

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) a extractos acuosos de hojas de sauce llorón  
y eucalipto, bajo condiciones *in vitro*

Cindy Vanessa Álvarez Saldarriaga

Facultad de Ciencias Agrarias,

Programa de Ingeniería Agronómica

2022

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) a extractos acuosos de hojas de sauce llorón  
y eucalipto, bajo condiciones *in vitro*

Cindy Vanessa Álvarez Saldarriaga

1148703148

Trabajo de Grado realizado en la modalidad de investigación presentada como requisito  
parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo

Tutor I. A. Doctor Entomología. Humberto Giraldo Vanegas

Facultad de Ciencias Agrarias

Programa de Ingeniería Agronómica

2022

## **Dedicatoria**

A Dios ha estado conmigo en cada paso que doy, cuidándome, iluminándome, guiándome  
dándome fortaleza y sabiduría para continuar.

A mi padre Manuel Álvarez Julio y mi madre que está en el cielo que me han apoyado y a  
quienes considero como mi segunda madre y padre Luz Mary Parra y Alonso Florez Florez  
que han estado de forma incondicionalmente en el transcurso de mis sueños y metas, por el  
afecto y amor que me demuestran a diario y por los consejos que me forjan para servir a la  
sociedad

A mis hermanos y amigos que han estado para mí en cualquier etapa de mis estudios y mi  
pareja que me ha apoyado en todas mis facetas

## **Agradecimientos**

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.

## Tabla de contenido

Introducción.....	12
<b>Problema y descripción .....</b>	<b>13</b>
1. Planteamiento y descripción del problema.....	14
2. Justificación.....	15
3. Objetivos .....	16
<b>3.1. Objetivo General.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2. Objetivos Específicos .....</b>	<b>16</b>
4. Marco Teórico .....	17
<b>4.1. Antecedentes.....</b>	<b>17</b>
4.1.1. Antecedentes regionales .....	17
4.1.2. Antecedentes nacionales.....	18
4.1.3. Antecedentes internacionales .....	18
<b>4.2. Marco contextual .....</b>	<b>18</b>
<b>4.3. Bases teóricas.....</b>	<b>19</b>
4.3.1. Eucalyptus globulus Labill. ....	20
4.3.1.2. Generalidades y morfología.....	21
4.3.2. Salix humboldtiana Willd. ....	22
4.3.2.2. Generalidades y morfología.....	23
4.3.3. Plutella xylostella (L.). ....	24
<b>4.4. Marco legal .....</b>	<b>28</b>
4.4.1. Ley 9 de 1979: de las sustancias peligrosas -plaguicidas- artículos pirotécnicos. ....	28
4.4.2. Ministerio de salud decreto 775 del 16 de abril de 1990.....	29
4.4.3. Ley 1252 del 2008 .....	29
4.4.4. Capítulo VI. Trabajo de grado .....	29
5. Metodología .....	30

<b>5.1. Tipo de Investigación.....</b>	<b>30</b>
<b>5.2. Diseño Metodológico.....</b>	<b>30</b>
5.2.1. Hipótesis .....	30
5.2.2. Sistema de Variables .....	31
<b>5.3. Diseño de la investigación.....</b>	<b>31</b>
5.3.1. Localización del ensayo .....	31
<b>5.4. Diseño Experimental.....</b>	<b>31</b>
5.4.1. Colecta y Cría masiva de <i>P. xylostella</i> . .....	32
5.4.2. Técnica de Cría de <i>P. xylostella</i> . .....	33
5.4.3. Descripción de las Actividades .....	34
6. Resultados .....	39
<b>6.1. Efecto causado por dos extractos acuosos vegetales sobre la mortalidad de las larvas <i>P. xylostella</i> en condiciones de laboratorio.....</b>	<b>39</b>
6.1.1. Mortalidad de larvas de <i>Plutella xylostella</i> (L.). .....	39
<b>6.2. Determinar la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub> de dos extractos acuosos vegetales sobre larvas <i>P. xylostella</i> bajo condiciones de laboratorio.....</b>	<b>43</b>
6.2.1. Concentración Letal Media (CL <sub>50</sub> ) .....	43
6.2.2. Determinación del Tiempo Letal Medio (TL <sub>50</sub> ). .....	47
Fuente: Autor (2022). .....	50
Conclusiones.....	52
Recomendaciones .....	53
Bibliografía.....	54
7. Anexos.....	58

## Lista de figuras

Figura 1. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.....	20
Figura 2. <i>Salix humboldtiana</i> Willd. ....	22
Figura 3. Distribución mundial de <i>P. xylostella</i> . ....	25
Figura 4. Colecta de <i>P. xylostella</i> , en el huerto de la Normal de Pamplona. ....	32
Figura 5. Colecta de larvas de <i>P. xylostella</i> en campo. ....	33
Figura 6. Pie de cría adultos de <i>P. xylostella</i> . ....	34
Figura 7. Discos de repollo en cajas plásticas para tratamiento. ....	36
Figura 8. Cajas plásticas rotuladas con su respectiva larva. ....	37
Figura 9. Observación de larvas de <i>P. xylostella</i> en cada tratamiento. ....	38
Figura 10. Respuesta en las mortalidades de larvas de <i>P. xylostella</i> , sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) con extractos acuosos de hojas de sauce llorón <i>S. humboldtiana</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	40
Figura 11. Respuesta en las mortalidades de larvas de <i>P. xylostella</i> , sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) de extractos acuosos de hojas de eucalipto <i>E. globulus</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	42
Figura 12. Regresión de la interacción Concentración-Mortalidad para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de sauce llorón <i>S. humboldtiana</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	46
Figura 13. Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de eucalipto <i>E. globulus</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	47
Figura 14. 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 sauce, bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	50
Figura 15. 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 eucalipto, bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	51

## Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. ....	21
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Salix humboldtiana</i> Willd. ....	23
Tabla 3. Taxonomía <i>Plutella xylostella</i> (L.). ....	26
Tabla 4. Prueba de medias de Duncan para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> , en las diferentes concentraciones con los extractos acuosos de sauce llorón <i>S. humboldtiana</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	40
Tabla 5. Prueba de medias de Duncan para los porcentajes de mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> , en las diferentes concentraciones con los extractos acuosos de hojas de eucalipto <i>E. globulus</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	42
Tabla 6. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de sauce llorón <i>S. humboldtiana</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	44
Tabla 7. Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de eucalipto <i>E. globulus</i> , bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....	44
Tabla 8. Concentraciones letales medias (CL <sub>50</sub> ) de los dos extractos acuosos de sauce llorón y eucalipto para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , en condiciones de laboratorio. ....	45
Tabla 9. Tiempo Letal Medio (TL <sub>50</sub> ), en larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de sauce y eucalipto, en condiciones <i>in vitro</i> . ....	49
Tabla 10. Tiempo Letal Medio (TL <sub>50</sub> ), en larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> , sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de sauce y eucalipto, en condiciones <i>in vitro</i> . ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## Lista de anexos

<b>Anexo 1. Instrumento para la toma de datos de Mortalidad de larvas.....</b>	<b>58</b>
<b>Anexo 2. Anova de Mortalidad de los dos extractos acuosos.....</b>	<b>58</b>
<b>Anexo 3. Prueba de Duncan para mortalidad causada por las cinco concentraciones de extractos de sauce llorón.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo 4. Prueba de Duncan para mortalidad causada por las cinco concentraciones de extractos de eucalipto.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo 5. Análisis de Regresión entre Concentración (mg/L) transformado a log<sub>10</sub> y Mortalidad (%) transformada a Probit, de extractos acuosos de hojas de sauce llorón.....</b>	<b>60</b>
<b>Anexo 6. Análisis de Regresión entre Concentración (mg/L) transformado a log<sub>10</sub> y Mortalidad (%) transformada a Probit, de extractos acuosos de hojas de eucalipto.....</b>	<b>60</b>
<b>Anexo 7. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 75.000 mg/L de extractos acuosos de hojas de eucalipto, bajo condiciones <i>in vitro</i>. .....</b>	<b>61</b>
<b>Anexo 8. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 50.000 mg/L de extractos acuosos de hojas de eucalipto, bajo condiciones <i>in vitro</i>. .....</b>	<b>61</b>
<b>Anexo 9. Regresión de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de <i>P. xylostella</i> sometidas a la concentración de 25.000 mg/L de extractos acuosos de hojas de eucalipto, bajo condiciones <i>in vitro</i> .....</b>	<b>62</b>

## Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar la toxicidad de dos 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 (100.000mg/L), (75.000mg/L), (50.000mg/L) y (25.000mg/L) y un testigo el cual no tenía ningún tipo de concentración. Diseño experimental completamente al azar, para los dos 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 los días. Los datos, analizados por medio del Software SPSS y pruebas Tukey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Para calcular la CL<sub>50</sub>, las concentraciones se transformaron a log<sub>10</sub> y las mortalidades a Probit, y con las mortalidades acumuladas de la hora de muerte se encontró el TL<sub>50</sub>, mediante Análisis de Regresión. Se obtuvo que la concentración de 100.000mg/L de extractos acuosos de hojas de sauce causó el 100% de larvas con diferencias significativas; la concentración 100.000mg/L de extractos de Eucalipto con 80% de mortalidad; con diferencias significativas con las otras concentraciones. Las CL<sub>50</sub> determinadas fueron para Sauce 46.250mg/L, para Eucalipto 76.910mg/L, para matar al 50% de la población de larvas del bioensayo. Los TL<sub>50</sub> para los extractos de Sauce en su concentración de 100.000mg/L fue de 61 horas, para los extractos de Eucalipto fue de 102 horas.

**Palabras clave:** polilla dorso de diamante, toxicidad, metabolitos secundarios, *Eucalyptus globulus*, *Salix humboldtiana*.

