicional y desarrollar sistemas sustentables de producción y uso de plantas con potencial farmacológico para el tratamiento de diversas enfermedades. De esta manera es posible mitigar la pérdida de este conocimiento en la población debido a la utilización irracional de algunas especies y a la degradación de los ambientes naturales (Villarreal-Ibarra y col., 2015).

En la Argentina es de amplia difusión el uso de plantas con fines medicinales, en especial en algunas regiones del país (Scarpa, 2002; Martínez y Planchuelo, 2003; Eyssartier y col., 2009; Trillo y col., 2010). En la medicina tradicional argentina el uso de plantas en forma de infusiones o decocciones es una práctica común entre las personas de las comunidades rurales (Muñoz, 2010) y su uso está aumentando en las poblaciones urbanas. Al acervo empírico de los pueblos originarios se agregó el que tenían los europeos sobre sus propias plantas medicinales, las cuales fueron introducidas en América (Gil y col., 2003). De esta manera dos culturas lograron mezclar el conocimiento botánico, sacando provecho del recurso fitomaterial.

La flora argentina comprende aproximadamente unas 246 familias con 8.409 especies (Zuloaga y Morrone, 1996; Zuloaga y Morrone, 1999), de las cuales se mencionan 1537 especies como potencialmente medicinales, constituyendo una rica reserva para el futuro desarrollo de medicamentos (Rondina y col., 2008). Sin embargo, la información sobre las plantas medicinales en la Argentina y sus aplicaciones sigue siendo escasa y fragmentaria. El objetivo de la presente investigación es contribuir a profundizar el conocimiento de las plantas medicinales de la provincia de Entre Ríos y su aplicación a través de la creación de una base de datos. Este conocimiento organizado podría aplicarse a la investigación de nuevos productos farmacéuticos. Se construyó así una base de datos con 698 especies de la flora nativa de la provincia

de Entre Ríos. Esta base de datos organiza la información y presenta las propiedades medicinales de las diferentes especies estudiadas a partir de fuentes primarias (artículos científicos) y secundarias (menciones bibliográficas, menciones de autores especializados y uso etnobotánico).

El Dr. Juan de Dios Muñoz (1947-2007), ingeniero agrónomo, se dedicó a lo largo de su vida profesional a la docencia, la investigación y la defensa del patrimonio natural. Fue autor y coautor de numerosos trabajos de investigación sobre la flora entrerriana, con numerosas publicaciones y distinciones académicas. Su libro "Las plantas medicinales de la flora de la provincia de Entre Ríos, Argentina", es un notable registro que compila labores de campo con información de carácter inédito proveniente de fuentes populares, específicamente de la provincia de Entre Ríos. Las casi 500 especies que presenta poseen ilustraciones, descripciones morfológicas, nombres científicos, sinónimos más conocidos, nombres vulgares y usos registrados. Este catálogo es un recurso que ayuda a la revalorización de la flora nativa para conservar y fomentar el uso racional de esta. Además aporta conocimiento sobre el uso medicinal de dichas plantas a partir de fuentes etnobotánicas.

Se consideró realizar esta investigación partiendo del invaluable aporte hecho por este reconocido investigador a fin de ampliar dicha información con una revisión de trabajos de investigación actualizados.

Materiales y métodos

La búsqueda bibliográfica se realizó en diferentes libros de texto etnobotánicos y bases de datos como Pubmed y Google Scholar. Inicialmente, para armar la base de datos, se tomó como referencia el libro "Las Plantas Medicinales de la Flora de la Provincia de Entre Ríos, Argentina" del Dr. Juan de Dios Muñoz. El mismo presenta 479 especies

Tabla 1. Ejemplo de la acción que algunas plantas medicinales presentarían sobre el aparato respiratorio según se muestra en la base de datos

Familia	Género	Epíteto específico	Nombre vernáculo	Anticatarral	Antitusivo	Broncodilatador	Expectorante	Antialérgico	Antibacteriano	Antifúngico	Antiparasitario	Antiséptico
		<i>atramentaria</i>	brea, espinillo	-	E	E	-	-	-	-	-	E
Fabaceae	<i>Acacia</i>	<i>bonariensis</i>	napindá	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		<i>caven</i>	aromito	-	NE	NE	-	-	-	-	-	NE
Asteraceae	<i>Acanthospermum</i>	<i>australe</i>	tapecué	-	-	-	-	-	E/NE	-	-	-

NE: no experimental, E: experimental

nativas que se han utilizado por las comunidades locales durante décadas para el tratamiento de enfermedades con un sustento bibliográfico principalmente etnocultural. Para ampliar la investigación se agregaron 219 especies nativas a través del Sistema de Información de Biodiversidad (<https://sib.gob.ar/>). Estas 698 especies fueron clasificadas y organizadas haciéndose de cada especie una ficha informativa. Para obtener información taxonómica se utilizaron las paginas "Trópicos" (www.tropicos.org) y "The Plant List" (<http://www.theplantlist.org/>). Para definir las propiedades medicinales y homogeneizar su nomenclatura se tomó como referencia las mencionadas por la Sociedad Latinoamericana de Fitomedicina (<http://fitomedicina.org/>). Cada ficha informativa individual construida presenta el nombre científico de la planta, nombre vernáculo, clasificación taxonómica, fotografías, propiedades medicinales y sus referencias de fuentes primarias o secundarias.

