

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) a tres extractos acuosos vegetales, bajo condiciones de laboratorio.

Brayan Steven Rivera López

1007868215

Programa de Ingeniería Agronómica

10 de junio de 2022

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) a tres extractos acuosos vegetales, bajo condiciones de laboratorio.

Trabajo de grado bajo la modalidad de investigación presentado como requisito para optar el título de Ingeniero Agrónomo

Brayan Steven Rivera López

1007868215

Director: I.A. Dr. Entomología, Humberto Giraldo Vanegas

Programa de Ingeniería Agronómica

10 de junio de 2022

Agradecimientos

Agradecer primeramente a Dios por darme salud y vida, por brindarme la oportunidad de estudiar y poder concluir con mi carrera universitaria.

Agradecer el esfuerzo de mi padre Marco Antonio Rivera Miranda y de mi madre Yaqueline López Jaimes al estar pendientes de todos mis asuntos, apoyarme en mi caminar y ser el motivo que me inspiraba a terminar mis estudios, a mi hermano Erick David Rivera López que fue una gran ayuda en mi estadía aquí y un gran apoyo emocional, darle gracias a las personas que hicieron parte de mi día a día, que me brindaron su amistad y en muchos casos fueron una ayuda en mis momentos más críticos.

Darles las gracias a mis docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, que a lo largo de estos años me brindaron un conocimiento que se ve reflejado en mi formación académica.

A mi tutor de tesis, I.A. Dr. Humberto Giraldo Vanegas por ser partícipe de la realización de este proyecto y por creer en mis capacidades.

Brayan Steven Rivera López

Tabla de contenido

Glosario	15
1. Introducción.....	16
2. Problema y descripción	17
3. Justificación.....	17
4. Delimitación	18
5. Objetivos.....	19
5.1. Objetivo General.....	19
5.2. Objetivos específicos	19
6. Marco de referencia.....	19
6.1. Antecedentes regionales	19
6.2. Antecedentes nacionales	22
6.3. Antecedentes internacionales.....	24
7. Marco contextual	25
8. Marco teórico.....	26
8.1. <i>Plutella xylostella</i> (L.)	26
8.1.1. Origen y distribución	26
8.1.2. Descripción morfológica	27
8.1.3. Clasificación taxonómica	27
8.1.4. Ciclo de vida.....	27
8.2. <i>Lantana fucata</i> Lindl	29
8.2.1. Origen y distribución	29
8.2.2. Generalidades y morfología.....	29
8.2.3. Clasificación Taxonómica y descripción botánica	30
8.3. <i>Conium maculatum</i> L.....	31

8.3.1.	Origen y distribución	31
8.3.2.	Generalidades y morfología.....	31
8.3.3.	Clasificación Taxonómica y descripción botánica	32
8.4.	<i>Rumex crispus</i> L.....	33
8.4.1.	Origen y distribución	33
8.4.2.	Generalidades y morfología.....	33
8.4.3.	Clasificación Taxonómica y descripción botánica	34
9.	Marco legal.....	34
9.1.	Acuerdo No. 186.....	34
9.2.	Resoluciones del Instituto Colombiano Agropecuario	35
9.2.1.	Ley 9 de 1979: de las sustancias peligrosas -plaguicidas- artículos pirotécnicos.....	35
9.2.2.	Ministerio de salud decreto 775 del 16 de abril de 1990.....	36
10.	Metodología.....	37
10.1.	Tipo de Investigación	37
10.2.	Diseño Metodológico	37
10.2.1.	Hipótesis	37
10.2.2.	Sistema de Variables.....	37
10.2.3.	Diseño de la investigación.	37
10.2.4.	Diseño Experimental.....	38
10.2.5.	Colecta y Cría masiva de <i>P. xylostella</i>	39
10.2.6.	Técnica de Cría de <i>P. xylostella</i>	40
10.2.7.	Descripción de las Actividades.....	42
11.	Resultados y Discusión.....	47
11.1.	Mortalidad de larvas de <i>Plutella xylostella</i> (L.).....	47

11.2.	Concentración Letal Media (CL ₅₀).....	53
11.2.1.	Determinación de la CL ₅₀	55
11.3.	Determinación del Tiempo Letal Medio (TL ₅₀).....	58
12.	Conclusiones.....	62
13.	Recomendaciones.....	63
14.	Referencias bibliográficas	64

Lista de tablas

Tabla 1. Taxonomía <i>Plutella xylostella</i> (L.).....	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 2. Taxonomía <i>Lantana fucata</i> Lindl.....	30
Tabla 3. Taxonomía <i>Conium maculatum</i> L.....	32
Tabla 4. Taxonomía <i>Rumex crispus</i> L.	34
Tabla 5. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> , en las diferentes concentraciones (concentración) con los extractos acuosos de cicuta (<i>Conium maculatum</i>), bajo condiciones <i>in vitro</i>	48
Tabla 6. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> , en los diferentes tratamientos (concentración) de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>), bajo condiciones <i>in vitro</i>	50
Tabla 7. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> , en los diferentes tratamientos (concentración) de extractos acuosos de hojas de cariaquito (<i>Lantana fucata</i>), bajo condiciones <i>in vitro</i>	52
Tabla 8. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones (concentración) transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cicuta (<i>Conium maculatum</i>). ..	54
Tabla 9. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones (concentración) transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>).	54
Tabla 10. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cariaquito (<i>Lantana fucata</i>).....	55
Tabla 11. Concentración letales (CL ₅₀) de los tres extractos acuosos de cicuta, lengua de vaca y cariaquito para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , en condiciones de laboratorio.	56
Tabla 12. Tiempo Letal Medio (TL ₅₀), en larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , sometidas a cuatro concentraciones de cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cicuta, en condiciones <i>in vitro</i>	59
Tabla 13. Tiempo Letal Medio (TL ₅₀), en larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , sometidas a cuatro concentraciones de cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca, en condiciones <i>in vitro</i>	59

Tabla 14. Tiempo Letal Medio (TL ₅₀), en larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cariaquito, en condiciones <i>in vitro</i>	60
--	----

Lista de figuras

Figura 1.	Laboratorio de Sanidad Vegetal	26
Figura 2.	Ciclo biológico en días de la palomilla dorso de diamante	28
Figura 3.	Cariaquito (<i>Lantana fucata</i> Lindl).....	29
Figura 4.	Cicuta (<i>Conium maculatum</i> L.).....	31
Figura 5.	Lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i> L.).....	33
Figura 6.	Colecta de adultos de <i>P. xylostella</i> en campo	39
Figura 7.	Colecta de larvas de <i>P. xylostella</i>	40
Figura 8.	Pie de cría adultos de <i>P. xylostella</i>	¡Error! Marcador no definido.
Figura 9.	Adulto de <i>P. xylostella</i> alimentándose	41
Figura 10.	Cajas plásticas rotuladas para tratamiento.....	44
Figura 11.	Discos de repollo en cajas plásticas para tratamiento.....	44
Figura 12.	Larvas de <i>P. xylostella</i> observadas en tratamiento.....	45
Figura 13.	Larva de <i>P. xylostella</i> muerta en tratamiento	46
Figura 14.	Respuesta en las mortalidades de larvas de <i>P. xylostella</i> , sometidas a los diferentes tratamientos (concentración) con extractos acuosos de hojas de cicuta (<i>Conium maculatum</i>), bajo condiciones <i>in vitro</i>	49
Figura 15.	Respuesta en las mortalidades de larvas de <i>P. xylostella</i> , sometidas a los diferentes tratamientos (concentración) de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i>), bajo condiciones <i>in vitro</i>	51
Figura 16.	Respuesta en las mortalidades de larvas de <i>P. xylostella</i> , sometidas a las cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cariaquito (<i>Lantana fucata</i>) y mortalidad causada a larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i>	53

Figura 17. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de cicuta.	57
Figura 18. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de lengua de vaca.	57
Figura 19. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de cariaquito.....	58
Figura 20. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de cicuta, bajo condiciones <i>in vitro</i>	61
Figura 21. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca, bajo condiciones <i>in vitro</i>	62
Figura 22. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de cariaquito, bajo condiciones <i>in vitro</i>	62

Lista de anexos

Anexo 1.	Instrumento (planilla) para la toma de datos de Mortalidad de larvas, en laboratorio.....	68
Anexo 2.	Anova de Mortalidad de los tres extractos acuosos.....	69
Anexo 3.	Prueba de Tukey para mortalidad causada por las cinco concentraciones de extractos de cicuta.	70
Anexo 4.	Prueba de Tukey para mortalidad causada por las cinco concentraciones de extractos de lengua de vaca.	70
Anexo 5.	Prueba de Tukey para mortalidad causada por las cinco concentraciones de extractos de cariaquito.....	71
Anexo 6.	Análisis de Regresión entre Concentración (mg/l) transformado a log ₁₀ y Mortalidad (%) transformada a Probit, de extractos acuosos de hojas de cicuta.	71
Anexo 7.	Análisis de Regresión entre Concentración (mg/l) transformado a log ₁₀ y Mortalidad (%) transformada a Probit, de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca.	72
Anexo 8.	Análisis de Regresión entre Concentración (mg/l) transformado a log ₁₀ y Mortalidad (%) transformada a Probit, de extractos acuosos de hojas de cariaquito.....	72
Anexo 9.	Cultivo de repollo del Colegio La Normal Superior de Pamplona	73
Anexo 10.	Botellas plásticas donde se tenía la cría de adultos de <i>P. xylostella</i>	73
Anexo 11.	Frascos donde se tenían los huevos de manera rotulada con fecha	74
Anexo 12.	Limpieza y desinfección de cajas plásticas para tratamientos.....	75
Anexo 13.	Pesaje de hojas de cicuta	75
Anexo 14.	Discos de repollo recubiertos con las distintas concentraciones.	76
Anexo 15.	Botellas plásticas con las concentraciones para tratamiento	77
Anexo 16.	Concentración filtradas para ser aplicadas	77
Anexo 17.	Macerando hojas para tratamiento en un mortero	78
Anexo 18.	Secado de hojas para cada concentración.....	78

Anexo 19.	Pupas de <i>P. xylostella</i>	79
Anexo 20.	Huevos de <i>P. xylostella</i> a vista en estereoscopio	79
Anexo 21.	Tomando la cantidad requerida del producto MIXEL TOP para tratamiento	80
Anexo 22.	Adulto de <i>P. xylostella</i> muerto resultante de tratamiento de cicuta	80
Anexo 23.	Pupas de <i>P. xylostella</i> pertenecientes a tratamiento de cariaquito	81
Anexo 24.	Pupa de <i>P. xylostella</i> vista en estereoscopio.....	81
Anexo 25.	Modelo diseño para tratamiento	82

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar la toxicidad de tres extractos vegetales sobre larvas de segundo instar de *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio. Para los tratamientos se utilizaron los extractos de hojas a concentraciones de 100% (100.000mg/l), 75% (75.000mg/l), 50% (50.000mg/l) y 25% (25.000mg/l) y un testigo el cual no tenía ningún tipo de concentración. Se tomaron las hojas de plantas de cicuta, lengua de vaca y cariaquito. Diseño experimental completamente al azar, para los tres extractos; cada uno con cinco concentraciones y cada concentración con 5 repeticiones y cada repetición con cinco larvas de *P. xylostella*. Para obtener la mortalidad de las larvas o la emergencia de adultos de la polilla, iniciándose las observaciones cada 12 horas durante el transcurso de 12 días. Los datos, analizados por medio del Software SPSS y pruebas Tukey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Para calcular la CL_{50} , las concentraciones se transformaron a \log_{10} y las mortalidades a Probit, y con las mortalidades acumuladas, la hora de muerte se encontró el TL_{50} , mediante Análisis de Regresión. Se obtuvo que la concentración de 100.000mg/l de extractos acuosos de hojas de cicuta causó la muerte del 100% de larvas con diferencias significativas; la concentración 100.000mg/l de extractos de lengua de vaca con 84% de mortalidad; mientras que la concentración de 100.000mg/l de extractos de hojas de cariaquito provocó el 76% de mortalidad con diferencias significativas con las otras concentraciones. Las CL_{50} determinadas fueron para cicuta 28.183mg/l, para lengua de vaca 7.585mg/l y 20.892mg/l para los extractos acuosos de cariaquito, para matar al 50% de la población de larvas del bioensayo. Los TL_{50} para los extractos de cicuta en su concentración de 100.000mg/l fue de 98 horas, para los extractos de lengua de vaca fue de 73 horas y los extractos de cariaquito causaron la muerte del 50% de las larvas a las 305 horas.

Palabras clave: *Plutella xylostella*, *Conium maculatum*, *Rumex crispus*, *Lantana fucata*, metabolitos secundarios.

Abstract

The objective of this research was to evaluate the toxicity of three plant extracts on second instar larvae of *Plutella xylostella* (L.), under laboratory conditions. For the treatments, leaf extracts were used at concentrations of 100% (100,000mg/l), 75% (75,000mg/l), 50% (50,000mg/l) and 25% (25,000mg/l) and a control which had no concentration. Leaves were taken from hemlock, cow's tongue and cariaquito plants. The experimental design was completely randomized, for the three extracts; each one with five concentrations and each concentration with five replicates and each replicate with five *P. xylostella* larvae. To obtain the mortality of larvae or the emergence of moth adults, observations were made every 12 hours during the course of 12 days. The data were analyzed using SPSS software and Tukey tests to determine significant differences between treatments. To calculate the LC₅₀, the concentrations were transformed to log₁₀ and the mortalities to Probit, and with the accumulated mortalities, the TL₅₀ was found by Regression Analysis. It was obtained that the concentration of 100,000mg/l of aqueous extracts of hemlock leaves caused the death of 100% of larvae with significant differences; the concentration of 100,000mg/l of cow tongue extracts caused 84% mortality; while the concentration of 100,000mg/l of cariaquito leaf extracts caused 76% mortality with significant differences with the other concentrations. The LC₅₀ determined were for hemlock 28,183mg/l, for cow tongue 7,585mg/l and 20,892mg/l for the aqueous cariaquito extracts, to kill 50% of the larval population of the bioassay. The TL₅₀ for hemlock extracts at its concentration of 100,000mg/l was 98 hours, for cow tongue extracts it was 73 hours and cariaquito extracts caused the death of 50% of the larvae at 305 hours.