## Abstract

The objective of this research was to evaluate the toxicity of two plant extracts on second instar larvae of *Plutella xylostella* (L.), under laboratory conditions. For the treatments, the leaf extracts were used at concentrations of (100,000mg/L), (75,000mg/L), (50,000mg/L) and (25,000mg/L) and a control which did not have any type of concentration. Completely randomized experimental design, for the two extracts; each with five concentrations and each concentration with 5 replicates and each replicate with five *P. xylostella* larvae. To obtain the mortality of the larvae or the emergence of moth adults, starting the observations every 12 hours during the course of the days. The data, analyzed by means of the SPSS Software and Duncan tests to determine significant differences between the treatments. To calculate the LC<sub>50</sub>, the concentrations were transformed to log<sub>10</sub> and the mortalities to Probit, and with the accumulated mortalities of the hour of death, the TL<sub>50</sub> was found, by means of Regression Analysis. It was obtained that the concentration of 100,000mg/L of aqueous extracts of willow leaves caused 100% of larvae with significant differences; the concentration 100,000mg/L of *Eucalyptus* extracts with 80% mortality; with significant differences with the other concentrations. The LC<sub>50</sub> determined were for Willow 46.250mg/L, for *Eucalyptus* 76.910mg/L, to kill 50% of the larvae population of the bioassay. The TL<sub>50</sub> for the Willow extracts in its concentration of 100,000mg/L was 61 hours, for the *Eucalyptus* extracts it was 102 hours.

**Keywords:** diamondback moth, toxicity, secondary metabolites, *Eucalyptus globulus*, *Salix humboldtiana*.

## 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 se enmarca como investigación cuantitativa, y su objetivo es encontrar alternativas menos contaminantes en los cultivos de crucíferas principalmente, ya que la polilla dorso de diamante es una plaga primaria, motivo por el cual se probaron extractos acuosos de sauce llorón (*Salix humboldtiana* Willd). y eucalipto

(*Eucalyptus globulus Labill*), como una estrategia de control fitoquímico para ser incluidos en un Manejo Integrado de Plagas para el control de *P. xylostella*.

### **Problema y descripción**

*Plutella xillostella* (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 *Plutella xylostella* , lo que favorece enormemente su integración a un programa de manejo integrado de plagas (Celis et al., 2009).

## **1. Planteamiento y descripción del problema**

En la actualidad el deterioro ambiental y el avance de la calidad de vida de las personas, son dos de los componentes más cruciales que motivan al ser humano a optar por nuevos métodos o procesos de producción de alimentos, ya sea artesanal o industrial, todo esto con un enfoque generalizado de obtener una mejor productividad y comercio, sin embargo en diversos de los casos esto se hace sin tener en cuenta los impactos negativos, que conllevan a generar nuevos problemas asociados a plagas y enfermedades agrícolas cuyas métodos de control como lo es el químico están deteriorando el ecosistema que está alrededor. En la actualidad *Plutella xylostella* (L.) la importancia de esta plaga y su notable capacidad para resistir los insecticidas y difícil de reducir su sensibilidad y por lo tanto se obliga a incrementar el número de aplicaciones y es fundamental que la plaga de diversos cultivos está generando monumentales pérdidas económicas ya que ella adquiere aún más resistencia y así se ocasionan elevados precios de producción y contaminación al medio ambiente por utilizar altos contenidos de producto químicos.

## 2. Justificación

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).

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).

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.

Debido a lo anterior, la finalidad de esta investigación fue comprobar la toxicidad de los extractos acuosos de hojas de *Salix humboldtiana* Willd. y *Eucalyptus globulus*, sobre *P. xylostella*, bajo condiciones *in vitro*.

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.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo General**

Evaluar los extractos acuosos vegetales de *Eucalyptus globulus* Labill y *Salix humboldtiana* Willd, sobre la mortalidad, la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub>, en *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones *in vitro*.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Calcular la mortalidad causada por los extractos acuosos vegetales de *Eucalyptus globulus* Labill y *Salix humboldtiana* Willd., sobre *P. xylostella* en condiciones *in vitro*.
- Determinar la CL<sub>50</sub> y TL<sub>50</sub> de los extractos acuosos vegetales de *Eucalyptus globulus* Labill y *Salix humboldtiana* Willd. sobre *P. xylostella*, bajo condiciones *in vitro*.

## 4. Marco Teórico

### 4.1. Antecedentes

#### 4.1.1. Antecedentes regionales

El trabajo de investigación de Silva-Lizarazo y Giraldo-Vanegas (2018), sobre el ciclo biológico de *Plutella xylostella* (L.) y sus enemigos naturales en Pamplona, Norte de Santander, determinaron que, en las condiciones de Pamplona, *P. xylostella* pasa por cuatro instares larvales con una duración de  $19,54 \pm 2,620$  días, el segundo instar larval ocurre entre el séptimo y el onceavo día, motivo por el cual para el presente ensayo se trabajó con larvas de nueve días, en su segundo instar larval.

Mondragón-Sánchez, et al., (2020); determinaron que la mortalidad, la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub> probando cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas y semillas de *Azadirachta indica* A. Juss, sobre *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio; los extractos acuosos de semillas y hojas a 100.000mg/L causaron el 96% y el 84% de mortalidad. La CL<sub>50</sub>, con extracto acuoso 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 TL<sub>50</sub>, se determinó que la concentración de 100.000mg/L de extractos de semillas fue de 22 horas, mientras que con extractos de hojas fue de 39 horas.