La base de datos está construida sobre el programa Excel y ordenada en Clase, Familia, Género, Especie y los sistemas en los que actúa con sus propiedades medicinales. A través de la búsqueda de Excel, con la ayuda de las pestañas "Buscar y seleccionar" u "Ordenar y filtrar" se puede encontrar la familia, género, especie, nombre vernáculo o propiedades medicinales específicas de cada ejemplar,

lo que permite visualizar grupos con diferentes atributos. Esta lista no debe considerarse completa ya que al ser una base de datos dinámica y renovable se pueden agregar otras especies a medida que se actualiza la información.

Resultados

La base de datos incluye 122 familias, 422 géneros y 698 especies nativas de la Provincia de Entre Ríos. La misma está disponible en la página de la Universidad Adventista de Plata, específicamente en la sección Investigación y Producción Científica de la UAP (<http://uap.edu.ar/investigacion/#1532458991308-93cd7e59-4928>). De las 698 especies estudiadas e incorporadas en la base de datos, en 235 especies (34 % de las investigadas) no se hallaron evidencias de que posean propiedades medicinales. Mientras que en 463 especies (66 % de las investigadas) se mencionan propiedades medicinales. Las principales familias que destacan por su número de especies son Asteraceae, Poaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae y Verbenaceae.

La base de datos está organizada de tal manera que quien realice la consulta pueda observar con detalle y de forma sencilla las propiedades que posee cada especie. La base de datos contiene información sobre la clasificación

Tabla 2.- Número de plantas de uso medicinal de la provincia de Entre Ríos que actuarían sobre los diferentes aparatos y sistemas corporales

Aparato/sistema	Cantidad de plantas	Tipo de Investigación
Sexualidad y Aparato reproductor	41	NE: 39; E: 5
Respiratorio	75	NE: 98; E: 3
Renal y urinario	88	NE: 84; E: 4
Psiquiatría	16	NE: 9; E: 10
Piel y anexos	204	NE: 113; E: 6
Oncología	77	NE: 8; E: 68
Oftalmología	9	NE: 7; E: 2
Neurología	23	NE: 17; E: 6
Muscular y óseo	8	NE: 3; E: 4
Inmunológico	248	NE: 128; E: 194
Inflamación y analgesia	231	NE: 244; E: 89
Hormonal y metabolismo	162	NE: 61; E: 125
Digestivo	214	NE: 296; E: 33
Cardiovascular y sangre	63	NE: 56; E: 18

NE: no experimental, E: experimental

taxonómica, propiedades de la planta y si estas han sido validadas, foto representativa de la especie y referencias que respaldan dichas propiedades.

Al aplicar el "filtro" correspondiente del archivo Excel se vuelve accesible discriminar las especies que presentan antecedentes en las propiedades medicinales buscadas.

La tabla 1 muestra, a modo de ejemplo, como algunas de las plantas de uso medicinal de la provincia de Entre Ríos actuarían sobre el aparato respiratorio, el cual ha sido categorizado en la base de datos. La clasificación se hizo con base a su función sobre determinados síntomas. La nomenclatura "E" significa "experimental" (indica que la especie tiene propiedades verificadas experimentalmente) y "NE" significa "no experimental" (indica que el efecto que tiene la planta no ha sido comprobado experimentalmente; pero ha sido registrada por su uso etnocultural).

En la tabla 2 se puede apreciar un resumen de la cantidad de especies que ejercerían una función medicinal por los diferentes aparatos y sistemas del cuerpo humano. En este sentido, el sistema inmunológico es donde se encontró una mayor cantidad de especies con posibles propiedades medicinales.

Discusión

La principal familia que destaca por su número de especies es la Asteraceae. Esto coincide con investigaciones de otras latitudes, ya que esta familia posee cualidades fisiológicas que les permiten colonizar sistemas con facilidad. La familia Asteraceae es una de los más grandes del mundo (más de 23.000 especies actualmente aceptadas distribuidas en 1620 géneros) y más importantes económicamente. Esta familia se encuentra ampliamente distribuida en el país y comprende un gran número de especies utilizadas en medicina popular. Algunas especies de esta familia son empleadas por sus propiedades digestivas, colagogas y coleréticas y se han aislado diversos compuestos polifenólicos del tipo de los flavonoides, cumarinas y ácidos cafeoilquínicos. (Bucciarelli y col., 2009; Shikov y col., 2014). A pesar de la distribución global de la familia Asteraceae y sus potenciales recursos medicinales, los bioactivos de un número considerado de especies de esta familia, todavía no han sido investigados (Kenny y col., 2014).