Key words: *Plutella xylostella*, *Conium maculatum*, *Rumex crispus*, *Lantana fucata*, secondary metabolites.

Glosario

Agente de Control Biológico: son microorganismos y entomófagos que interactúan con otros organismos causando la regulación de sus poblaciones en sistemas naturales y artificiales.

Agroquímico: es una sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar plagas y patógenos; o ser utilizadas como regulador de plantas o defoliante.

Control fitoquímico: las sustancias fitoquímicas son compuestos orgánicos constituyentes de alimentos de origen vegetal, que no son nutrientes y representan un tipo de control a plagas debido a sus características, por lo cual sirven como antivirales, antimicrobianos, repelentes, inhibidores de germinación de semillas, entre otros.

CL₅₀: concentración letal media, es la cantidad de la concentración de una sustancia, radiación o patógeno necesaria para matar a la mitad de un conjunto de animales de prueba después de un tiempo determinado

Extractos Acuoso Vegetales: productos extraídos directamente de los frutos, hojas, semillas o raíces de una planta, los cuales contienen componentes que pueden ser empleados por lo general como fuente de insecticidas o en la medicina natural.

Manejo Integrado de Plagas: estrategia que usa una gran variedad de métodos complementarios: físicos, mecánicos, químicos, biológicos, genéticos, legales y culturales para el control de plagas

***Plutella xylostella*:** es una especie de insecto lepidóptero de la familia Plutellidae, cosmopolita y multivoltina con una distribución global

Susceptibilidad: es una condición de un organismo que aumenta la probabilidad de que el individuo desarrolle una enfermedad en particular. La susceptibilidad está influenciada por una combinación de factores genéticos y ambientales.

TL₅₀: es el valor medio del intervalo de tiempo, durante el cual se espera que muera el 50% de una población dada, durante la exposición a esta misma.

Toxicidad: describe el grado en el cual una sustancia es venenosa o puede causar una lesión. La toxicidad depende de diferentes factores: concentración, duración y ruta de exposición.

Rumex crispus: es conocida popularmente como “lengua de vaca”, es una planta nativa con escasos registros de uso medicinal e investigaciones farmacológicas, razón por la cual es el interés.

1. Introducción

La principal plaga de las hortalizas en cultivos de crucíferas en el mundo es la polilla dorso de diamante *Plutella xylostella* (L.), es un insecto lepidóptero de la familia Plutellidae, causante de daños económicos en cultivos de la familia Brassicaceae. Es una plaga muy difícil de controlar debido a que su ciclo biológico es muy corto, además de la aplicación indebida de productos químicos, lo cual ha generado una resistencia a numerosos plaguicidas (Curis et al., 2019).

Según un estudio realizado por Celis (2009) los extractos de origen vegetal se caracterizan por la presencia de metabolitos secundarios, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas, pueden ser agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. El uso de extractos vegetales para control de plagas, enfermedades y arvenses constituye una alternativa prometedora en el entorno de una agricultura sostenible. Dichos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son anti-alimentarios, antivirales, antimicrobianos, repelentes, inhibidores de germinación de semillas, entre otras.

En los últimos años, se han intensificado los estudios de productos de origen vegetal en su parte química, con énfasis en los metabolitos secundarios, los cuales están ligados en el control biológico contra patógenos o plagas, activando procesos de defensa en la planta y brindando una protección preventiva, lo cual permite brindar una protección a los cultivos e incrementar así la calidad y su producción alimentaria (Celis et al., 2009).

Los extractos de origen vegetal se pueden obtener de distintas formas, dos de ellas son a partir del uso de agua (acuosa) y la otra a través del uso de un alcohol, comúnmente metanol o etanol. El primer método permite la extracción de metabolitos solubles en agua y puede ser utilizado con facilidad por los agricultores con un mínimo de requerimiento tecnológico. El

segundo usa el alcohol como solvente de los metabolitos y necesita un equipo de separación de éste antes de poder utilizar el extracto (Rodríguez, 2006).

El objetivo del presente trabajo es encontrar alternativas menos contaminantes en los cultivos de crucíferas principalmente, ya que la polilla dorso de diamante es una plaga primaria y se probara una estrategia de Manejo Integrado de plagas para el control de *P. xylostella*.

2. Problema y descripción

Plutella xylostella (L.), es una de las principales plagas que afecta los cultivos de crucíferas, causando limitaciones en la calidad y rendimiento. Este insecto plaga, se reconoce por poseer una gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones climáticas, además que posee una alta variabilidad genética que unida al corto período generacional le permite obtener de manera rápida cierta resistencia a diferentes insecticidas que se distribuyen comercialmente (Mena & Hernández, 2017).

El uso de los metabolitos secundarios de insecticidas vegetales, representan una gran ventaja al ser compatible con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos como feromonas, aceites, hongos entomopatógenos, parasitoides y depredadores, el rango de su efecto protector va desde repelencia, disuasión de la alimentación y oviposición, hasta toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y desarrollo de los insectos, esto representa un tipo de control fitoquímico para contrarrestar las poblaciones de *P. xylostella*, lo que favorece enormemente su integración a un programa de manejo integrado de plagas (Celis et al., 2009).

3. Justificación

En el Manejo Integrado de Plagas (MIP), el control fitoquímico forma parte fundamental, el cual se caracteriza por utilizar los metabolitos secundarios contenidos en los extractos acuosos de plantas con propiedades insecticidas, para el manejo de plagas en los cultivos agrícolas; *P. xylostella* es una grave amenaza en los cultivos de crucíferas, por lo que se busca incrementar nuevas estrategias amigables con el medio ambiente y la salud humana (Mena & Hernández, 2017).

Según diferentes estudios en la actualidad para el control la *P. xylostella* en el sector de las hortalizas, se utilizan insecticidas de síntesis química los cuales tienen acción inmediata,

pero el mal uso de ellos conlleva a efectos adversos en la salud, el ambiente y la destrucción de la fauna benéfica, resaltando que, la ausencia de enemigos naturales capaces de controlar estas poblaciones y la resistencia a numerosos insecticidas convencionales, provocan que este insecto se establezca rápidamente en áreas productoras de brasicáceas (Arregui, 2010).

Debido a lo anterior, esta investigación tuvo la finalidad de evaluar el efecto que tiene la aplicación de extractos acuosos vegetales para el control de *P. xylostella*, reconocida por atacar los cultivos de las Brassicaceae, como control de esta población, en su mayoría se hace con productos químicos. De igual forma provoca cierta resistencia al insecto a estos productos en poco tiempo, cabe mencionar que altera el entorno, ya que afecta directamente a la población de polinizadores y controladores naturales, por ende, se proponen nuevas prácticas innovadoras que no solo controlen la plaga, sino que también puedan ser amigables con el medio ambiente.

Se utilizaron extractos vegetales extraídos de plantas, las cuales se localizan en las zonas rurales y urbanas del municipio de Pamplona. Esto con la finalidad de facilitar el empleo de estas especies como insecticidas naturales, ya que será más sencillo de recolectar para futuras investigaciones y también para los agricultores que quieran hacer uso de ellas, conociendo los resultados de esta investigación, ellos podrán hacer uso estos extractos como un nuevo método de control para esta plaga.

4. Delimitación

La investigación se realizó en el municipio de Pamplona, Norte de Santander en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del Programa de Ingeniería Agronómica (Facultad de Ciencias Agrarias) el cual se encuentra dentro de las instalaciones de la Universidad de Pamplona. Para llevar a cabo dicha investigación se recolectaron muestras en campo de *Plutella xylostella* (L.) en el colegio La Normal (Pamplona). Para la obtención de las larvas, se montó una cría masiva establecida en el Laboratorio de Sanidad Vegetal; mientras que los extractos vegetales se obtuvieron de plantas de cicuta *Conium maculatum* L., cariaquito *Lantana fucata* Lindl y lengua de vaca *Rumex crispus* L., colectadas en las áreas rurales del municipio de Pamplona.

Una vez obtenidos los resultados finales, se evaluó la mortalidad total de las larvas o la emergencia de los adultos *P. xylostella*, con el fin de comprobar la efectividad del uso de estos extractos acuosos vegetales.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Evaluar tres extractos acuosos vegetales sobre la mortalidad de *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio.

5.2. Objetivos específicos

Observar el efecto causado por tres extractos acuosos vegetales sobre la mortalidad de las larvas *P. xylostella* en condiciones de laboratorio.

Determinar la concentración letal media (CL₅₀) y tiempo letal medio (TL₅₀) de tres extractos acuosos vegetales sobre larvas *P. xylostella* bajo condiciones de laboratorio.

6. Marco de referencia

6.1. Antecedentes regionales

- Jhonatan Gualdrón-Panqueva, Deisy Viviana Toloza-Balcucho y Humberto Giraldo-Vanegas (2017). Evaluación de extractos de Neem *Azadirachta indica* A. Juss, como repelente e insecticida contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), en la variedad Castillo en la Granja Experimental Villa Marina de la Universidad de Pamplona.

Resumen: se evaluó la mortalidad y el efecto repelente causado por extractos de hojas y semillas neem *Azadirachta indica* A. Juss, contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en la variedad Castillo Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con siete tratamientos: Semillas 33%, Semillas 66%, Semillas 100%, Hojas 33%, Hojas 66%, Hojas 100% y Control y cuatro repeticiones. Los extractos se prepararon a partir de una solución madre compuesta por 2 kg de semillas maceradas en 20 L de agua y una solución madre compuesta por 2 kg de hojas maceradas en 20 L de agua. A partir de estas soluciones madre se prepararon las disoluciones al 33% y 66% de hojas y semillas. Las unidades experimentales consistieron en ramas productivas con granos entre dieciséis y veinte semanas de

desarrollo. Tratada cada unidad experimental y colocada una manga entomológica, fue infestada con diez hembras de broca. Se evaluaron durante quince días los granos brocados y mortalidad. Para el análisis de los datos, se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), se empleó una prueba de Tukey para la comparación de medias, cuando este resultaba significativo, Se determinó que los tratamientos Semilla 66%, Semilla 100% y Semilla 33% solo permiten 11,15%, 12,50% y 14,50% de granos brocados respectivamente, mientras que el Control presenta el 55% de granos brocados. Los tratamientos Semilla 66%, Hoja 33% y Semilla 100% causaron los más altos porcentajes de mortalidad con 49%, 44,5% y 41,50%, mientras que el Control presentó solamente 9% de mortalidad. Se encontró efecto negativo de los extractos de hojas y semillas de neem en la tasa reproductiva de *H. hampei*. Se concluyó que los tratamientos a base de extractos acuosos de semillas de Neem presentaron los mejores resultados. El uso de bioplaguicidas en el agroecosistema del cultivo del café es viable, pudiendo ser una alternativa nueva para aplicar en el Manejo Integrado de la Broca del Café. A partir del primer día, después de la aplicación de los tratamientos se observaron los efectos inmediatos en mortalidad y repelencia, esto debido principalmente al alto contenido de azadirachtina que actúa como repelente y fagodisuasivo.

- Mondragón-Sánchez, Y. D.; Triana-Marroquín, B. S. y Giraldo-Vanegas, H. (2020). Determinación de la mortalidad, la CL₅₀ y el TL₅₀ de extractos acuosos de hojas y semillas de *Azadirachta indica* A. Juss, sobre *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander.

Resumen: evaluaron los efectos de extractos acuosos de Neem *Azadirachta indica* A. Juss, para el control de *Plutella xylostella* (L.), en condiciones de laboratorio. El diseño experimental consistió en siete tratamientos: Semillas 33%, Semillas 66%, Semillas 100%, Hojas 33%, Hojas 66%, Hojas 100% y un Control, cada una con 5 repeticiones y 5 larvas en cada repetición. Los extractos se prepararon a partir de una solución madre compuesta por 100gramos de semillas maceradas en 1 litro de agua y una solución madre compuesta por 100 gramos de hojas maceradas en 1 litro de agua. A partir de estas soluciones madre se prepararon las disoluciones al 33% y 66% de hojas y semillas. De

igual forma se realizó el proceso de recolección de adultos, sexaje y crianza de las larvas de la plaga problema, los extractos fueron aplicados en discos de hojas de repollo de 3cm de diámetro, cuando las larvas se encontraron en el estado larval II, debido aquí estas son más susceptibles al control(L2.). Se realizaron revisiones periódicas cada 6 horas durante 4 días, partiendo del montaje total del ensayo, en donde se evaluó el porcentaje de mortalidad y el tiempo correspondiente. Se determinó que el tratamiento con extracto de semilla 100%, 66% y 33% obtuvieron el 96%, 84% y 68% de mortalidad de las larvas, en comparación al tratamiento con extracto de hoja 100%, 66% y 33%, en donde se obtuvieron el 84%, 64% y 36% respectivamente en cuanto a la mortalidad en comparación con el control que fue del 0%. En cuanto al CL₅₀, en el caso de los tratamientos con extracto de semilla fue de 37.000 mg/L y de los tratamientos con extracto de hoja fue de 57.250 mg/L.; por otra parte en cuanto al TL₅₀ el cual es el valor medio del intervalo de tiempo, durante el cual se espera que muera el 50% de una población dada, se determinó que la concentración de 100% de extractos de semillas mata el 50% de la población a las 22 horas, la concentración 66% lo hace a las 36 horas y la concentración 33% mata la mitad de la población a las 57 horas, en el caso de los extractos de hoja, se determinó la concentración 100% mata el 50% de la población a las 39 horas, la concentración 66% lo hace a las 55 horas y la concentración 33% mata la mitad de la población a las 114 horas. Lo anterior indica que la aplicación de una solución de semilla al 100% es más efectiva para el control de la plaga problema en condiciones de laboratorio debido al alto contenido de terpenoides.