En otro trabajo realizado por Rivera-López y Giraldo-Vanegas, (2022) sobre la susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) probando cinco concentraciones de tres extractos acuosos vegetales, bajo condiciones de laboratorio en Pamplona, Norte de Santander; encontraron que la concentración de 100.000mg/L causó la mortalidad al 100%, 84% y 76% de la población en prueba con los extractos acuosos de hojas de cicuta, lengua de vaca y cariaquito respectivamente. Las CL<sub>50</sub> 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; mientras que el TL<sub>50</sub> con la concentración de 100.000mg/L para los extractos de cicuta 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.

#### **4.1.2. Antecedentes nacionales**

Sáenz (2012), en Colombia trabajo sobre la susceptibilidad de larvas en tercer instar de *Plutella xylostella* (L.) al nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae) probando cinco dosis de juveniles infectivos (JI) (0, 100, 300, 600, 1200 JI/ml/5 larvas, encontró que el porcentaje promedio de mortalidad fue de 95,6%, con un tiempo de mortalidad entre las 48 y 72 horas.

#### **4.1.3. Antecedentes internacionales**

En Perú Bush (2020), realizó ensayos para determinar la mortalidad causada por biopreparados a base de diatomita, caolin y crisantemo para el manejo sostenible de plagas en los cultivos de crucíferas en el Valle de Chilina, Arequipa; determinando la acción neurotóxica de las piretrinas del crisantemo para *Plutella xylostella* (L.) con una DL<sub>50</sub> de 0.2 mg biopreparado/gr insecto y para *Brevicoryne brassicae* (L.) la DL<sub>50</sub> de 1.819 mg biopreparado/gr insecto. Además, concluyó el TL<sub>50</sub> de 28 horas de la *P. xylostella* y de de 30 horas para *B. brassicae*.

Villamil-Montero et al., (2012) estudiaron el efecto insecticida del extracto de semillas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Collaria scenica* (Stal) (Hemiptera: Miridae), en el Departamento de Horticultura, Universidad Estadual Paulista (Brasil). Aplicaron tres concentraciones de extracto etanólicos de semillas sobre ninfas de la chinche de los pastos *C. scenica*. Las tres concentraciones del extracto de semillas de Neem presentaron un efecto negativo sobre el desarrollo de las chinches. El tratamiento más concentrado (250 ppm) fue el más eficaz presentando una mortalidad del 97%, menor número de exuvias y menor número adultos al final del ensayo.

## **4.2. Marco contextual**

Esta investigación se llevó a cabo en el municipio de Pamplona, ubicado en el departamento de Norte de Santander, está situado en las coordenadas de 7° 22' 34" de latitud Norte y a 72°38' 54" de longitud al Oeste de Greenwich, se encuentra situada a 2.586 msnm. Pamplona, limita al Norte con Pamplonita y Cucutilla, al sur con los municipios de Cácuta y Mutiscua, al oriente con Labateca y al occidente con Cucutilla. Su extensión territorial

total es de 456 Km<sup>2</sup>, con 76. 983 habitantes aproximadamente. Y su temperatura promedio de 14 a 16°C. Su economía está basada en la gastronomía, la agricultura, el turismo (especialmente el turismo religioso) y la educación.

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Sanidad Vegetal ubicado en la Universidad de Pamplona, a 7° 23' 14" de latitud Norte y a 72°39' 1" de longitud al Oeste de Greenwich, a una altura de 2480 metros sobre el nivel del mar el cual cuenta con una temperatura promedio de 17 °C y 65% de humedad relativa.

#### 4.3. Bases teóricas

*Plutella xylostella* (L.), causa daños a los cultivos en su estado larval, se considera una de las plagas más influyentes en Centro América, se alimenta las coles en las que se encuentra el repollo (*B. oleracea* var. capitata), coliflor (*B. oleracea* var. botrytis), brócoli (*B. oleracea* var italica), rábano (*R. sativus*), nabo (*B. rapa* var. pekinensis), col de Bruselas (*B. oleracea* var. gemminifera), mostaza (*B. juncea*) y colza (Talenkar y Shelton, 1993; Martínez, 2013).

Numerosos trabajos científicos presentan evidencias en relación al efecto antifúngico de extractos vegetales y aceites esenciales de especies del género *Eucalyptus* spp. El aceite esencial de eucalipto posee un amplio espectro de actividades biológicas, incluyendo antimicrobiana, antifúngica, insecticida, repelente, herbicida, acaricida y nematocida (Cazar et al., 2014).

Miyamoto et al., (2009) evaluaron la genotoxicidad del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill, contra una cepa diploide de *Aspergillus nidulans* (Eidam), encontrando metabolitos secundarios como alcaloides, lactonas y/o cumarinas, fenoles y/o taninos, flavonoides, quinonas; mientras que en el aceite esencial hallaron eucaliptol, a-pineno (8,9), f3-pineno (1,5), globulol (6,9), a-eudesmol (1,12), spathulenol (1,42), y-cadineno (1,45), trans-f3-elemenone (1 ,23) y aromandendrene.