La base de datos de la flora medicinal entrerriana proporciona información de las presuntas propiedades medicinales de un grupo de especies de plantas nativas de la provincia de Entre Ríos. Está organizada como una biblioteca estructurada e integrada. La base de datos fue desarrollada para facilitar la búsqueda de información.

Las compilaciones de diversas plantas con presunto efecto medicinal es de gran utilidad y más aún si son organizadas de tal manera que la consulta resulte rápida y sencilla (Hassan Syed y Khan, 2014; Safavi y col., 2015; Pathania y col., 2007; Yanuar y col, 2011). Es oportuno mencionar que hoy día existen

pocas bases de datos de este tipo y estas bases generalmente se enfocan en alguna propiedad específica o solo en alguna familia de plantas en particular con estas propiedades. Esta base de datos puede ser útil para para la comunidad científica como orientación para realizar diversas investigaciones específicas.

Conclusiones

De un total de 698 especies de plantas nativas de la región se encontró que 463 reportaban alguna propiedad medicinal. Es pertinente mencionar que algunas especies presentan una mayor cantidad y calidad de evidencia científica que avala determinada propiedad medicinal mientras que en otras especies la evidencia es mínima. Incluso existen casos de especies cuya única información de uso proviene de fuentes no científicas o de antecedentes de uso etnocultural. Ante esto es oportuno mencionar que para avalar el uso de cualquier planta con fines medicinales debe contarse con la autorización gubernamental la cual incluye previamente pruebas clínicas de eficacia y pruebas de toxicidad.

La perspectiva de un estudio más profundo de estas especies puede tener un horizonte prometedor. De esta forma los conocimientos básicos adquiridos podrían ser aprovechados en el futuro en la práctica clínica.

Referencias bibliográficas

- Bermúdez, A.; Oliveira-Miranda, M.; Velázquez, D. (2005). "La Investigación Etnobotánica sobre Plantas Medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales". *Interiencia* 30 (8): 453-59.
- Bucciarelli, A.; Hansen, P.; Cambi, V. (2009). "Estudio morfoanatómico y micrográfico de *Pluchea microcephala* R. K. Godfrey (Asteraceae) empleada en medicina tradicional argentina". *Revista Internacional de Botánica Experimental* 78: 135-140.
- Eyssartier, C.; Haydee, V.; Lozada, M. (2009). "Uso de plantas medicinales cultivadas en una comunidad semi-rural de la estepa patagónica". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat.* 8 (2): 77-85.
- Gil, R.; Mejías, R.; Carmona, J.; Mejías, R.; Rodríguez, M. (2003). "Estudio etnobotánico de algunas plantas medicinales expendidas en los herbolarios de Mérida, Ejido y Tabay (Estado Mérida, Venezuela)". *Revista de la Facultad de Farmacia* 45 (1): 69-76.
- Hassan Syed A.; Khan, T. (2017). SHPIS: A Database of Medicinal Plants from Saudi Arabia. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications* 8 (5): 49-53.
- Kenny, O.; Smyth, T.J.; Walsh, D.; Kelleher, C.T.; Hewage, C.M.; Brunton, N.P. (2014). "Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts". *Food Chemistry* 161: 79-86
- Martínez, G.; Planchuelo, A. (2003). "La medicina tradicional de los criollos campesinos de Paravachasca y Calamuchita, Córdoba (Argentina)". *Scripta Ethnologica* 25: 83-116.