- Silva-Lizarazo, J. S. y Giraldo-Vanegas, H. (2018). Ciclo biológico de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) y sus Enemigos Naturales en el Centro de Investigación en Sanidad Vegetal y Bioinsumos (CISVEB), Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander.

Resumen: realizaron la biología de *Plutella xylostella* (L.), conocida como la polilla dorso diamante o polilla del repollo, en el Centro de Investigación en Sanidad Vegetal y Bioinsumos (CISVEB) y Laboratorio de Sanidad Vegetal, de la Universidad de Pamplona. La colecta de las muestras de los estados inmaduros, adultos de *P. xylostella*

y sus enemigos naturales se realizaron en los huertos hortícolas experimentales (CISVEB); la parte experimental en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, bajo temperatura de 16,9°C a 18,9°C, con una Humedad Relativa promedio de 73,8 %, en la cual inició una cría masiva de *Plutella sp.*, para realizar las observaciones y su respectiva toma de datos sobre el ciclo biológico del insecto. El promedio del ciclo de vida fue de 57,06 días, pasando por huevo con duración de $9,11 \pm 1,242$ días; estado larval de $19,54 \pm 2,620$ días, y la duración del estado de pupa de $9,93 \pm 1,698$ días. Determinaron cuatro instares larvales aplicando la Ley de Dyar (1.980); la anchura promedio de las cápsulas cefálicas de: 0,144 mm larva I; 0,253 mm larva II; 0,405mm larva III; 0,599 mm larva IV. La oviposición de las hembras fue de 43,66 huevos con una duración de $28 \pm 8,08$ días; la longevidad promedio de los adultos fue de $18,48 \pm 5,124$ días. Se determinaron los parasitoides de huevos *Trichogramma sp.*, el parasitoide de larvas *Diadegma insulare* (Cresson) y los depredadores *Harmonia axyridis* (Pallas), *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville y *Chrysoperla sp.*

6.2. Antecedentes nacionales

- Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M. (2009). Revisión: uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. Universidad de Cundinamarca. Fusagasugá.

Resumen: Este trabajo representa una recopilación de casos verificados de la actividad biológica de sustancias y extractos de origen vegetal usados para el control de, plagas, enfermedades y arvenses en el sector agrícola. De tal manera, se pone en evidencia que la familia Piperaceae es una de las que posee mayor número de reportes en este tipo de actividad biológica, razón por la cual se convierte en una de las pioneras para la búsqueda de extractos o compuestos que tengan aplicaciones en la solución de problemas fitosanitarios. Gracias a la importancia de Piperaceae y en particular del género *Piper spp.*, los grupos de investigación BioGuavio/AgroUDEEC pertenecientes a la Universidad de Cundinamarca y Estudio Químico y de Actividad Biológica de Rutaceae y Myristicaceae Colombianas de la Universidad Nacional de Colombia con la ayuda de

Colciencias, han desarrollado un proyecto titulado “Bioprospección participativa de comunidades vegetales asociadas a la familia Piperaceae en la región del Sumapaz medio y bajo occidental”, el cual busca comprobar e identificar en las especies prospectadas aplicaciones de interés en el sector agrícola.

- Carvajal (2011). Actividad insecticida de extractos de *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem- Meliaceae) sobre áfidos plagas en dos cultivos del género *Vigna* (Fabaceae) en el departamento de Córdoba (Colombia). Facultad de Ciencias Básicas.

Resumen: El incremento en la utilización de insumos agrícolas y la problemática global de contaminación ambiental y presión selectiva a insecticidas, se ha promovido la búsqueda de nuevas alternativas para reducir el uso de insecticidas convencionales y por tanto los impactos negativos que provocan en los productos de cosechas, la salud humana y el medio ambiente; siendo una solución, el empleo de extractos vegetales utilizados como control de insectos plagas en cultivos, ya en el punto de vista de una agricultura sostenible, se posiciona como una opción biotecnológica cuya peculiaridad es transformar los recursos biológicos en productos útiles, efectivos, de costo bajo, de baja toxicidad y biodegradables. La actividad insecticida de los extractos de *Azadirachta indica* A. Juss., ha sido catalogada por muchos autores, por lo cual, se llevó a cabo una revisión, compilación y un análisis de la toda la información obtenida de la actividad de los extractos de la especie sobre áfidos plagas en los cultivos de habichuela y frijol cabecita negra, en el departamento de Córdoba, Colombia; de igual forma se destacaron las propiedades, ventajas y desventajas del empleo de extractos de *A. indica*, resaltando las consecuencias generadas por el uso de insecticidas convencionales en los ecosistemas agrícolas y el medio ambiente a nivel global, señalando la utilización de estos insecticidas en el departamento de Córdoba en los últimos años. La información obtenida, está sustentada en, artículos de revistas científicas, libros digitales, tesis y trabajos de investigación. Esta información deja ver que se han realizado diversas investigaciones a nivel nacional e internacional sobre el uso de los extractos de Neem como compuestos bioactivos susceptibles de ser empleados para control de plagas con resultados sobresalientes, promoviendo el uso de estos extractos en Córdoba en cultivos

de la región, con la idea de generar interés en el progreso de nuevas alternativas sobre el uso y aprovechamiento de la flora para una agricultura con menor impacto ambiental.

6.3. Antecedentes internacionales

- Estrada (2017). Extractos vegetales para el manejo de *Plutella xylostella* (L.) en cultivo de brócoli *Brassica oleracea* var. Italica. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Soledad de Graciano Sánchez, México.

Resumen: El Brócoli *Brassica oleracea* var. Itálica, es un cultivo susceptible al ataque de insectos-plaga, como lo es la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*). La agricultura actual busca disminuir el uso de agroquímicos sintéticos para el control de plagas. La presente investigación evaluó el efecto de ciertos tratamientos para disminuir considerablemente las poblaciones de esta plaga en el cultivo de brócoli. Se realizó un experimento factorial bajo un diseño en bloques completos al azar; se usaron cinco tratamientos en el factor A, los cuales fueron 1) extracto de *Capsicum chinense*, 2) extracto de *Origanum vulgare*, 3) extracto de *Thymus vulgaris*; 4) Permetrina y 5) testigo; el factor B involucró tres concentraciones (70%, 40% y 30%;). Se evaluaron las siguientes variables: altura de planta, peso de inflorescencia y daño ocasionado por *P. xylostella*. Los análisis se fundamentaron en pruebas paramétrica para altura y peso; en tanto que el daño se realizó por métodos no paramétricos, ambos con un $\alpha \leq 0.05$. En resultados encuentran que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos. Para ello, se sugiere que la aplicación de estos extractos puede ser una alternativa ecológica para así reducir las aplicaciones de agroquímicos para el control de dicha plaga.

- Moreano (2016). Estudio de seis extractos de plantas amazónicas sobre el insecto *Plutella xylostella* (L.) en brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica cv. Avenger). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.

Resumen: Esta investigación se procura, evaluar los extractos acuosos de *Witheringia solanacea* (Tsimbio), *Dieffenbachia costata* (Lalu), *Lonchocarpus nicou* (Barbasco), *Clibadium sp.* (Kakllambi), *Xanthosoma purpuratum* (Shungupanga) y *Cymbopogon*

nardus (Hierba Luisa) sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en brócoli, en condiciones de campo en el cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo; emplearon un diseño de bloques completos al azar con ocho tratamientos y cinco repeticiones: seis extractos botánicos, un insecticida químico (clorpirifos + lambda cihalotrina) y un tratamiento de agua, todos ellos acompañados de jabón como fijador a razón de 2 ml/l de extracto. Se trasplantaron 30 plantas por repetición ordenadas en tres surcos, las plantas evaluadas fueron las diez pertenecientes al surco central; aguardando por una infestación natural del insecto. Comenzó la aplicación de los extractos a los 30 días después del trasplante, se continuó por siete semanas consecutivas realizando los conteos a los ocho días post-aplicación. El ensayo se realizó en dos temporadas, seca y lluviosa, con igualdad en trato agronómico. Para la primera temporada (seca) abarco desde julio a octubre y la segunda temporada (lluviosa) de septiembre a diciembre del 2015. La eficiencia de los tratamientos se determinó por el número de larvas vivas de *P. xylostella* registradas. Para ambas temporadas, el control químico presentó la menor población; el tratamiento agua mostro similitud estadística con el insecticida en un 50%. La acción de los extractos botánicos no tuvo un comportamiento lineal, sino que su acción estuvo relacionada por diversos factores ambientales. En la primera temporada *Dieffenbachia costata* y *Lonchocarpus nicou*, revelaron un mejor control de *P. xylostella*, en tanto que *Clibadium* sp. y *Witheringia solanacea* tuvieron los mejores resultados en la segunda temporada.

7. Marco contextual

Este trabajo se llevó a cabo en el municipio de Pamplona, departamento de Norte de Santander, situado en las coordenadas de 7° 22' 34" de latitud Norte y a 72°38' 54" de longitud al Oeste de Greenwich. El municipio de Pamplona limita al Norte con los municipios Pamplonita y Cucutilla, al sur con los municipios de Cácuta y Mutiscua, al oriente con Labateca y al occidente con el municipio Cucutilla, se encuentra a 2.430 metros sobre el nivel del mar. Su temperatura promedio de 14 a 16°C, con una extensión territorial total de 456 Km², con 76.983 habitantes aproximadamente. La economía del municipio se basa en su gastronomía, agricultura, turismo y educación.

Exactamente la investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Sanidad Vegetal ubicado en el campus de la Universidad de Pamplona, a $7^{\circ} 23' 14''$ de latitud Norte y a $-72^{\circ} 39' 1''$ de longitud al Oeste de Greenwich, a una altura de 2480 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 17°C y 65% de humedad relativa (Figura1).



Figura 1. Laboratorio de Sanidad Vegetal

Nota: vista aérea del laboratorio de sanidad vegetal de la universidad de Pamplona.

Tomada de *Google Earth* (2021).

8. Marco teórico

8.1. *Plutella xylostella* (L.)

8.1.1. Origen y distribución

Plutella xylostella (L.) conocida como la palomilla dorso de diamante, es un insecto del orden Lepidoptera, originaria de Europa. Se caracteriza por presentar una amplia distribución, por lo cual se considera cosmopolita, hospedera de plantas de crucíferas, el grado de infestación varía entre lugares y años, debido a factores del entorno como las condiciones ambientales, enemigos naturales, las poblaciones que hibernan y las migraciones. Su distribución se da alrededor del mundo en América del Norte, Europa, Asia, Oceanía, Sudamérica y África (CABI, 2019).

8.1.2. Descripción morfológica

Este insecto plaga, holometábolo, es decir que para su completo desarrollo pasa por la fase de huevo, larva, pupa y adulto. Sus huevos son pequeños en forma de escamas con coloración blanca verdosa un poco amarillenta, a simple vista difíciles de observar. Son ovipositados de manera individual o grupal, regularmente en el envés de las hojas cerca de la vena central. Las larvas al nacer presentan una coloración amarilla clara, cuando se desarrollan toman un color verde oscuro, poseen un tamaño 0.8 a 1.2 cm, su cuerpo es alargado el cual tiende angostarse a sus extremos. La pupa tiene un tamaño de 0,5 a 6 cm de longitud, varía en tres tipos de tonalidades amarillo claro, amarillo verdoso y verde claro; con bandas longitudinales de color verde oscuro. Los adultos miden 10 mm de longitud, tiene entre 12 a 15 mm la envergadura de sus alas, cuerpo esbelto de color grisáceo a café (Rojas, 2019).

8.1.3. Clasificación taxonómica

La ubicación taxonómica de *Plutella xylostella* (L.), se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Taxonomía *Plutella xylostella*

Dominio	Eukaryota
Reino	Metazoa
Filo	Arthropoda
Subfilo	Uniramia
Clase	Insecta
Orden	Lepidoptera
Familia	Plutellidae
Subfamilia	Plutellinae
Género	<i>Plutella</i>
Especie	<i>Plutella xylostella</i>

Fuente: CABI, 2019.

8.1.4. Ciclo de vida

El potencial reproductivo es determinado por el entorno ambiental, en el cual *P. xylostella* es capaz de desarrollar su ciclo de vida en 32 días asociados a condiciones de

temperatura y humedad favorables, iniciando desde el estadio de huevo, pasando por larva, pupa hasta llegar adulto. Para elegir los sitios de ovoposición más adecuados, las hembras buscan condiciones favorables de temperatura, humedad y estímulos químicos y físicos provenientes de las plantas (Mena & Hernández, 2017).

Silva-Lizarazo y Giraldo-Vanegas (2018), determinaron que el ciclo de vida de *P. xylostella* en las condiciones de Pamplona (Colombia) tiene una duración, desde la etapa de huevo hasta la emergencia de los adultos, de 57,06 días, pasando por huevo con duración de $9,11 \pm 1,242$ días; estado larval de $19,54 \pm 2,620$ días, y la duración del estado de pupa de $9,93 \pm 1,698$ días.

Entre las etapas del ciclo de vida, en el primer estadio larval, las larvas penetran y se alimentan del tejido de las hojas, mientras que en estadios posteriores las larvas se alimentan en la superficie de las hojas, brotes, flores y vainas (Mena & Hernández, 2017).

El ciclo de vida de *P. xylostella* se presenta en la Figura 2.

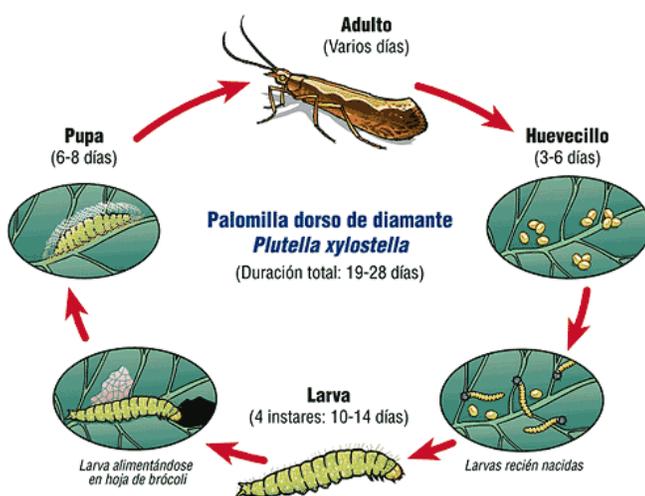


Figura 2. Ciclo biológico en días de la palomilla dorso de diamante
Fuente: Chávez (2017).