Rodríguez (1996), sugiere que la recolecta de la planta, para preparar insecticidas, debe hacerse racionalmente, debido a que es un recurso natural, y no se debe explotar irracionalmente. prefiriendo utilizar las especies más abundantes y mejor distribuidas, dejando siempre material para su regeneración y persistencia en el ecosistema, por lo cual

menciona que se puede emplear la corteza y el tallo del sauce (*Salix humboldtiana* Willd.) para dicho fin (Díaz & Orellana, 2000).

Las plantas pertenecientes al género *Salix* contienen salicósidos, (glucósido-fenoles), como la salicina (su principio activo), de donde se aisló el ácido salicílico, después obtenido en forma sintética y con el que se fabrica el medicamento llamado Aspirina®, que tiene gran diversidad de aplicaciones medicinales. Igualmente poseen otros compuestos como aceites esenciales y los metabolitos secundarios como alcaloides, cumarinas, esteroides, fenoles, flavonoides (flavonas, flavonoles, flavanonas, chalconas e isoflavonoides), glucósidos, gomas, iridoides, lignanos, mucílagos, pectinas, quinonas (antraciclinoas, antraquinonas, benzoquinonas, naftoquinonas, saponinas, taninos, terpenos (mono, di, tri y sesquiterpenos (Weizel-Bucay, 2010).

#### **4.3.1. *Eucalyptus globulus* Labill.**



Figura 1. *Eucalyptus globulus* Labill

Fuente: Autor

##### **4.3.1.1. Origen y distribución**

El *Eucalyptus globulus* Labill. es originario de la zona este, sureste y pequeñas áreas de la costa oeste de Tasmania, así como de las islas del estrecho de Bass y en el sur de Victoria, Australia. Esta especie se encuentra entre las diez especies más plantadas en zonas templadas del mundo, superando los 2,3 millones de hectáreas. Este eucalipto está presente en más de 90 países, la mayoría en zonas tropicales y subtropicales, existen plantaciones de

gran productividad industrial en zonas templadas como Nueva Zelanda, Chile, Argentina, Brasil, Uruguay, Sudáfrica, la Península Ibérica y Estados Unidos (Castellanos et al., 2019).

La especie se desarrolla en climas templados y fríos, con temperaturas máximas de 20 a 23°C y mínimas de 0 a 8 °C, bajo condiciones húmedas y subhúmedas, y con un régimen de precipitaciones principalmente invernales del entorno entre los 600 y 1400 mm. Es una especie que presenta buen desarrollo radicular y vegetativo, en suelos de textura limosa a arcillosa asociados a un buen drenaje (Esquivel, 2022).

#### 4.3.1.2. Generalidades y morfología

Árboles perennifolios que con normalidad alcanzan los 30 – 50 m. de altura. La corteza es de color gris, persistente en la base y se desprende en el resto del tronco en largas fajas longitudinales. Presentan hojas de dos tipos: Las hojas juveniles son opuestas, ovales y sésiles. Mientras que las hojas adultas son pecioladas, alternas, falcadas y acuminadas, con el nervio central. Las hojas tienen de 10 a 20 cm de largo. Poseen numerosas glándulas productoras de aceites esenciales. Las flores son blancas, generalmente solitarias, en las axilas de las ramas superiores, son grandes, tetrámeras, con cáliz y corola fusionados formando el opérculo. Que se cae en la floración, dejando al descubierto un elevado número de estambres de color cremoso claro, muy vistosos, florece durante el otoño y el invierno. Es cultivado por su madera en las regiones que cuentan con inviernos suaves, sobre todo en las regiones costeras atlánticas y cantábricas (Castellanos et al., 2019).

#### 4.3.1.3. Clasificación y descripción botánica

La ubicación taxonómica del eucalipto se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica *Eucalyptus globulus* Labill.

TAXONOMÍA	NOMBRE
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta

Clase	Magnolipsida
Orden	Myrtales
Familia	Myraceae
Género	<i>Eucalyptus</i>
Especie	<i>Eucalyptus globulus</i>

---

Fuente: Bernachea (2019).

Es un árbol perennifolio que puede alcanzar los 30 a 50 m de altura, La forma del tronco va desde recto en rodales densos hasta helicoidal en árboles aislados, Su corteza es áspera, gris y persistente en la base, 85 desprendiéndose en el resto del tronco en largas fajas. Tiene hojas de dos tipos: en las plantas jóvenes o en ramas que brotan de la cepa son opuestas, ovales y sésiles, mientras que en los árboles crecidos se hacen alternas, más o menos coriáceas, con un limbo asimétrico en forma de hoz (falciforme), pecioladas y colgantes (el árbol da poca sombra). Las flores, solitarias en las axilas de las ramas superiores, son grandes, tetrámeras, con cáliz y corola fusionados formando una tapadera (opérculo) leñosa, que se cae en la floración, dejando al descubierto un elevado número de estambres con filamentos de color cremoso claro, muy vistosos (Bernachea, 2019).