- Muñoz, J. (2010). *Las plantas medicinales de la flora de la Provincia de Entre Ríos, Argentina*. Edit. EDUNT. Paraná.
- Pathania, V.; Ramakrishnan, S.M.; Bagler, G. (2015). "Phytochemistry: a platform to explore phytochemicals of medicinal plants". *Database* 1-8. doi: 10.1093/database/bav075
- Rondina, R.; Bandoni, A.; Coussio, J. (2008). "Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica". *Dominguezia* 24 (1): 47-69.
- Safavi, M.; Shams-Ardakani, M.; Foroumadi, A. (2015). "Medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections". *Pharmaceutical Biology* 53 (7): 939-960.
- Scarpa, G. (2004). "Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco". *Journal of Ethnopharmacology* 91: 115-135.
- Shikov, V.; Pozharitskaya, O.; Makarov, V.; Wagner, H.; Verpoorte, R.; Heinrich, M. (2014). "Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications". *Journal of Ethnopharmacology* 154 (3): 481-536.
- Sofowora, A.; Ogunbodede, E.; Onayade, A. (2013). "The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention". *Afr J Tradit Complement Altern Med* 10 (5): 210-229.
- Trillo, C.; Arias, B.; Galetto, L.; Colantonio, S. (2010). "Persistence of the use of medicinal plants in rural communities of the western Arid Chaco (Córdoba, Argentina)". *The Open Complementary Medicine Journal* 2: 80-89.
- Villarreal-Ibarra, E.; Lagunes-Espinoza, L.; López, P.; García-López, E.; Palma-López, D.; Ortiz-García, C.; Oranday-Cárdenas, M. (2015). "Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 14 (2): 99-112.
- WHO. (2002). "WHO Traditional medicine strategy 2002-2005". *Document WHO/EDM/TRM 2002*, Ginebra.
- Yanuar, A.; Mun'im, A.; Aprima, A.; Riadhi, V.; Rahmat, V.; Suhartanto, H. (2011). "Medicinal plants database and three dimensional structure of the chemical compounds from medicinal plants in Indonesia". *International Journal of Computer Science Issues* 8 (5): 180-183.
- Zuloaga, F.; Morrone, O. (1996). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina, I. Pteridophyta, Gymnospermae y Angiospermae (Monocotyledoneae)*. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis, Missouri.
- Zuloaga, F.; Morrone, O. (1999). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina, II. Acanthaceae, Euphorbiaceae (Dicotyledoneae), Fabaceae, Zygophyllaceae*. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis, Missouri.

Evaluación de la acción insecticida de aceites esenciales en larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa*

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. San Andrés 800 Altos Palihue, Bahía Blanca 8000, Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: cschopa@uns.edu.ar

Resumen

En Argentina, *Brassica napus* L. es la oleaginosa de ciclo invierno-primaveral de mayor importancia en los últimos años. Este cultivo es atacado frecuentemente por varias plagas entre las que se encuentra *Plutella xylostella* L. En la actualidad el control de la misma se basa en el uso de insecticidas de síntesis química. El reiterado uso de estos compuestos ha generado resistencia a los insecticidas. Los aceites esenciales derivados de plantas son una herramienta alternativa de control ya que pueden producir repelencia, inhibir la alimentación y disminuir la oviposición de los insectos plaga. En base a estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue evaluar la mortalidad por exposición a los aceites esenciales de *Aloysia citriodora*, *A. polystachya* y *Tagetes terniflora* en larvas de *Plutella xylostella*. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante destilación por arrastre de vapor de agua en un aparato tipo Clevenger. El porcentaje de mortalidad de los aceites se calculó a las 72 horas. El aceite esencial de *A. polystachya* fue el más efectivo. Este aceite generó una mortalidad entre el 66 % al 77 % en las concentraciones ensayadas. Estos resultados indican que el aceite esencial de *A. polystachya* generó mortalidad en *P. xylostella*, por lo que futuros estudios llevarían a un posible uso agronómico del aceite esencial para el control de esta plaga.

Insecticidal activity of essential oils against *Plutella xylostella* larvae (Lepidoptera: Plutellidae)

Summary

In the last years, *Brassica napus* is an important oilseed winter crop in Argentina. One of the most important pest of oilseed rape is *Plutella xylostella*. Generally, this pest is controlled with synthetic pesticide. Their massive use usually results in pest resistance. Essential oils derived from plant are an alternative control tool that possess insecticidal and repellent properties, deterrent effects on feeding behaviour and the ability to delay adult fertility against agricultural insect pests. The aim of this paper was to study the toxicity of the essential oils of *Aloysia citriodora*, *A. polystachya* and *Tagetes terniflora* on *Plutella xylostella* larvae. Essential oils from leaves of *A. citriodora*, *A. polystachya* and *T. terniflora* were extracted using a Clevenger-type apparatus. Mortality was recorded 72 h after exposure to the essential oils. *A. polystachya* essential oil from was more effective than the others. This oil produced a percentage of mortality between 66 % and 77 % at all concentrations tested. These results indicated that *A. polystachya* essential oil generated mortality in *P. xylostella* so future studies would lead to possible agronomic uses to control this pest.