8.2. Descripción de plantas

En la Figura 3, se puede observar una planta de cariaquito.

8.2.1. *Lantana fucata* Lindl



Figura 3. Cariaquito (*Lantana fucata*)
Fuente: Autor (2022).

8.2.2. Origen y distribución

Esta planta es originaria de Centroamérica, se encuentra distribuida ampliamente en América Central y del Sur, el caribe y Hawái, también se puede encontrar en África (Aucancela, 2019).

8.2.3. Generalidades y morfología

Es un arbusto, pequeño, erecto, sin espinas, hasta 1 m de altura de hojas perennes, perteneciente a la familia de las Verbenaceae. Es una planta llamativa por sus hojas, flores y frutos (Cartay, 2020).

8.2.4. Clasificación Taxonómica

El árbol taxonómico de cariaquito es presentado en la Tabla 2.

Tabla 2. Taxonomía *Lantana fucata* Lindl

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	<i>Lantana</i>
Especie	<i>Lantana fucata</i>

Fuente: Hanan, 2009.

8.2.5. Descripción *Conium maculatum* L.

Arbusto perenne de tamaño mediano, de 2 a 5 metros de altura, posee tallos cuadrangulares y, en ocasiones, con espinas. Postura erecta, tiende a ser trepadora, ascendiendo a plantas o árboles bajos, valiéndose de ciertos puntos de contacto por medio espinas, ramas y hojas; tienden a surgir múltiples tallos desde el nivel del suelo. Hojas generalmente, ovaladas o en forma de lanza ancha, con una superficie rugosa y de color verde (Figura 4). Sus flores son pequeñas y multicolores, en densos racimos. Su fruto es una drupa redonda, carnosa, de coloración verde que se vuelve violeta y luego azul-negro, apariencia similar a una mora (Florecido, 2021).

8.3. *Conium maculatum* L.



Figura 4. Cicuta (*Conium maculatum*)
Fuente: Autor (2022).

8.3.1. Origen y distribución

Originario del norte de Europa, el oeste de Asia y el norte de África, se ha introducido en muchos países de América, el sur de África y China, Nueva Zelanda y Australia (CABI, 2021).

8.3.2. Generalidades y morfología

Es una planta herbácea bienal, su tamaño varía entre 1,5 a 2,5 m de altura. Posee un tallo hueco y estriado, con manchas de color púrpura en la base y ramoso en su parte superior. Hojas inferiores son pecioladas y más grandes que las superiores. Flores pequeñas, de color blanco y surgen en umbelas. Su fruto es un pequeño, redondo u ovalado, de color verde claro. La planta entera desprende un olor nauseabundo al romperla o restregarla (Nina, 2021).

8.3.3. Clasificación Taxonómica

Categorías taxonómicas de cicuta (Tabla 3).

Tabla 3. Taxonomía *Conium maculatum* L.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Género	<i>Conium</i>
Especie	<i>Conium maculatum</i>

Fuente: CABI, 2021.

8.3.4. Descripción *Rumex crispus* L.

Posee hojas alternas y amplexicaules, de margen dentado. En la región mediana y superior del tallo las hojas son menores y más sencillas. Las inflorescencias son umbelas compuestas. Flores pequeñas, pentámeras, con pétalos blancos, emarginados. El fruto es un esquizocarpo subglobuloso, algo comprimido por los costados (Figura 5) (Renobales & Sallés, 2001).

8.4. *Rumex crispus* L.



Figura 5. Lengua de vaca (*Rumex crispus* L.)
Fuente: Autor (2022).

8.4.1. Origen y distribución

Originario de Europa y Asia, pero es cultivada como planta ornamental en otras partes del mundo. Se encuentra ampliamente distribuido en todo el sur y en el este de las islas canarias. También ampliamente naturalizada en otras partes del mundo (Brugnoli et al., 2011).

8.4.2. Generalidades y morfología

Rumex crispus L., es conocida popularmente como lengua de vaca, también por otros nombres como oreja de vaca y acelera. Es una especie de plantas con flores perteneciente a la familia Polygonaceae, poseen tallo estriado, hojas alternas y tépalos verdosos a pardo rojizo (Rivera, 2017).

8.4.3. Clasificación Taxonómica

Clasificación taxonómica de lengua de vaca (Tabla 4).

Tabla 4. Taxonomía *Rumex crispus* L.

Reino	Plantae
División	Magnolophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Polygonales
Familia	Poligonaceae
Género	<i>Rumex</i>
Especie	<i>Rumex crispus</i> L.

Fuente: Rivera (2017).

8.4.4. Descripción

Planta herbácea, sin tricomas, erguida, su tamaño varía entre 50 cm a 120 cm de altura, posee tallo simple con rayas longitudinales, ramificaciones en la parte superior, sus hojas basales tienen pecíolos largos, lanceoladas a oblongo-lanceoladas, de 10 a 30 cm de largo, con un borde ondulado. Sus flores son verticiladas y dispuestas en panículas densas, estrechas, alargadas, ascendentes, de 10 a 50 cm de largo (Mondragón, 2009).

9. Marco legal

9.1. Acuerdo No. 186

El presente anteproyecto se rige bajo la normatividad establecida por la Universidad de Pamplona en el reglamento estudiantil, según el acuerdo número 186 de 02 de diciembre 2005.

Capítulo VI. Trabajo de grado

Artículo 35. La Universidad de Pamplona establece en el plan de estudio de los programas un requisito para la obtención del título profesional, se debe presentar un trabajo especial por parte del estudiante denominado “TRABAJO DE GRADO”, en el cual se consolida al estudiante su información integral, lo cual permite: Diagnosticar problemas y necesidades, a

partir, de los conocimientos adquiridos en la etapa académica, acopiar y analizar la información para establecer soluciones a problemas y necesidades específicas, además de; desarrollar planes y ejecutar proyectos, que le permitan demostrar su capacidad en la toma de decisiones.

PARÁGRAFO PRIMERO. Según las características del trabajo de grado se puede realizar de manera individual o en grupo. Corresponde al comité que se integren para realizar uno solo. En todos los casos, se presentará un sólo informe.

PARÁGRAFO SEGUNDO. “El Trabajo de Grado se podrá matricular a partir del 8º. Semestre, dependiendo de la modalidad que se emplee, hasta con máximo dos (2) asignaturas. El Trabajo de Grado deberá ser sustentado ante un Jurado, que está compuesto por tres (3) personas conocedoras del tema y decidir la calificación: “Aprobado”, “Excelente” o “Incompleto”, en llegado caso de que no se cumpla con los objetivos propuestos en la modalidad en la cual se adelanta dicho trabajo, en tal caso, el estudiante tendrá que matricularlo nuevamente en el siguiente semestre académico.

Artículo 36. Modalidades de Trabajo de Grado: para este trabajo, se desarrolla bajo la modalidad de investigación, el cual comprende diseños y ejecución de proyectos que ayuden aportar soluciones a los problemas teóricos o prácticos, adecuar y apropiar tecnologías y validar conocimientos producidos en otros contextos (Universidad de Pamplona, 2005).

9.2. Resoluciones del Instituto Colombiano Agropecuario

9.2.1. Ley 9 de 1979: de las sustancias peligrosas -plaguicidas- artículos pirotécnicos.

Artículo 130º.- En la importación, fabricación, almacenamiento, transporte, comercio, manejo o disposición de sustancias peligrosas deberán tomarse todas las medidas y precauciones necesarias para prevenir daños a la salud humana, animal o al ambiente, de acuerdo con la reglamentación del Ministerio de Salud.

Plaguicidas.

Artículo 136º.- El Ministerio de Salud establecerá las normas para la protección de la salud y la seguridad de las personas contra los riesgos que se deriven de la fabricación, almacenamiento, transporte, comercio, uso o disposición de plaguicidas.

Artículo 138°.- El registro que aprobare el Ministerio de Salud para plaguicidas destinados a uso agropecuario no exime a los interesados del cumplimiento de las disposiciones que para tales productos tengan establecidas las autoridades de agricultura.

Artículo 139°.- El Ministerio de Salud podrá autorizar la importación o fabricación de muestras de plaguicidas para fines de investigación, experimentación o registro. Cuando la experimentación con estos productos pueda causar daño a la salud de los trabajadores, de la población o del ambiente tal actividad debe someterse a la vigilancia de las autoridades de salud, las cuales exigirán la adopción de las medidas necesarias para prevenir o remediar tales daños.

Artículo 144°.- Los residuos procedentes de establecimientos donde se fabriquen, formulen, envasen o manipulen plaguicidas, así como los procedentes de operaciones de aplicación no deberán ser vertidos directamente a cursos o reservorios de agua, al suelo o al aire.

9.2.2. Ministerio de salud decreto 775 del 16 de abril de 1990

Por el cual se reglamentan parcialmente los Títulos III, V, VI, VII y XI de la Ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas.

Artículo 1° Del objeto del control y vigilancia epidemiológica. El control y la vigilancia epidemiológica en el uso y manejo de plaguicidas, deberá efectuarse con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro del ambiente.

Artículo 2° Régimen aplicable al uso y manejo de plaguicidas. El uso y manejo de plaguicidas estarán sujetos a las disposiciones contenidas en la Ley 09 de 1979, el Decreto 2811 de 1974, Reglamento Sanitario Internacional, las demás normas complementarias previstas en el presente Decreto y las que dicten los Ministerios de Salud y de Agricultura o sus institutos adscritos.

10. Metodología

10.1. Tipo de Investigación

La presente Investigación se enmarca como Investigación cuantitativa, debido a que se pretende obtener resultados a partir de la toma sistemática de datos para analizarlos estadísticamente y determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

10.2. Diseño Metodológico

10.2.1. Hipótesis

Hipótesis Nula: Todos los Tratamientos tienen un efecto igual.

Hipótesis Alternativa: Hay al menos un Tratamiento con un efecto diferente a los demás

10.2.2. Sistema de Variables

10.2.2.1. Variables Cuantitativas Continuas

Variables dependientes

- a. Porcentajes de Mortalidad.
- b. Concentración Letal Media (CL₅₀).
- c. Tiempo Letal Medio (TL₅₀).

Variables independientes

- a. Concentraciones de los extractos acuosos de *Lantana fucata*, *Conium maculatum* y *Rumex crispus* L.

10.2.3. Diseño de la investigación.

10.2.3.1. Localización del ensayo

La cría de *P. xylostella* y las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del Programa de Ingeniería Agronómica, Universidad de Pamplona, localizados a 2.586 msnm,

en el municipio de Pamplona Norte de Santander. El estudio se realizó, bajo condiciones de laboratorio.

10.2.4. Diseño Experimental

El Diseño Experimental se realizó con un modelo estadístico completamente al azar, cada extracto acuoso contó con cinco concentraciones y cada concentración con 5 repeticiones y cada repetición con cinco larvas (anexo 25), de tal manera que se necesitaron de 125 unidades experimentales (larvas) en cada extracto, para un total de 375 larvas de segundo instar (L₂) para los tres tratamientos. Cada unidad experimental consistió en una caja plástica de 5 cm de diámetro a las cuales en su tapa se les hizo un orificio circular de 2,50 cm de diámetro e internamente se le pegó un pedazo de tela tul, para lograr conseguir condiciones similares con el exterior. Cada una de las cajas contenía un disco de papel filtro de 5 cm de diámetro y un disco de hoja de repollo de 3 cm de diámetro. Los discos de hojas de repollo fueron sumergidos en las diferentes concentraciones de los dos extractos acuosos, por espacio de 5 segundos antes de introducirlos a la caja de cada disco con su respectiva L₂ de *P. xylostella*.

Las concentraciones de cada tratamiento, se prepararon a partir de una concentración inicial de 100.000 mg/l, para cada uno de los tres extractos acuosos, realizando cinco diluciones seriadas, que se evaluaron como tratamientos (concentraciones). En cada bioensayo se incluyó un testigo absoluto (hojas sumergidas en agua estéril).

Cada uno de los tres extractos acuosos tuvo cuatro concentraciones y un Testigo Absoluto, los cuales fueron:

100% (100.000 mg/l)

75% (75.000 mg/l)

50% (50.000 mg/l)

25% (25.000 mg/l)

Testigo absoluto (hojas sumergidas en agua estéril)

10.2.5. Colecta y Cría masiva de *P. xylostella*.

Para iniciar la cría de *P. xylostella*, se colectaron huevos, larvas, pupas y adultos localizados en las hojas de repollo, coliflor y brócoli en los cultivos de Brassicaceae pertenecientes al Colegio La Normal Superior (Pamplona) esto se realizó en horarios diurnos, se utilizó una lupa entomológica de 30X de aumento para su mejorar la búsqueda. Las larvas se obtuvieron principalmente en el envés de las hojas ya que son sensible a la luz solar, siendo colectadas con un pincel doble cero (00), depositándolas en frascos de vidrio transparentes colocándoles como tapa, una malla o toldillo para tener una mejor oxigenación, adicionándoles hojas frescas de repollo como alimento. La recolección de los adultos se realizó mediante jameos en los cultivos (Figura 6 y 7), depositándolos en frascos plásticos con la misma característica de los recipientes anteriores en la tapa, los cuales se transportaron al Laboratorio para empezar su cría masiva (Silva-Lizarazo y Giraldo-Vanegas 2018) y (Mondragón-Sánchez, Triana-Marroquín y Giraldo-Vanegas 2020).



Figura 6. Colecta de adultos de *P. xylostella* en campo
Fuente: Autor (2022).