#### 4.3.2. *Salix humboldtiana* Willd.



**Figura 2.** *Salix humboldtiana* Willd.

Fuente: Autor

#### 4.3.2.1. Origen y distribución

Es vulgarmente conocido como “sauce criollo” o “sauce llorón”, es la única especie de sauce nativa de América del Sur. Esta especie, presenta diversos usos: maderero, medicinal, ornamental, forrajera para ganado, melífera y para restauración de zonas ribereñas erosionadas. Sin embargo, debido a la presencia de especies exóticas de sauces introducidas en su área de distribución natural, y a la fácil hibridación con las mismas amenazan la persistencia de la información genética del sauce nativo (Pomponio et al., 2019).

#### 4.3.2.2. Generalidades y morfología

*Salix humboldtiana* Willd. es un árbol sucesional temprano en ambientes riparios de zonas húmedas y semiáridas. En la región tropical tiende a ser reemplazado por árboles tolerantes a la sombra, mientras que en la templada no. El régimen hidrológico regula la sucesión, a través del cual se forman bancos que promueven la colonización durante la fase de sedimentación, que se erosionan eliminando la vegetación durante la fase de inundación (Dezzoti et al., 2020).

Su descripción botánica engloba, que es un árbol caducifolio y tiene hojas lanceoladas de hasta 15 cm de largo, un tallo grueso que proporciona madera blanca liviana y blanda cuenta con una inflorescencia en amentos péndulos (Pérez, 2018).

#### 4.3.2.3. Clasificación y descripción botánica

En la Tabla 2, se observa la clasificación taxonómica del sauce llorón.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Salix humboldtiana* Willd.

TAXONOMÍA	NOMBRE
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnolipsida

Orden	Dinellidas
Familia	Salicales
Género	<i>Salix</i>
Especie	<i>Salix humboldtiana</i> Willd.

---

Fuente: Pérez (2018).

Árbol grande dioico de hasta 20 m de altura con un diámetro de tronco de hasta más de 1 m, con corteza muy rugosa. Dosel con ramas principales ascendentes, erectas o inclinadas verticalmente y pueden ser no ramificadas durante los primeros 12 m. Las ramas del año anterior son de color marrón rojizo y llevan ramas del año, alternas, cortas, terminando en amentos masculinos o femeninos, con hojas lanceoladas, de hasta 10 cm de longitud, por menos de 1 cm de ancho, glabras, de color verde claro. Las ramas del año son cortas, rojizas en los especímenes masculinos y verde oscuro en las femeninas, con hojas fuertemente aserradas, linear-lanceoladas. Inflorescencia en amentos de 5 a 7 cm de largo al final de las ramas. Amentos femeninos de 3 a 7 cm de largo hasta 1 cm de ancho, con raquis con pelos escasos. Ovario de 4 a 5 mm de largo con pedúnculo largo, tres cuartas partes de la escala. Escama lanceolada con costilla marcada cuando está seca, marrón claro y con márgenes ciliados. Estigma divergente posterior, con un nectario al pedúnculo del ovario, truncado en el ápice. Los amentos masculinos son cortos, largos 2,5-5 cm, con raquis peludos al final de las ramitas del año, con flores masculinas formadas por cinco a ocho estambres con los filamentos peludos en la base, estambres unidos en la base muy peludos, anchos, ovalados, acumulados, glabros en la cara inferior, peludos en la parte superior y ciliadas largas en sus márgenes. Con dos nectarios rojizos algo desplazados verticalmente. El fruto es una cápsula ovoide oscura, de 4 a 5 mm de largo, con numerosas semillas peludas muy pequeñas y largas (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas, 2020).

#### 4.3.3. *Plutella xylostella* (L.).

##### 4.3.3.1. Origen y distribución de *Plutella xylostella* (L.).

*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 (Figura 3).



Figura 3. Distribución mundial de *P. xylostella*.

Fuente: CABI (2019).

#### **4.3.3.2. Descripción**

Los huevos son de manera ovalada, de color amarillo y miden alrededor de 0.5 mm. Luego de la eclosión, la larva de primer instar tiene un color amarillo pálido, con la cápsula cefálica oscura. Las larvas de estadios siguientes van adquiriendo un color verde claro el cual se hace más fuerte con el desarrollo; el último par de erróneas patas está separado extensamente conformando una V invertida, convirtiéndose ésta en una característica eficaz para su identificación. La pupa mide 0.5-0.6 centímetros de longitud y es de color verde claro (Muñiz, 2013).

#### 4.3.3.3. Taxonomía de *Plutella xylostella* (L.)

La ubicación taxonómica de *Plutella xylostella* (L.), se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Taxonomía *Plutella xylostella* (L.).

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).

#### Morfología y biología

Luego de la eclosión de los huevecillos, las larvas inician rápidamente su ingesta de alimentos en el follaje; generalmente las larvas de primer y el segundo instar minan las capas cerosas epidérmicas de las hojas, consumiendo los tejidos del mesófilo esponjoso (Pérez, 2013).

Las de tercer y cuarto instar se alimentan por el envés, consumiendo toda la lámina foliar, excepto la capa cerosa del haz, construyendo con esto pequeñas ventanas en las hojas (Martínez, 2013).