Introducción

La colza *Brassica napus* L. (Brassicaceae), es la oleaginosa de ciclo invierno-primaveral de mayor importancia y expansión en los últimos años (Antonini y col., 2010). En el mundo su producción ocupa el segundo lugar después de la soja y el tercer lugar en la producción de aceites (Ali y col., 2003). *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) ("palomita de los coles") es una especie cosmopolita, de hábitos migratorios y constituye la plaga más importante de esta

Brassicaceae (Pastrana, 2004; Sarfraz y col., 2006). La "palomita de las coles" posee una alta capacidad reproductiva, produce daños en las hojas, los brotes tiernos, las yemas, las flores y las vainas, y de no mediar medidas de control las pérdidas pueden llegar al 100 % de la producción (Montero y col., 2007; Goudar y Alagawadi, 2012).

El control de *P. xylostella* se realiza comúnmente con insecticidas sintéticos cuya elección depende del poder

Palabras clave: *Plutella xylostella* - acción insecticida - *Brassica napus* - aceites esenciales.

Key words: *Plutella xylostella* - insecticidal activity - *Brassica napus* - essential oils.

residual, del costo de aplicación y del periodo de carencia (Syed y col., 2004). Esta práctica recurrente trae aparejada la aparición de efectos adversos como el desarrollo de resistencia a los diferentes grupos de insecticidas, la eliminación de la entomofauna benéfica y la contaminación de suelos y aguas (Gupta y Dikshit, 2010; Chandler y col., 2011).

El diseño de formulaciones novedosas con sustancias de origen vegetal es una alternativa de control para reemplazar los insecticidas sintéticos convencionales (Isman, 2006). Las sustancias presentes en los aceites esenciales pueden producir repelencia, toxicidad, inhibir la alimentación, el crecimiento, provocar esterilidad y disminuir la oviposición de los insectos plaga (Koul y col., 2008; Tripathi y col., 2009; Ayvaz, y col., 2010).

Aloysia polystachya Griseb. & Moldenke y *A. citriodora* Palau son Verbenáceas, ampliamente distribuidas en la Argentina, Bolivia y Paraguay, que poseen importantes propiedades farmacológicas como digestiva, carminativa, tónica y sedante, acaricidas e insecticidas (Lamaison y Patitjean, 1993).

Tagetes terniflora Kunth (Compositae) es una especie nativa del noroeste argentino y es utilizada como ornamental, como colorante natural en comidas y posee actividad bactericida (Zygadlo y col., 1993; Tereschuk, 2003).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la mortalidad de las larvas de *P. xylostella* por exposición a los aceites esenciales de *A. citriodora*, *A. polystachya* y *T. terniflora*.

Materiales y Métodos

Obtención de los aceites esenciales

Los aceites esenciales de *A. citriodora*, de *A. polystachya* y de

T. terniflora se obtuvieron mediante destilación por arrastre de vapor de agua en un aparato tipo Clevenger durante 4 horas.

Insectos

Se utilizaron larvas de *P. xylostella* provenientes de una colonia susceptible criada en el laboratorio de Zoología Agrícola del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. La colonia fue establecida a partir de adultos colectados en el campo sobre plantas de *Brassica napus*. Los ejemplares adultos fueron mantenidos en jaulas de cría con hojas de *Brassica olearacea* var. *capitata* para la oviposición y alimentados con una solución de agua y miel de abejas (1:1 vol/vol) (Murúa y col., 2003). Luego de la oviposición, las hojas de repollo se colocaron en cajas de Petri con papel de filtro y algodón humedecido hasta la emergencia de las larvas. Las larvas fueron transferidas a recipientes de 500 ml cerrados con malla de tela fina en la parte superior y se las alimentó diariamente con hojas de repollo. La cría fue mantenida en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24 ± 1 °C y 65 ± 10 % HR) y un fotoperíodo 12:12 (L:O) durante varias generaciones.

Bioensayos

Cuadrados de papel de filtro (Whatman N° 1) de 1 x 1 cm se impregnaron con 10 µl de las diluciones de los aceites esenciales en hexano. Las concentraciones utilizadas fueron del 2,5; 5,0 y 10,0 % p/v. Como control se utilizaron papeles de filtro tratados con solvente solo. Luego de la evaporación del solvente, los papeles de filtro se colgaron mediante un gancho de la tapa de frascos de vidrio de 130 ml (9 cm de alto y 4,5 cm de diámetro). Seis larvas del último estadio se colocaron dentro de los

Tabla 1.- Mortalidad (%) por exposición a diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *A. citriodora*, *A. polystachya* y de *T. terniflora* en larvas de *P. xylostella*

Aceites esenciales	Concentración (% p/v)	Porcentaje de Mortalidad (\pm E.S.)
<i>Aloysia citriodora</i>	10,0	44,44 \pm 11,11 ^a
	5,0	38,88 \pm 5,55 ^a
	2,5	38,88 \pm 14,69 ^a
	0	5,55 \pm 5,55 ^a
<i>Aloysia polystachya</i>	10,0	77,77 \pm 5,55 ^b
	5,0	66,66 \pm 9,62 ^b
	2,5	66,66 \pm 9,62 ^b
	0	5,55 \pm 5,55 ^a
<i>Tagetes terniflora</i>	10,0	44,44 \pm 5,55 ^c
	5,0	27,77 \pm 5,55 ^{bc}
	2,5	22,22 \pm 5,55 ^{ab}
	0	5,55 \pm 5,55 ^a

Valores seguidos por la misma letra para cada aceite esencial no difieren significativamente (DMS, $p > 0,05$).

frascos de vidrio mencionados anteriormente. Se realizaron cuatro réplicas por concentración. A las 72 horas se registró el número de insectos muertos y se calculó el porcentaje de mortalidad.