Figura 7. Colecta de larvas de *P. xylostella*
Fuente: Autor (2022).

10.2.6. Técnica de Cría de *P. xylostella*.

Los huevos y larvas obtenidas en campo se llevaron al Laboratorio de Sanidad Vegetal del Programa de Ingeniería Agronómica, de la Universidad de Pamplona, para establecer el pie de cría, hasta que se logró una generación de adultos de *P. xylostella*, los cuales se sexaron y se colocaron por parejas en frascos de vidrio, con hojas de repollo, previamente sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% para eliminar posibles entomopatógenos y luego lavados en agua destilada, para que los adultos realicen las oviposuras, colocándole a los frascos una tela tul asegurada con una banda de goma para evitar la condensación de agua dentro del frasco (Figura 8). Para esto se realizaron observaciones cada 12 horas, con la ayuda de un estereoscopio (ocular de 40X) para hacer un seguimiento a su desarrollo biológico (Mondragón, Triana y Giraldo, 2020 b). Los adultos fueron alimentados con agua azucarada, colocando con un pincel gotas de esta sobre la tela tul que cubría los envases

Los huevos se obtuvieron cada tres días de las hojas de repollo de los recipientes de los adultos, esto con la finalidad de que, al nacer, fuesen larvas homogéneas y se colocaron en recipientes de vidrio con una tela tul asegurada con una banda de goma para lograr conseguir condiciones similares con el exterior, además, los huevos no se individualizaron debido a que tienen una forma ovalada y aplanada, lo cual los hace muy delicados a la hora de manipular.

(Mondragón-Sánchez et al., 2020). El pie de cría se mantuvo hasta lograr una producción de huevos de la misma edad, alcanzando un mínimo de larvas, el cual era de 375 y con esto poder iniciar el experimento.



Figura 8. Pie de cría adultos de *P. xylostella*
Fuente: Autor (2022).



Figura 9. Adulto de *P. xylostella* alimentándose
Fuente: Autor (2022).

10.2.7. Descripción de las Actividades

Preparación de los extractos acuosos de *L. fucata*, *C. maculatum* y *R. crispus*, bajo condiciones de laboratorio.

Las plantas de *L. fucata*, *C. maculatum* y *R. crispus*, se tomaron en las áreas rurales de Pamplona, Norte de Santander, teniendo en cuenta que se encontrarán en un mismo estado fenológico. Se trasladaron al Laboratorio de Sanidad Vegetal del Programa de Ingeniería Agronómica. Se procedió hacerles un lavado, para luego dejarlos secar a la sombra. Para realizar los extractos acuosos se trituraron 100 gramos de hojas por litro de agua con pH 7.0. Las hojas se maceraron en recipientes plásticos separados, y se dejaron en fermentación durante 24 horas.

Cumplidas las 24 horas en maceración se procedió al filtrado el cual consistía en separar el líquido con los metabolitos, de las partes sólidas del material vegetal (restos de hojas). A partir de la concentración o solución madre al 100% (100.000 mg/l), se obtuvieron las disoluciones al 100% (100.000 mg/l), 75% (75.000 mg/l), 50% (50.000 mg/l), 25% (25.000 mg/l) logrando de esta manera todas las concentraciones.

Se utilizó la siguiente fórmula para hacer las respectivas concentraciones:

$$V = \frac{Cd (x) Vd}{Cc}$$

Donde:

Vd: volumen deseado

Cd: concentración deseada

Cc: concentración conocida (solución madre)

A cada concentración debido a las características cerosas de las hojas de repollo, se le adicionaron 0,50 ml/l del producto MIXEL TOP que es un tenso activo no iónico y no reactivo, con características especiales de hipotensor y humectante, acción que ejerce al romper la tensión superficial de las gotas de agua, mejorando el cubrimiento y la adherencia de los tratamientos en los discos de repollo (Mondragón-Sánchez et al., 2020).

10.2.7.1. Determinación la mortalidad de *P. xylostella*, causada por extractos acuosos de *L. fucata*, *C. maculatum* y *R. crispus*, bajo condiciones de laboratorio.

Una vez emergidas las larvas de *P. xylostella*, se registraron con un número y fecha, individualizándolas en cajas plásticas de 5 cm de diámetro y colocándolas en discos de hoja de repollo de 3 cm de diámetro, los cuales previamente fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% para eliminar posibles entomopatógenos y luego lavados en agua destilada, dejándolos secar por media hora en una malla de plástico. Los discos de hojas de repollo se colocaron sobre un disco de papel absorbente de 5 cm de diámetro dentro de las cajas plásticas, esto para mantener a la larva en un solo sitio y hacer un mejor manejo al momento de hacer la observación. Tanto los discos de hoja de repollo como los del papel absorbente se cambiaron cada tres días, aunque observaciones previas al montaje del experimento se pudo comprobar que los discos de repollo en las condiciones de laboratorio duraban hasta los cinco días en condiciones frescas para ser consumidas como alimento para las larvas (Mondragón-Sánchez et al., 2020). Cuando las larvas llegaron al segundo instar de desarrollo larval, que fue aproximadamente a los nueve días de edad (Silva-Lizarazo & Giraldo-Vanegas, 2018), se procedió al montaje del ensayo.

Las larvas para el bioensayo tuvieron un ayuno de tres horas, al término del cual se colocaron en discos de hojas de repollo de 3 cm de diámetro, desinfectados previamente con hipoclorito de sodio al 0,5%, para evitar algún tipo de mortalidad causada por factores como entomopatógenos. Los discos de hoja de repollo fueron sumergidos durante cinco segundos en cada uno de los tratamientos a diferentes concentraciones al 100% (100.000 mg/l), 75% (75.000 mg/l), 50% (50.000 mg/l), 25% (25.000 mg/l) y un Testigo Absoluto. Una vez retirados los discos, se secaron por una hora a temperatura ambiente. Después fueron individualizados en cajas plásticas de 5 cm de diámetro, colocados sobre discos de papel filtro del mismo tamaño, realizado esto: se depositaron 5 larvas de *P. xylostella* en cada caja, estas

larvas tenían una edad de nueve días (L_2). Es importante hacer la anotación que todas las larvas utilizadas en este ensayo tuvieron nueve días de edad, para uniformizar esta variable, ya que la tolerancia a los tóxicos aumenta con la edad de las larvas de lepidópteros. Cada caja plástica se marcó identificada con su respectivo Tratamiento, Repetición, número de larva y fecha de iniciación del ensayo (Figura 10 y 11).



Figura 10. Cajas plásticas rotuladas para tratamiento.
Fuente: Autor (2022).

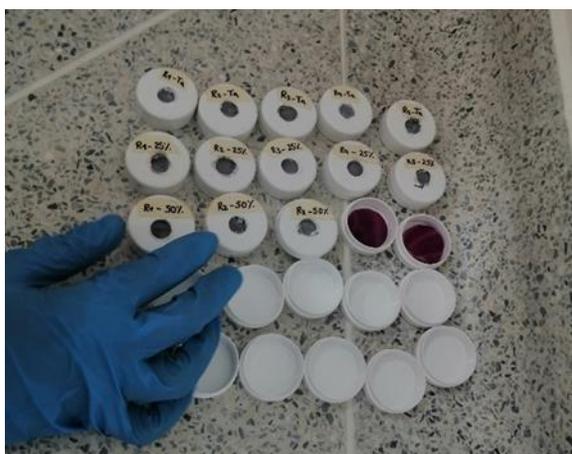


Figura 11. Discos de repollo en cajas plásticas para tratamiento.
Fuente: Autor (2022).

La mortalidad de una larva se comprobó con la observación directa a través de una lupa estereoscópica y con la ayuda de un pelo de pincel, la larva fue molestada para comprobar si respondía a estos estímulos, de todas maneras, estas larvas se observaron en el estereoscopio para así estar seguros de su muerte (figura 12). Además, la sintomatología presentada por las larvas afectadas, la apariencia inicial de color café claro y acortamiento del cuerpo, hasta aparentar una sequedad intensa, también fueron los signos indicadores sobre la muerte de las larvas (figura 13). La mortalidad se evaluó cada doce horas, hasta la muerte total de las larvas o la emergencia de los adultos de *P. xylostella* (Anexo 1).

Las larvas permanecieron cuatro días con los discos tratados en sus diferentes concentraciones, para cumplir con el tiempo determinado de cuatro días de exposición a los tratamientos. Al quinto día y cada tres días los discos de repollo fueron cambiados por discos de 3 cm de diámetro de hoja de repollo, desinfectados con hipoclorito de sodio al 0,5% y lavados en agua destilada, para que las larvas continuaran su desarrollo hasta el estado adulto o murieran en el transcurso de esos días.



Figura 12. Larvas de *P. xylostella* observadas en tratamiento.
Fuente: Autor (2022).

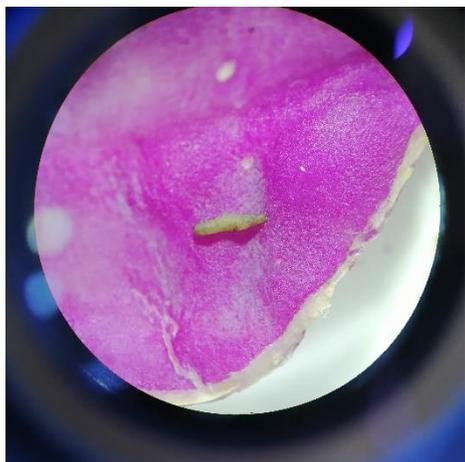


Figura 13. Larva de *P. xylostella* muerta en tratamiento.
Fuente: Autor (2022).

10.2.7.2. Cálculo de la CL_{50} y el TL_{50} causada por extractos acuosos de *Lantana fucata*, *Conium maculatum* y *Rumex crispus*, bajo condiciones de laboratorio.

Para determinar la CL_{50} y el TL_{50} , las mortalidades se tomaron hasta las 96 horas de exposición de las larvas, sin cambiar los discos tratados; dentro del concepto de la DL_{50} , que es la concentración de un material determinado, administrado una sola vez, que provoca la muerte del 50% de un grupo de animales de prueba. Al quinto día se cambió cada disco tratado por un disco de repollo que no fue tratado con alguna concentración, solamente fue desinfectado, los cuales se renovaron cada tres días hasta la formación de pupas y adultos de *P. xylostella*. Estos últimamente mencionados producto de haber sobrevivido a los extractos acuosos de *Lantana fucata*, *Conium maculatum* y *Rumex crispus*.

Al comprobarse la mortalidad de una larva, se iba anotando en el instrumento diseñado (Anexo 1), el tratamiento, la repetición, el número de larva en esa repetición y hora de observación de su muerte.

Los porcentajes de mortalidad se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925), para identificar que la muerte fue ocasionada por el tratamiento y no por otras causas, los valores de

CL₅₀ y TL₅₀ se determinaron con un Análisis Probit, utilizando el Software SPSS Statistics 26.0, con el cual se realizó un Análisis de Varianza, previa comparación de la normalidad de datos y homogeneidad de varianzas, seguido del test de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia $p \leq 0,05$. Se realizó un análisis de regresión para determinar la relación entre la Mortalidad y la concentración de las diferentes concentraciones, lo que permitió construir la respuesta concentración-efecto, para cada concentración, en cada uno de los tres extractos acuosos, que es la base para la determinación de la CL₅₀. Con los datos de mortalidad acumulados cada doce horas (desde la hora doce de montado el bioensayo hasta la hora 96), se determinó el tiempo al cual murió el 50% de la población (TL₅₀) para cada uno de los extractos y concentración evaluada.

11. Resultados y Discusión

Las plantas utilizadas en el presente bioensayo fueron determinadas por el botánico Luis Roberto Sánchez Montaña, director del Herbario Catatumbo Sarare, de la Universidad de Pamplona.

Primer objetivo específico

Efecto causado por tres extractos acuosos vegetales sobre la mortalidad de las larvas *P. xylostella* en condiciones de laboratorio.

11.1. Mortalidad de larvas de *Plutella xylostella* (L.).

Extractos acuosos de cicuta (*Conium maculatum* L.)

La mortalidad de larvas de *P. xylostella*, causadas por las diferentes concentraciones de los extractos acuosos de hojas de cicuta (*C. maculatum*) es presentada en la Tabla 5; en donde se puede apreciar que al aumentar la concentración hay una respuesta en el aumento de las mortalidades. Realizados los Anova simples y la Comparación de Medias con la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) (Anexos 2, 3, 4 y 5), se detectaron diferencias significativas, generándose cuatro grupos; así, un primer grupo conformado por la concentración 100.000 mg/l causó una mortalidad de 100% de las larvas de segundo instar; un segundo grupo de la concentración 75.000 mg/l con una mortalidad de 88%; el tercer grupo constituido por las concentraciones de

50.000 y 25.000 mg/l con mortalidades de 68% y 60%, respectivamente y el cuarto grupo con el Testigo absoluto con 4,00% de mortalidad.

Hotti et al., (2015), mencionan que la cicuta venenosa (*C. maculatum*) acumula sustancias tóxicas alcaloides como conina, predominantemente en órganos vegetativos y frutos. En un trabajo realizado por Ali Esmail Al-Snafi, (2016), argumenta que después de realizar un análisis químico de *Conium maculatum* L., reveló que la planta contenía alcaloides, flavonoides, cumarinas, poliacetilenos, vitaminas, aceites y muchos otros metabolitos activos.

En un estudio por parte de Vetter (2004) menciona que algunos insectos atacan a cicuta. Se ha informado que *Agonopteryx alstroemeriana* Clerck infesta la cicuta venenosa. Además, la planta fue registrada como planta alimenticia de lepidópteros polífagos, como *Eupitheca miserulata* Grote, *Spilosoma virginica* Fabricius y otros. Uno de los alcaloides de *Conium*, la conina, fue bioensayada para toxicidad, inhibición del crecimiento y disuasión de la alimentación en la especie de insecto polífago *Helicoverpa zea* (Boddie). Contrariamente a lo esperado, la conina no mostró actividad biológica frente a este insecto en las concentraciones probadas.