A lo largo del estado de pre pupa la larva teje un cocón blanco dentro del cual se transforma en pupa; esta composición la adhieren firmemente a diferentes piezas de la planta. Las pupas tardan entre 5 y 13 días para convertirse en adultos dependiendo de la temperatura (Martínez, 2013).

El periodo biológico de la palomilla dorso de diamante de 19 a 28 días, la cual pasa por los estadios biológicos de huevecillo, larva, pupa y adulta. (Arregui & Sánchez, 2010).

#### **4.3.3.4. Ciclo biológico**

Silva-Lizarazo y Giraldo-Vanegas (2018), realizaron el ciclo biológico y su comportamiento en las condiciones climáticas de Pamplona (Colombia), encontrando su ciclo completo desde su estado de huevo hasta que se obtiene los adultos, es el siguiente:

#### **4.3.3.5. Huevo**

Su ovoposición es de manera agrupada entre 3 y 5 huevos en el envés de las hojas de repollo, son de color verde amarillentos una vez que están recién ovipuestos, después cambian a un tono más oscuro en su maduración. Se vio que la eclosión de los huevos se registró en su mayoría, un 95% en horas de la mañana a partir de las 8:00 hasta las 11:00 de la mañana

#### **4.3.3.6. Larvas**

Recién emergida la larva I, es de color cremoso pálido, más adelante se oscurece un poco con un punto negro en el extremo correspondiente a la cabeza lo cual es bastante resaltante. La larva es segmentada en todo su cuerpo humano con todos sus espiráculos poco visibles, todo el cuerpo humano con pequeñas vellosidades de color negro. Por otro lado, en larva 3, su cuerpo es más desarrollado tornando de color grisáceo a verdusco pálido, es segmentada en todo su cuerpo humano cubiertos en su integridad de espiráculos más marcados y visibles los cuales tienen dentro pequeñas vellosidades de color negro.

#### **4.3.3.7. Pupa**

La formación de la pupa la ejecuta finalizando el cuarto instar larval, la cual se envuelve con un tenue capullo de seda blanquecino cubriéndose en su integridad, por medio del cual puede verse la pupa de tipo obtecta. Este capullo se adhiere tanto en el haz como en el envés de la hoja lo cual se hace difícil moverlos.

#### **4.3.3.8. El adulto de *P. xylostella***

Se reconocen al inicio por su tonalidad blanca cremosa en el dorso, dando forma de zig zag parecido a un diamante que da origen a su nombre común. El macho a diferencia de la hembra, no se le distingue bien en el dorso la figura de diamante. Referente a la longevidad de los adultos, Su duración promedio ha sido de  $18,48 \pm 5,124$  días, con una duración total en su periodo de vida de 57,06 días.

#### **4.4. Marco legal**

##### **4.4.1. Ley 9 de 1979: de las sustancias peligrosas -plaguicidas- artículos pirotécnicos.**

**Artículo 130°**- El ministerio de salud acordó una reglamentación en la importación, fabricación, almacenamiento, transporte y comercio se sustancias de riesgo deberán tomarse todas las medidas prevención

##### **Plaguicidas.**

**Artículo 136°**.- 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°**.- las autoridades de agricultura disponen el cumplimiento destinado al uso agropecuario de tales productos que tengan las normas establecidas por el ministerio de salud para plaguicidas

**Artículo 139°**.- Una vez que la experimentación con dichos productos logre provocar mal a la salud de los trabajadores, poblacional o del ambiente tal actividad debería someterse a la vigilancia de las autoridades de salud, las cuales exigirán la adopción de las medidas correctas para prevenir o remediar tales perjuicios.

**Artículo 144°**.- Los establecimientos donde se manipule plaguicidas, así como los procedentes de aplicación no deberán ser vertidos directamente a cursos o reservorios de agua, al suelo o al aire.

#### **4.4.2. 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 deterioro ambiental y el control y la vigilancia epidemiológica en el uso o manejo de plaguicidas deberán efectuarse para poder evitar que afecte la salud de la comunidad.

**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.

#### **4.4.3. Ley 1252 del 2008**

##### **ARTÍCULO 2°. Principios.**

- Minimizar la generación de residuos peligrosos por medio de la aplicación de tecnologías ambientalmente limpias y la utilización de los planes integrales de residuos peligrosos.

- Prohibir la generación, almacenamiento o supresión de residuos o desperdicios peligrosos en ecosistemas estratégicos o relevantes del territorio, en superficies protegidas o de sensible afectación ecológica, regiones de predominación de humedales o regiones de custodia, o recarga hídrica dulce o en océanos u mares.

- Ejercer una política de producción más limpia como táctica empresarial, para crear una conciencia y responsabilidad social que integre el trabajo grupo entre el Estado, la compañía, la academia y la sociedad para su diseño y ejecución, que involucre la información pública como pilar de la administración integral de los residuos peligrosos.

#### **4.4.4. Capítulo VI. Trabajo de grado**

Este proyecto de investigación regida por la universidad de Pamplona la cual reglamenta las modalidades de trabajo de grado y en este caso se toma en cuenta las normas de trabajo de investigación No.186 del 02 de diciembre de 2005 Por el cual compila y actualiza el Reglamento Académico Estudiantil de Pregrado.