Los datos se analizaron mediante la prueba de la varianza ANOVA y el test de diferencias mínimas significativas (DMS, $p \geq 0,05$) (Infostat, 2018).

Resultados

Al evaluar la mortalidad de los aceites esenciales no se hallaron diferencias significativas entre el aceite de *A. citriodora* y el control a todas las concentraciones evaluadas ($p > 0,05$) (Tabla 1). El aceite de *T. terniflora* solo produjo un porcentaje de mortalidad estadísticamente diferente del control a la máxima concentración empleada ($p < 0,05$). Por otra parte, se hallaron diferencias significativas entre la mortalidad producida por el aceite esencial de *A. polystachya* y el control ($p < 0,05$) a todas las concentraciones evaluadas (Tabla 1).

Al comparar el porcentaje de mortalidad producido entre todos los aceites evaluados se observó que el aceite esencial de *A. polystachya* fue el más efectivo ($p < 0,05$). Este aceite generó un porcentaje de mortalidad entre el 66 % al 77 % a todas las concentraciones evaluadas (Figura 1).

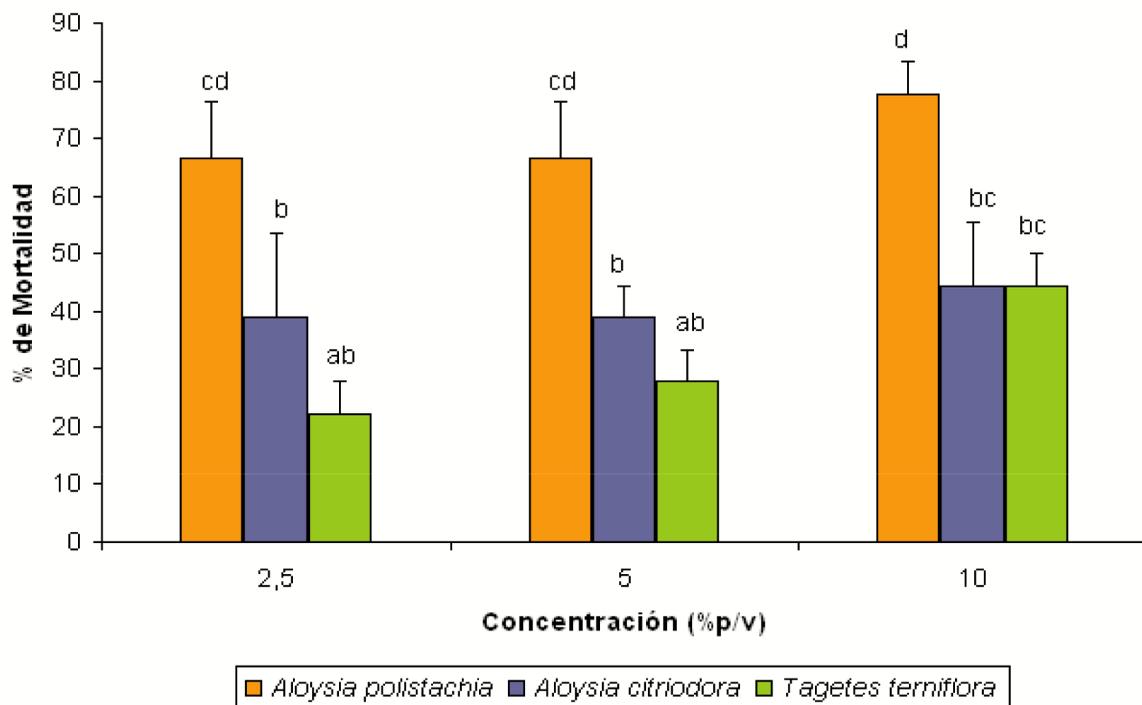
Discusión y Conclusión

Es sabido que *P. xylostella* posee una alta tendencia al desarrollo de resistencia a los insecticidas debido a su alta capacidad reproductiva y a la aplicación indiscriminada de estos compuestos. Es así que, el uso de sustancias con menor impacto ambiental y sobre la salud humana sería una alternativa importante para el control de la plaga.