Tabla 5. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, en las diferentes concentraciones con los extractos acuosos de cicuta (*C. maculatum*), bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	N	Mortalidad (%)
100.000	5	100,00 c
75.000	5	88,00 bc
50.000	5	68,00 b
25.000	5	60,00 b
0	5	4,00 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Fuente: Autor (2022).

En la Figura 14, se ve la respuesta en las mortalidades de larvas de segundo instar larval de *P. xylostella* sometida a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cicuta (*C. maculatum*).

Chizzola y Lohwasser (2020), mencionan que *Conium maculatum* L., es conocida como una planta altamente tóxica, debido a los alcaloides de piperidina presentes en las partes aéreas.

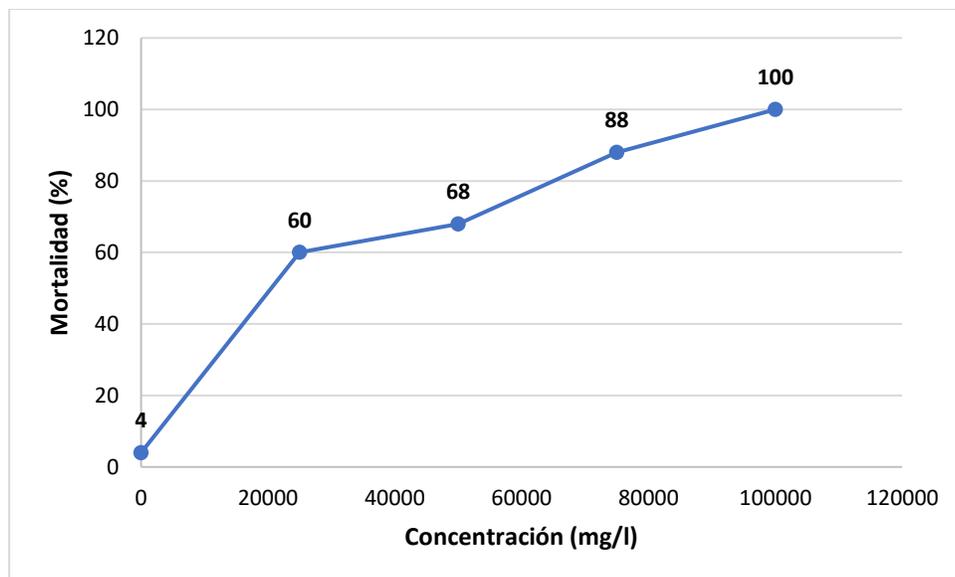


Figura 14. Respuesta en las mortalidades de larvas de *P. xylostella*, sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) con extractos acuosos de hojas de cicuta (*Conium maculatum* L.), bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

En la Tabla 6, se presentan las diferencias significativas ($p \leq 0,05$), entre los porcentajes de mortalidad causados a larvas de segundo instar larval de *P. xylostella*, por las diferentes concentraciones de extractos acuosos de lengua de vaca, detectándose cuatro grupos con diferencias significativas; la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de Lengua de vaca (*R. crispus*) causó la mortalidad al 84,00% de las larvas; el segundo grupo con las concentraciones de 75.000 y 50.000 mg/l con 76,00% y 72,00% de mortalidad respectivamente; el tercer grupo conformado por la concentración 25.000 mg/l con 64,00% de mortalidad; mientras que en el Testigo absoluto no presentó mortalidad alguna.

Gómez et al., (2003) muestran en los resultados encontrados en su trabajo, que los extractos etanólicos de plántulas de *Rumex crispus*, en tres estados de crecimiento, confirmaban

la presencia de flavonoides, terpenos, sesquiterpenlactonas, quinonas, glicósidos y cumarinas, pero no de alcaloides. El tener conocimiento de la eficacia de las sustancias alelopáticas de estas especies y su uso potencial puede llegar a ser de gran utilidad en programas de manejo de las relaciones planta – insecto.

Tabla 6. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, en los diferentes tratamientos (concentraciones) de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (*R. crispus*), bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	N	Mortalidad (%)
100.000	5	84,00 c
75.000	5	76,00 bc
50.000	5	72,00 bc
25.000	5	64,00 b
0	5	0,00 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).
Fuente: Autor (2022).

La dinámica de la comparación entre las cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (*R. crispus*) y mortalidad causada a larvas de segundo instar de *P. xylostella* se puede apreciar en la Figura 15.

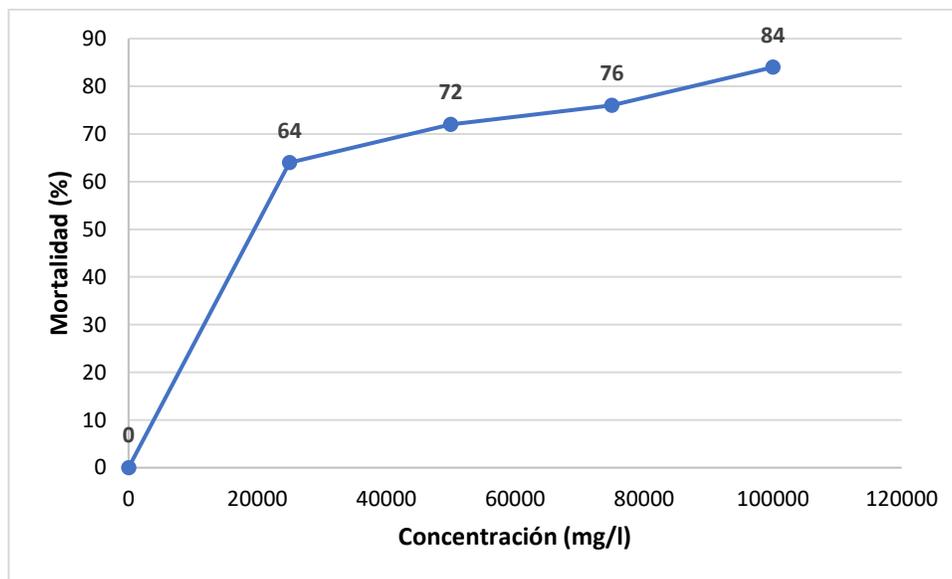


Figura 15. Respuesta en las mortalidades de larvas de *P. xylostella*, sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (*R. crispus*), bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

La mortalidad causada por los extractos acuosos de hojas cariaquito (*L. fucata*) son presentados en la Tabla 7; apreciándose cuatro grupos con diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre estas. La concentración 100.000 mg/l causó la mortalidad al 76,00% de las larvas de segundo instar larval; un segundo grupo con las concentraciones 75.000 y 50.000 mg/l con mortalidades de 64,00% y 56,00%, respectivamente; el tercer grupo con la concentración 25.000 mg/l causó 52,00% de mortalidad; mientras que el cuarto grupo con el Testigo con 4,00% de mortalidad.

Caroprese et al., (2011) mencionan que, en estudios realizados en la especie se ha demostrado la presencia de varios terpenoides, esteroides y alcaloides, es reportada por ser importante, al poseer propiedades farmacológicas, incluyendo la bactericida, insecticida, nematocida, anti mutagénica y su acción repelente contra insectos, entre otras.

Tabla 7. Prueba de medias de Tukey para los porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, en los diferentes tratamientos (concentraciones) de extractos acuosos de hojas de cariaquito (*L. fucata*), bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	N	Mortalidad (%)
100.000	5	76,00 c
75.000	5	64,00 bc
50.000	5	56,00 bc
25.000	5	52,00 b
0	5	4,00 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Fuente: Autor (2022).

En la Figura 16, se observa el comportamiento entre las cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cariaquito (*L. fucata*) y la mortalidad causada a larvas de segundo instar de *P. xylostella*.

Maldonado et al., (2016) argumentan que, a través de extensos estudios fitoquímicos de diferentes especies de *Lantana*, han llevado a la identificación de lantadenes (triterpenoides pentacíclicos), flavonoides y fenilpropanoides como los metabolitos secundarios los cuales poseen propiedades insecticidas característicos de esta especie.

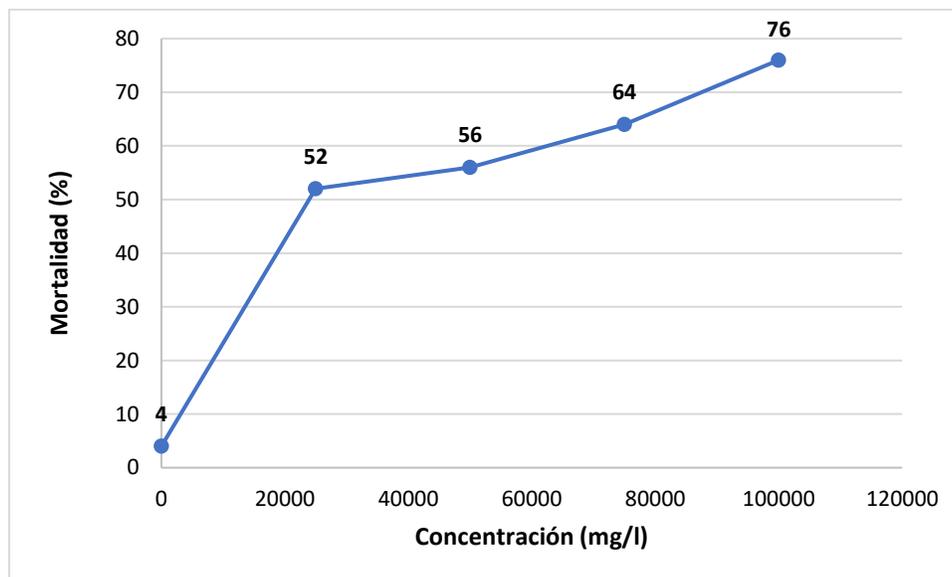


Figura 16. Respuesta en las mortalidades de larvas de *P. xylostella*, sometidas a las cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cariaquito (*L. fucata*) y mortalidad causada a larvas de segundo instar de *P. xylostella*., bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

Segundo Objetivo específico

Determinar la CL₅₀ y el TL₅₀ de tres extractos acuosos vegetales sobre larvas *P. xylostella* bajo condiciones de laboratorio.

11.2. Concentración Letal Media (CL₅₀)

La CL₅₀ es la concentración de un material determinado, administrado una sola vez, que provoca la muerte del 50% de un grupo de animales de prueba. La CL₅₀ es una forma de medir el envenenamiento potencial a corto plazo (toxicidad aguda) de un material. Cabe destacar que la CL₅₀ mide la concentración letal, pero no otros efectos secundarios graves, pero no letales.

J.W. Trevan en 1927, creó esta prueba cuando intentaba encontrar una fórmula para estimar la relativa potencia de envenenamiento de drogas y medicinas usadas en tal época. Desarrolló la prueba CL₅₀ porque el uso de muerte como "meta", permite comparaciones en químicos que envenenan al cuerpo en muchas formas diferentes. A partir del trabajo temprano de Trevan, muchos científicos han desarrollado distintos enfoques para métodos más directos y rápidos de obtener el CL₅₀.

En la Tabla 8, se presentan los datos de mortalidad transformados a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cicuta (*C. maculatum*).

Tabla 8. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cicuta (*C. maculatum*).

Concentración (mg/l)	Concentración (log10)	Mortalidad (%)	Mortalidad (Probit)
100.000	5,00	100	8,09
75.000	4,87	88	6,18
50.000	4,70	68	5,47
25.000	4,39	60	5,25

Nota: Concentraciones (mg/l) transformadas a log10; Mortalidad (%) transformadas a Probit.

Fuente: Autor (2022).

Los datos de mortalidad transformados a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (*R. crispus*), se observan en la Tabla 9.

Tabla 9. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de lengua de vaca (*R. crispus*).

Concentración (mg/l)	Concentración (log10)	Mortalidad (%)	Mortalidad (Probit)
100.000	5,00	84	5,99
75.000	4,87	76	5,71
50.000	4,70	72	5,58
25.000	4,39	64	5,36

Nota: Concentraciones (mg/l) transformadas a log10; Mortalidad (%) transformadas a Probit.

Fuente: Autor (2022).

En la Tabla 10, se presentan los datos de mortalidad transformados a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cariaquito (*L. fucata*).

Tabla 10. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de hojas de cariaquito (*L. fucata*).

Concentración (mg/l)	Concentración (log10)	Mortalidad (%)	Mortalidad (Probit)
100.000	5,00	76	5,71
75.000	4,87	64	5,36
50.000	4,70	56	5,15
25.000	4,39	52	5,05

Nota: Concentraciones (mg/l) transformadas a log10; Mortalidad (%) transformadas a Probit.

Fuente: Autor (2022).

11.2.1. Determinación de la CL₅₀

Una vez realizadas las Pruebas Probit con los datos transformados, se encontraron las Ecuaciones de Regresión, los Coeficientes de Determinación (R^2) y las Concentraciones Letales Medias (CL₅₀), para cada extracto acuoso de hojas de cicuta (*C. maculatum*), lengua de vaca (*R. crispus*) y cariaquito (*L. fucata*). (Anexos 6, 7 y 8).

Los resultados obtenidos en las pruebas para encontrar la CL₅₀, arrojaron que la CL₅₀ para los extractos acuosos de cicuta es 28.183 mg/l, para matar el 50% de la población de la prueba; la CL₅₀ para los extractos acuosos de lengua de vaca es 7.585 mg/l; mientras que, la CL₅₀ para los extractos de cariaquito fue de 20.892 mg/l (Tabla 11). Estos resultados indican que los extractos de lengua de vaca (*R. crispus*) son los más tóxicos para las larvas de *P. xylostella*, ya que a menor CL₅₀, mayor toxicidad en la población probada (Tabla 11).

Tabla 11. Concentraciones letales medias (CL₅₀) de los tres extractos acuosos de cicuta, lengua de vaca y cariaquito para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio.

Extracto acuoso	Ecuación Regresión	R²	CL₅₀ (mg/l)
Cicuta	$y=1,79x+(-2,68)$	0,80	28.183
Rumex	$y=0,73x+2,17$	0,99	7.585
Lantana	$y=0,61x+2,36$	0,87	20.892

Fuente: Autor (2022).

En las Figuras 17, 18 y 19, se presentan las regresiones resultantes de las relaciones concentración y porcentajes de mortalidad causados por los extractos acuosos de cicuta, lengua de vaca y cariaquito para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio. De esta manera, los extractos de cicuta arrojaron una Ecuación de Regresión $y=1,79x+(-2,68)$ y un Coeficiente de Determinación (R²) de 0,80; los extractos de lengua de vaca arrojaron una Ecuación de Regresión $y=0,73x+2,17$ y un Coeficiente de Determinación (R²) de 0,99; mientras los extractos de cariaquito arrojaron una Ecuación de Regresión $y=0,61x+2,36$ y un Coeficiente de Determinación (R²) de 0,87.

Mhalla et al., (2018), enfatizó, por primera vez, las prometedoras actividades insecticidas del extracto de hexano de *R. tingitanus* contra las larvas de lepidópteros. El modo de acción de este insecticida varía según el estado larvario. Es un larvicida contra larvas de primer y segundo estadio y antialimentario contra larvas de cuarto estadio. Las propiedades larvicidas del extracto hexano de *R. tingitanus* para *S. littoralis* podrían atribuirse a la presencia de un alto porcentaje de compuestos conocidos por su potencial efecto insecticida, particularmente β y γ -Sitosterol y β -amirina. Ellos mencionan que los metabolitos secundarios muestran actividades insecticidas, antialimentarias y reguladoras del crecimiento de insectos contra larvas de lepidópteros, que podría atribuirse a la presencia del alto porcentaje de compuestos conocidos por su efecto insecticida.

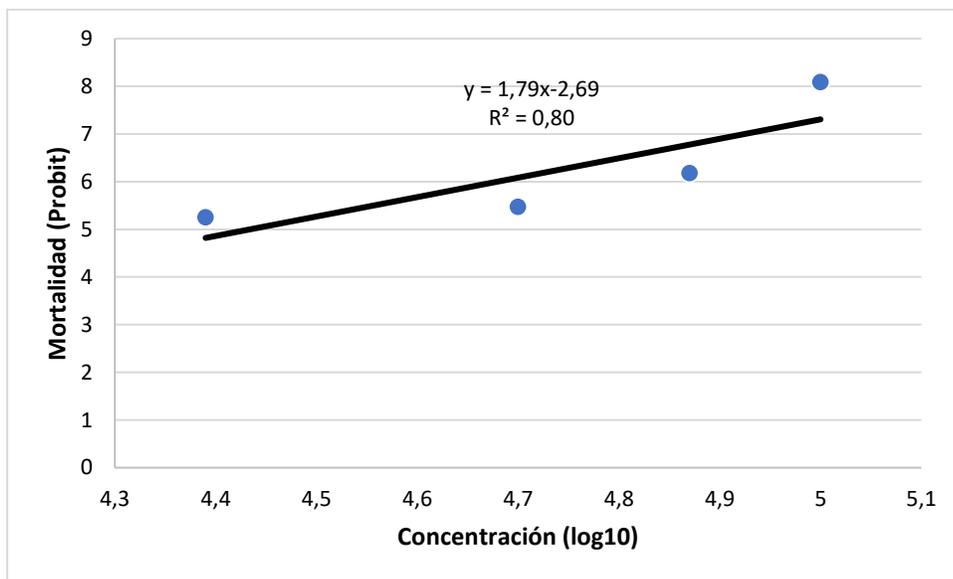


Figura 17. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de cicuta. Fuente: Autor (2022).

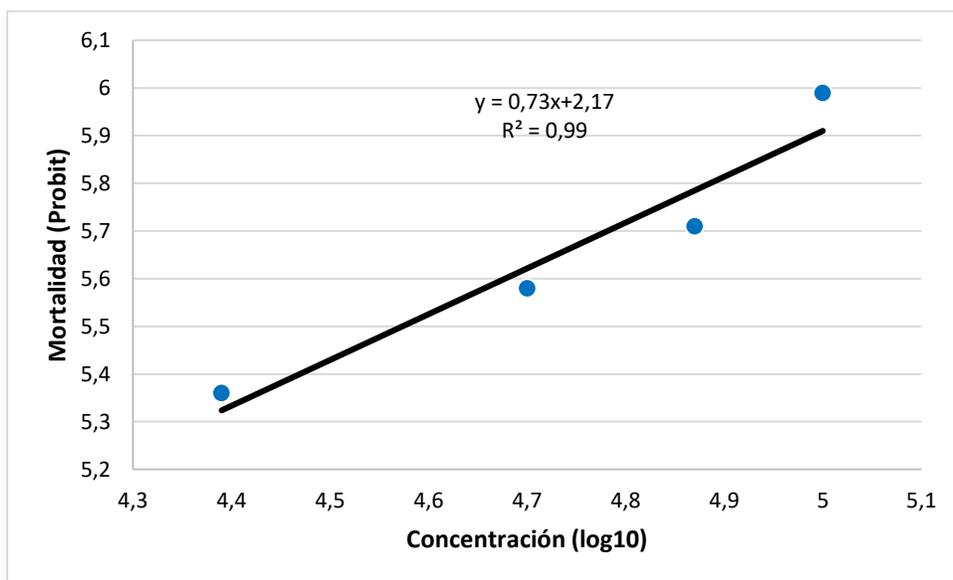


Figura 18. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de lengua de vaca. Fuente: Autor (2022).

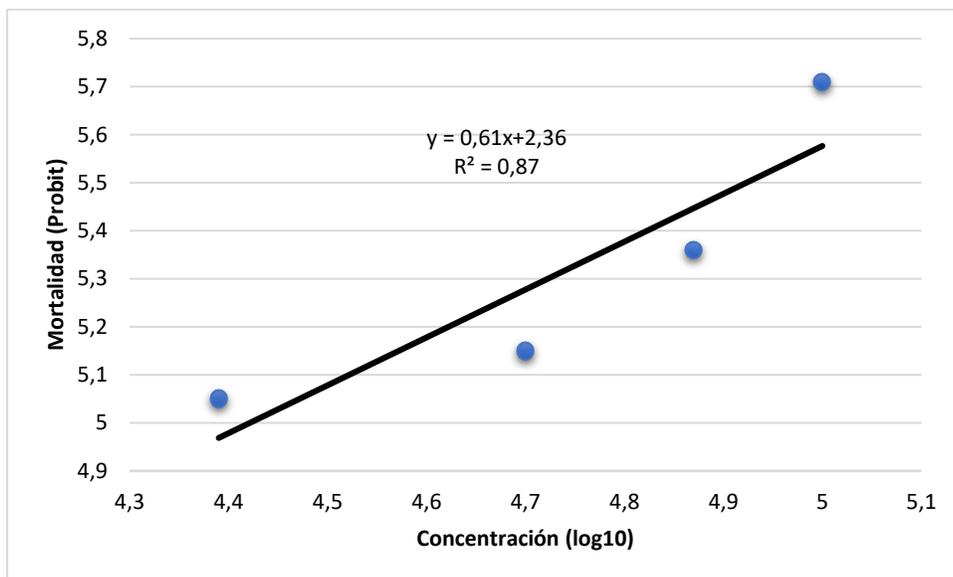


Figura 19. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de cariaquito. Fuente: Autor (2022).

11.3. Determinación del Tiempo Letal Medio (TL₅₀).

El Tiempo Letal Medio (TL₅₀), es el valor medio del intervalo de tiempo, durante el cual se espera que muera el 50% de una población dada, tras la administración aguda de un agente químico a una determinada concentración y bajo un conjunto de condiciones definidas.

Con los datos de mortalidad acumulados cada doce horas (desde la hora 12 de montado el bioensayo hasta la hora 96), se determinó el tiempo en el cual murió el 50% de la población (TL₅₀) para cada una de las cuatro concentraciones de los tres extractos acuosos de hojas de cicuta, lengua de vaca y cariaquito evaluadas, igualmente mediante análisis de regresión entre la relación mortalidad acumulada y tiempo de muerte.

El TL₅₀ para las cuatro concentraciones de los extractos acuosos de hojas de cicuta se pueden observar en la Tabla 12. Se determinó que la concentración de 100.000 mg/l mata al 50% de la población a las 98 horas con un coeficiente de determinación ($R^2=0,43$). De la misma manera se presentan las TL₅₀ de todas las concentraciones probadas.

Tabla 12. Tiempo Letal Medio (TL₅₀), en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cicuta, en condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	Ecuación Regresión	R²	TL₅₀ (Hora)
100.000	y=0,59x+ (-7,71)	0,43	98
75.000	y=0,45x+(-5,43)	0,46	123
50.000	y=0,58x+(-11,29)	0,75	106
25.000	y=0,28x+(-3,00)	0,27	189

Fuente: Autor (2022).

En la Tabla 13 se observa el TL₅₀ para las cuatro concentraciones de los extractos acuosos de hojas de lengua de vaca. Se determinó que la concentración de 100.000 mg/l mata al 50% de la población a las 73 horas con un coeficiente de determinación (R²=0,43). De la misma manera se presentan las TL₅₀ de todas las concentraciones probadas.

Tabla 13. Tiempo Letal Medio (TL₅₀), en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca, en condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	Ecuación Regresión	R²	TL₅₀ (Hora)
100.000	y=0,55x+9,71	0,43	73
75.000	y=0,33x+7,00	0,33	130
50.000	y=0,27x+9,14	0,13	151
25.000	y=0,43x+(-3,14)	0,41	123

Fuente: Autor (2022).

En la Tabla 14, se observa el TL₅₀ para las cuatro concentraciones de los extractos acuosos de hojas de cariaquito. Se determinó que la concentración de 100.000 mg/l mata al 50% de la población a las 305 horas con un coeficiente de determinación (R²=0,34). De la misma manera se presentan las TL₅₀ de todas las concentraciones probadas.

Tabla 14. Tiempo Letal Medio (TL₅₀), en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de cariaquito, en condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	Ecuación Regresión	R²	TL₅₀ (Hora)
100.000	$y=0,18x+(-4,86)$	0,34	305
75.000	$y=0,17x+(-4,71)$	0,32	322
50.000	$y=0,16x+(-4,57)$	0,30	341
25.000	$y=0,09x+(-2,43)$	0,14	583

Fuente: Autor (2022).

En las Figuras 20, 21 y 22, se presentan las Regresiones de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte causados por los extractos acuosos de cicuta, lengua de vaca y cariaquito para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio.

De esta manera, la concentración de 100.000 mg/l de los extractos de cicuta arrojaron una Ecuación de Regresión $y=0,59x+(-7,71)$ y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 0,43; los extractos de lengua de vaca arrojaron una Ecuación de Regresión $y=0,55x+9,71$ y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 0,43; mientras los extractos de cariaquito arrojaron una Ecuación de Regresión $y=0,18x+(-4,86)$ y un Coeficiente de Determinación (R^2) de 0,34.

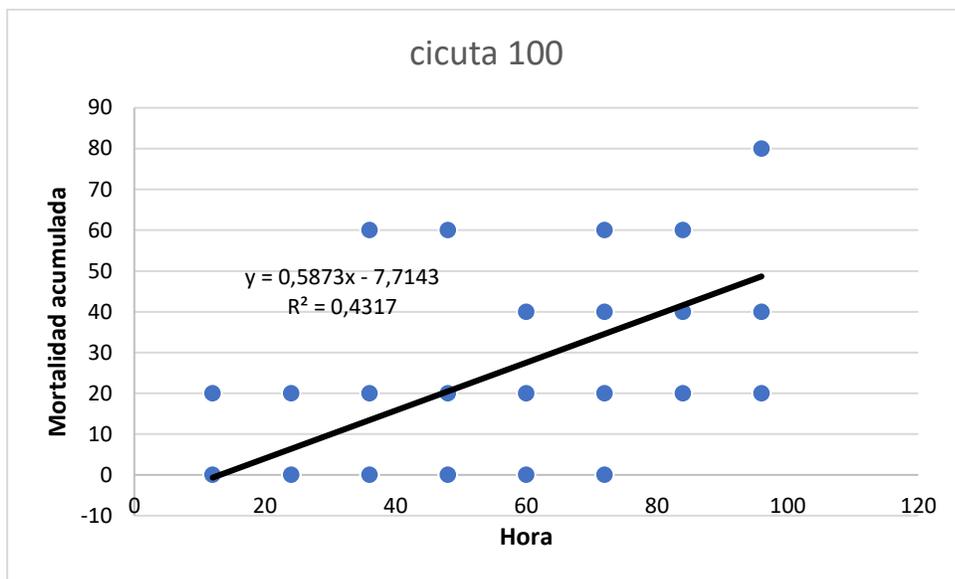


Figura 20. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de cicuta, bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