El aceite esencial de *A. polystachya* produjo mortalidad en larvas de *P. xylostella*. Esto indicaría que la penetración de las sustancias presentes en el aceite esencial sería a través del sistema respiratorio (Choi y col., 2003; Sugiura y col., 2008). Un efecto similar ha sido demostrado por varios autores evaluando los aceites esenciales de *Artemisia vulgaris* L. (Compositae), *Agathosma betulina* (P.J.Bergius) Pillans (Rutaceae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae), *Myrtus communis* L. (Myrtaceae), *Melaleuca viridiflora* Sol. ex Gaertn. (Myrtaceae), *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), *Aniba rosaeodora* Ducke (Lauraceae) y *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) en larvas de *P. xylostella* (Chang-Geun y col., 2007). El aceite esencial de *A. polystachya* resultó más efectivo que el resto de los aceites evaluados en este trabajo. Esto podría estar relacionado con la estructura y concentración de los metabolitos secundarios presentes en este aceite (Hold y col., 2001; Kembro y col., 2009).

El aceite esencial de *A. polystachya* generó mortalidad en larvas de *P. xylostella* por lo que futuros estudios llevarían a un posible uso agronómico de este compuesto.

Figura 1.- Mortalidad (%) de larvas de *P. xylostella* expuestas a los aceites esenciales de *A. citriodora*, *A. polystachya* y de *T. terniflora*



Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS, $p > 0,05$)

Referencias bibliográficas

- Ali, N.; Javidfar, F.; Elmira, J.Y.; Mirza, M.Y. (2003) "Relationship among yield components and selection criteria for yield improvement in winter rapeseed (*Brassica napus* L.)". *Pakistan Journal of Botany* 35 (2): 167-174.
- Antonini, C.; Mirábile, C.; Arenas, F.; Noreikat, S.; Barros, A.; Monteleone, J. (2010) "Colza, bajo riego rendimientos bajo distintos regimenes de riego en periodos no críticos". *Facultad de Ciencias Agrarias*. Centro Regional Andino-I.N.A. 11.
- Ayvaz, A.; Sagdic, O.; Karaborklu, S.; Ozturk, I. (2010) "Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects". *Journal of Insect Science* 10: 21.
- Chandler, D.; Bailey, A.S.; Tatchell, G.M.; Davidson, G.; Greaves, J.; Grant, W.P. (2011) "The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management". *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 366 (1573): 1987-1998.
- Chang-Geun, Y.; Min, K.; Tran Trung, H.; Young-Su, J.; Young-Joon, A. (2007) "Fumigant Toxicity of Plant Essential Oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae)". *Journal of Asia-Pacific Entomology* 10 (2): 157-163.
- Choi, W.I.; Lee, E.H.; Choi, B.R.; Park, H.M.; Ahn, Y.J. (2003) "Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae)". *Journal of Economic Entomology* 96: 1479-1484.
- Goudar, G.; Alagawadi, A.R. (2012) "Bioefficacy of *Bacillus thuringiensis* isolates crude protein against *Plutella xylostella* L.". *Journal of Biopesticide* 5 (2): 208-213
- Gupta, S.; Dikshit, A.K. (2010). "Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control". *Journal of Biopesticides* 3 (1): 186-188.
- Hold, K.M.; Sirisoma, N.S.; Casida, J.E. (2001) "Detoxification of alfa and beta-Thujones (the active ingredients of absinthe): Site specificity and species differences in cytochrome P450 oxidation in vitro and in vivo". *Chemical Research in Toxicology* 14: 589-595.
- Hummelbrunner, L.A.; Isman, M.B. (2001) "Acute, Sublethal, Antifeedant, and Synergistic Effects of Monoterpenoid Essential Oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 715-720
- Isman, M.B. (2006) "Botanical insecticide deterrents and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world". *Annual Reviews of Entomology* 51: 45-66.
- Kembro, J.M.; Marin, R.H.; Zygadlo, J.A.; Gleiser, R.M. (2009). "Effects of the essential oils of *Lippia turbinata* and *Lippia polytachya* (Verbenaceae) on the temporal pattern of locomotion of the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) larvae". *Parasitology research* 104 (5): 1119-1127.
- Koul, O.; Walla, S.; Dhaliwal, G.S. (2008) "Essential oils as green pesticides: potential and constraints". *Biopesticides International* 4: 63-84.
- Lamaison, J.L.; Petitjean, F.C. (1993) "Verbascoside, major phenolic compound of the leaves of ash (*Fraxinus excelsior*) and vervain (*Aloysia triphylla*)". *Plantes Medicinales et phytotherapie* 26 (3): 225-233.
- Montero, G.A.; Vignaroli, L.; Cavaglia, S.; Lietti, M. (2007) "Colza, algo nuevo en la región". *Agromensajes* 22: 11-12.
- Murúa, M.G.; Virla, E.G.; Defagó, V. (2003) "Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides". *Boletín de la Sanidad Vegetal. Plagas* 29: 43-51.
- Pastrana, J.A. (2004). *Los Lepidópteros Argentinos*. Sociedad Entomológica Argentina Ediciones. San Miguel de Tucumán: 334.
- Sarfraz, M.; Dossall, L.M.; Keddie, B.A. (2006) "Diamondback moth-host plant interactions: implications for pest Management". *Crop Protection* 25 (7): 625-639.
- Sharma, P.R.; Sharma, O.P.; Saxena, B.P. (2008) "Effect of sweet flag rhizome oil (*Acorus calamus*) on hemogram and ultrastructure of hemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)". *Micron* 39 (5): 544-551.
- Sugiura, M.; Horibe, Y.; Kawada, H.; Takagi, M. (2008) "Insect spiracle as the main penetration route of pyrethroids". *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91: 135-140.
- Syed, T.S.; Abro, G.H., Ahmed, S. (2004) "Efficacy of different insecticides against *Plutella xylostella* under field conditions". *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7 (1): 10-13.
- Tereschuk, M.L.; Baigor, M.D.; Abdala, L.R. (2003) "Antibacterial activity of *Tagetes terniflora*". *Fitoterapia* 74: 404-406.
- Tripathi, A.K.; Upadhyay, S.; Bhuiyan, M.; Bhattacharya, P.R. (2009) "A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management". *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1: 52-63.
- Zygadlo, J.A.; Abburra, R.E.; Maestri, D.M.; Guzman, C.A.; Grosso, N.R.; Espinar, L.A. (1993) "Essential oil composition of *Tagetes terniflora* H.B.K. and *Tagetes laxa* Cabrera". *Flavour and Fragrance Journal* 8: 273-275.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 34(Suplemento) 2018