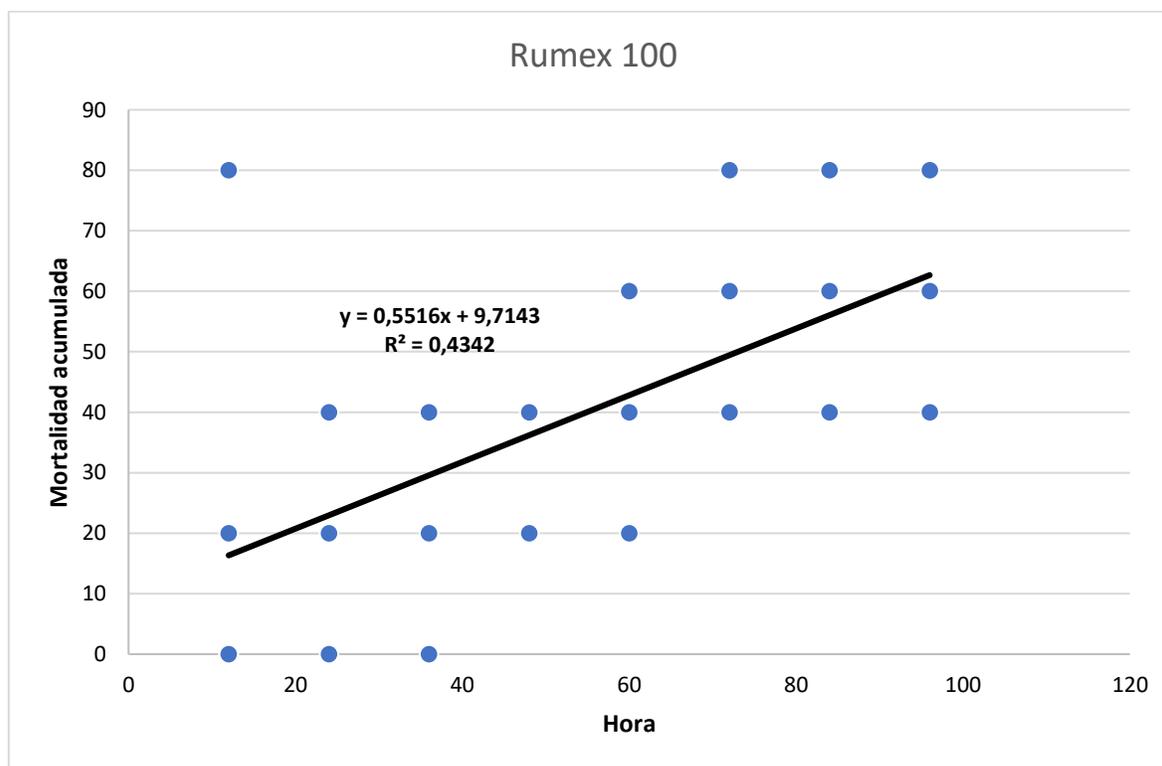


Figura 21. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de lengua de vaca, bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

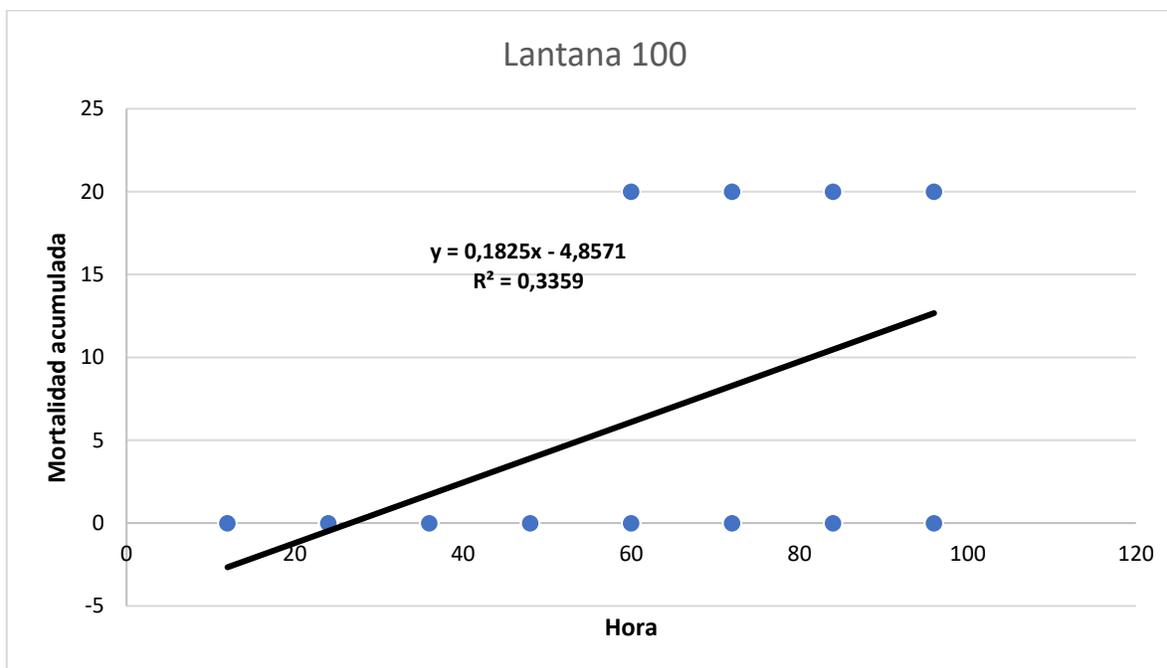


Figura 22. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a la concentración de 100.000 mg/l de extractos acuosos de hojas de cariaquito, bajo condiciones *in vitro*. Fuente: Autor (2022).

12. Conclusiones

Se conoció el efecto que poseen las tres plantas objeto del bioensayo en base a la mortalidad de las larvas de *Plutella xylostella*; estos extractos acuosos presentaron resultados positivos en cuanto a la mortalidad de las larvas. Además, se concluyó que el uso de estos extractos se muestra como una alternativa recomendable para controlar en campo este insecto plaga.

Para el TL_{50} haciendo una comparativa entre los tres extractos de plantas usadas en los tratamientos, en cuanto a la mortalidad del 50% de la población de larvas de segundo instar de

P. xylostella, tomando los resultados obtenidos de la concentración mayor (100.000 mg/l), muestran que los extractos de lengua de vaca a las 73 horas causaron la muerte de la mitad de la población evaluada, en el caso de cicuta pasaron 98 horas, y por último cariaquito tuvo un tiempo de 305 horas. Por lo cual podemos interpretar que, en cuanto a efectividad de cada extracto evaluado, lengua de vaca es mejor causando la muerte de las larvas de *P. xylostella* en menor tiempo en comparación de los otros extractos evaluados.

Para CL_{50} , comparando los resultados obtenidos de los tres extractos para matar el 50% de la población de la prueba, muestran que los extractos acuosos de cicuta fueron de 28.183 mg/l, para los extractos acuosos de lengua de vaca es 7.585 mg/l; mientras que, para los extractos de cariaquito fue de 20.892 mg/l. Estos resultados indican que los extractos de lengua de vaca (*Rumex crispus*) son los más tóxicos para las larvas de *P. xylostella*, ya que a menor CL_{50} , mayor toxicidad en la población probada

Algunas larvas sometidas a los tres tratamientos de los extractos acuosos completaron su desarrollo hasta el estado de pupa; esto sucedió mayormente en el tratamiento de cariaquito el cual presentó los índices de mortalidad más bajos comparado con los otros tratamientos evaluados.

La producción de metabolitos secundarios mediante el uso de extractos acuosos de plantas, ofrecen la posibilidad de producir biocidas de una manera segura, económica y sustentable para los agroecosistemas de hortalizas.

13. Recomendaciones

Se recomienda la continuación del presente trabajo, para avanzar en otros aspectos relevantes como son el uso de extractos a partir de otros órganos de la planta como tallo, fruto, semilla, raíz, flores.

Se deben promover nuevas alternativas para el manejo de las plagas, que sean más amigables con los agroecosistemas

Se sugiere tener un mejor conocimiento asociado a la polilla *P. xylostella*, para dar respuestas a los productores de hortalizas de la zona y como contribuir a la disminución de los daños causados por este insecto.

El uso de extractos acuosos contra *P. xylostella* en cultivos de repollo y otras hortalizas, es recomendable al ser fácil de obtener, biodegradable y económico.

Incentivar a los agricultores en el uso de extractos de plantas, para que sea integrado dentro de los Programas de Manejo Integrado de Plagas.

Se recomienda optar por controles fitoquímicos con extractos de plantas para el control de *P. xylostella*, debido a que esta presenta una alta adaptabilidad y resistencia a las moléculas químicas comerciales, lo que hace que sea más difícil su control en campo.

14. Referencias bibliográficas

- Ali Esmail Al-Snafi. (2016). Revisión de farmacología y toxicología de *Conium Maculatum*- A. El Diario Farmacéutico y Químico 3(2):136-142. Universidad de Thi-Qar.
- Arregui, C., & Sánchez, D. (2010). Manual de horticultura periurbana. Obtenido de I. Bertolaccini; D. Sánchez y C. Arregui: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-manual_de_horticultura_urbana_y_periurbana.pdf
- Brugnoli, E., Masciadri, S. & P. Muniz. (2011). Base de Datos de Especies Exóticas e Invasoras para Uruguay (InBUy). Instituto de Ecología & Ciencias Ambientales Facultad de Ciencias. Universidad de la República de Uruguay.
- Cabi. (2019). *Plutella xylostella*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/42318>
- Cabi. (2021). *Conium maculatum* (cicuta venenosa). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/14820>

- Caroprese et al., (2011). Anatomía microscópica y metabolitos secundarios volátiles en tres estadios del desarrollo de las inflorescencias de *Lantana camara* (Verbenaceae). Rev. biol. trop vol.59 n.1 San José. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia
- Cartay (2020). Cariaquito Morado o Ayamanchana (*Lantana trifolia*). Descripción botánica, usos medicinales y alternativos.
- Carvajal, L. (2011). Actividad insecticida de extractos de *Azadirachta indica* A. Juss. (Neemeliaceae) sobre áfidos plagas en dos cultivos del género *Vigna* (Fabaceae) en el departamento de Córdoba (Colombia). Facultad de Ciencias Básicas.
- Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M. (2009). Revisión: uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. Universidad de Cundinamarca. Fusagasugá.
- Chizzola R., & Lohwasser U., (2020). Diversity of Secondary Metabolites in Roots from *Conium maculatum* L. University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinaerplatz 1, 1210 Vienna, Austria.
- Curis, M., Bertolaccini, I., Lutz, A., Favaro, J. C. (18 de diciembre, 2019). Estado del MIP de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidóptera: plutellidae) en argentina. *FAVE Sección Ciencias Agrarias*, 18(2), 7-18. <https://doi.org/10.14409/fa.v19i2.8780>
- EcuRed. (2012). *Chrysanthemum*. <https://www.ecured.cu/Chrysanthemum>
- Estrada, M. (2017). Extractos vegetales para el manejo de *Plutella xylostella* en cultivo de brócoli *Brassica oleracea* var. Italica. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Soledad de Graciano Sánchez, México.
- Florecido. (2021, 5 enero). Lantana: Distribución, taxonomía, impacto ecológico. <https://florecido.com/c-flores-silvestres/lantana/>
- Gómez et al., (2003). Algunos estudios de alelopatía de *Rumex crispus* L. y *Polygonum segetum* HBK., en Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Cundinamarca, Colombia

- Gualdrón-Panqueva, J., Toloza-Balcucho D y Giraldo-Vanegas H. (2017). Evaluación de extractos de Neem *Azadirachta indica* A. Juss, como repelente e insecticida contra la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae), en la variedad Castillo en la Granja Experimental Villa Marina de la Universidad de Pamplona.
- Hanan, A y Mondragón, J. (2009). Verbenaceae *Lantana trifolia* L. Malezas de México.
- Henao, T. (2019). Evaluación del *Chrysanthemum* sp. variedad Meraki® en cuatro tipos de sustrato. Universidad de Cundinamarca. Facatativá.
- Hotti et al., (2015). Polyketide synthases from poison hemlock (*Conium maculatum* L.). University of Helsinki, Helsinki, Finland
- Loja, B. (2002). Contribución al estudio florístico de la provincia de Concepción, (Junin): dicotiledóneas. Universidad nacional mayor de San Marcos. Lima - Perú.
- Maldonado et al., (2016). Metabolitos antileishmaniales de *Lantana balansae*. Revista Brasileira de Farmacognosia Volumen 26, número 2. Universidad de San Simón, Bolivia.
- Martinez, V. (2011). Efectividad de *Trichoderma* spp. sobre *Puccinia horiana* y respuesta en el crecimiento de *Chrysanthemum morifolium* Var. delano. Universidad Autónoma del Estado de México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/109894>
- Mena, J. y Hernández, J. (2017). Brasicáceas y perspectivas de control biológico del insecto plaga *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) utilizando *Bacillus thuringiensis*. Mutis, 7(2), 7-22, en prensa, doi: <http://dx.doi.org/10.21789/22561498.1245>
- Mexzón, J y Chinchilla, C. (2003). Especies vegetales atrayentes de la entornofauna benéfica en plantaciones de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Costa Rica. v.19, p.1999. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Mhalla et al., (2018). Efecto combinado del extracto de hexano de *Rumex tingitanus* (Polygonaceae) y la endotoxina δ de *Bacillus thuringiensis* contra *Spodoptera*

- littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). BioMed Research International, vol. <https://doi.org/10.1155/2018/3895834>
- Mondragón-Sánchez, Y. D.; Triana-Marroquín, B. S. y Giraldo-Vanegas, H. (2020). Determinación de la mortalidad, la CL₅₀ y el TL₅₀ de extractos acuosos de hojas y semillas de *Azadirachta indica* A. Juss, sobre *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander.
- Mondragón, J. (2009). *Rumex crispus* L. Malezas de México. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/polygonaceae/rumex-crispus/fichas/ficha.htm>
- Moreano, J. (2016). Estudio de seis extractos de plantas amazónicas sobre el insecto *Plutella xylostella* L. en brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica cv. Avenger). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5422>
- Nina. (2021). *Conium maculatum* <https://www.wiki.es-es.nina.az/Cicuta.html#Descripci%C3%B3n>
- Renobales & J. Sallés. (2001). *Conium maculatum*: morfología y ecología. Editor página: JJ. Aberasturi.
- Rivera, M. (2017). Actividad irritante ocular in vitro por el método del het – cam del extracto etanólico de la raíz, tallo y hojas de *Rumex crispus* L. “cuturrumasa”. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima - Perú.
- Rodríguez, D., Sanabria, M., Rodríguez, J. (2006). COMPARACIÓN DEL EFECTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSO Y ETANÓLICO DE *Phyllanthus niruri* ANTE *Phytophthora infestans*. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Venezuela
- Rojas, N. (2019). Uso de dos especies de *Trichogramma* para el manejo de *Plutella xylostella* en cultivos de *Brassica oleracea* y estrategias para potenciar sus resultados. 33 p. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Quillota, Chile.