VI Jornadas Nacionales de Plantas aromáticas nativas y sus aceites esenciales
II Jornadas Nacionales de Plantas medicinales nativas Prof. Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dominguezia 34(2) 2018

Las recetas de El Libro de las Medicinas (siríaco) y las que figuran en la literatura farmacéutica árabe: una comparación
Daniel Asade

Morfoanatomía foliar para el reconocimiento de especies de Asteraceae conocidas como “contrayerba” en la herboristería argentina

Victoria A. Díaz Avalos, Fernanda P. Ravachine, Hernán G. Bach, Marcelo L. Wagner, Beatriz G. Varela

Estudio farmacobotánico de *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Convolvulaceae)

María A. Monsalvo, Renée H. Fortunato, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco

Estudio químico de *Baccharis punctulata*

María D. González; Celia M. Luis

Compuestos antifúngicos en *Prosopis ruscifolia*: identificación y análisis de su utilidad en el control de especies toxigénicas de *Aspergillus*

Analia de los Ángeles Gómez, Diego A. Sampietro, Tsvetelina Mandova, Raphael Grougnet, Marina Kritsanida, Marta Vattuone

Perspectiva del uso de aceites esenciales del género *Citrus* para el manejo de isópodos plaga en siembra directa

Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa

Influencia de reguladores de crecimiento sobre el establecimiento de cultivos in vitro de *Salvia hispanica* L. (“chía”) y sobre su contenido de ácidos grasos

Martín Bari, Patricia Marconi, María C. López, María A. Álvarez

Dominguezia 35(1) 2019

Plantas medicinales utilizadas en la salud reproductiva de las mujeres del Perú

Brenda L. Araujo Salas, Gloria E. Vanesa Ramos-Abensur, Mercedes Flores Pimentel

Rizomas y almidón de plantas palustres medicinales y alimenticias de los humedales del Río de la Plata

Marcelo P. Hernández, Ana M. Arambari

Métodos alternativos para disminuir los daños de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en lotes bajo siembra directa

Carolina Sánchez Chopa, Lilian R. Descamps

Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de las especies *Sapium haemospermum* Müll. Arg. y *Baillonia amabilis* Bocq.

Ariadna S. Soro, Gabriela M. Valenzuela, María B. Nuñez

Actividad repelente del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae) y *Mentha x piperita* L. (Lamiaceae) en *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae)

Lilian R. Descamps, Jorge A. J. Bizet Turovsky, Carlos M. Brustle, Carolina Sánchez Chopa

Evaluación de la actividad del aceite esencial de *Geranium maculatum* (Geraniaceae) en el áfido *Brevycorine brassicae* (Hemiptera: Aphididae)

Carolina Sánchez Chopa, Carlos M. Brustle, Jorge A. J. Bizet Turovsky, Lilian R. Descamps