### **Artículo 35.- Definición de Trabajo de Grado**

La universidad de Pamplona establece como requisito para la obtención del título profesional la realización de un trabajo especial que se denomina “TRABAJO DE GRADO”.

PARÁGRAFO PRIMERO. - El Trabajo de Nivel, según sus propiedades podría ser llevado a cabo en forma personal o en conjunto.

PARÁGRAFO SEGUNDO. - “El Trabajo de Nivel se va a poder matricular desde el 8º. El Trabajo de Nivel debería sustentarse frente a un Jurado, formado por 3 (3) personas conocedoras del asunto y puede recibir como calificación: “Aprobado”, “Excelente” o “Incompleto”, una vez que no cumpla con los metas propuestos en la modalidad en la cual se adelanta, en tal caso, el alumno tendrá que matricularlo nuevamente en el semestre académico siguiente.

**Artículo 36.-** Posibilidades de Trabajo de Nivel: El Trabajo de Nivel, puede realizarse en las próximas maneras.

Para los alumnos que se acojan a esta forma, tendrá que exponer al Director de Departamento el anteproyecto que debería contener: iniciativa para la colaboración en una línea de indagación reconocida por la Universidad, tutor responsable del Trabajo de Nivel y cronograma, anterior análisis y asentimiento de la misma, del respectivo Conjunto de Averiguación.

## **5. Metodología**

### **5.1. Tipo de Investigación**

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

### **5.2. Diseño Metodológico**

#### **5.2.1. Hipótesis**

En condiciones naturales es posible encontrar metabolitos secundarios de plantas locales, las cuales pueden ser evaluadas a nivel de laboratorio como posibles agentes de control fitoquímico contra *Plutella xylostella* (L.).

Hipótesis Nula: Todos los Tratamientos tienen un efecto igual.

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

### **5.2.2. Sistema de Variables**

#### **5.2.2.1. Variables Cuantitativas Continuas**

Variables dependientes

- a. Porcentajes de Mortalidad.
- b. Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>).
- c. Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>).

Variables independientes

- a. Concentraciones de los extractos acuosos de *Salix humboldtiana* Willd. y *Eucalyptus globulus* Labill.

### **5.3. Diseño de la investigación**

#### **5.3.1. 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.

### **5.4. Diseño Experimental**

El Diseño Experimental fue 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 1), de tal manera que se necesitaron de 125 unidades experimentales (larvas) en cada extracto, para un total de 250 larvas de segundo instar (L<sub>2</sub>) para los dos extractos. 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 L<sub>2</sub> de *P. xylostella*.

Las concentraciones de cada extracto se prepararon a partir de una concentración inicial de 100.000 mg/L, para cada uno de los dos 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 dos extractos acuosos tuvo cuatro concentraciones y un testigo Absoluto, los cuales fueron:

100% (100.000 mg/L) o (100 mg/mL)

75% (75.000 mg/L) o (75 mg/mL)

50% (50.000 mg/L) o (50 mg/mL)

25% (25.000 mg/L) o (25 mg/mL)

0% Testigo absoluto (hojas sumergidas en agua estéril)

#### **5.4.1. 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 de Pamplona, en horarios diurnos, se utilizando una lupa entomológica de 30X de aumento para mejorar la búsqueda (Figura 4).



**Figura 4.** Colecta de *P. xylostella*, en el huerto de la Normal Superior de Pamplona.

Fuente. Autor

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 5), depositándolos en frascos plásticos con la misma característica de los recipientes anteriores, en la tapa; siendo transportados al Laboratorio para empezar su cría masiva (Mondragón-Sánchez et al., 2020).



**Figura 5.** Colecta de larvas de *P. xylostella* en campo.

Fuente. Autor

#### **5.4.2. 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 6). 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 (Silva-Lizarazo y Giraldo-Vanegas, 2018). 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 recuperaban todos los días de las hojas de repollo de los recipientes donde se encontraban 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 250 larvas, y poder iniciar el experimento.



Figura 6. Pie de cría adultos de *P. xylostella*.

Fuente: Autor

### 5.4.3. Descripción de las Actividades

#### 5.4.3.1. Preparación de los extractos acuosos de *S. humboldtiana* y *E. globulus*, bajo condiciones de laboratorio.

Las plantas de *S. humboldtiana* y *E. globulus*, se colectaron en las áreas rurales de Pamplona, Norte de Santander, siendo llevadas al Laboratorio de Sanidad Vegetal del Programa de Ingeniería Agronómica. Se procedió hacerles un lavado, para luego dejarlas secar a la sombra. Para realizar los extractos acuosos se trituraron 200 gramos de hojas y se

depositaron en dos litros de agua con pH 7.0. Las hojas se maceraron en recipientes plásticos y se dejaron en fermentación durante 48 horas.

Cumplidas las 48 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 y al testigo, 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; Rivera-López y Giraldo-Vanegas, 2022).

#### **5.4.3.2. Determinación la mortalidad de *P. xylostella*, causada por extractos acuosos de *S. humboldtiana* y *E. globulus*, 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, aproximadamente a los nueve días de edad (Silva-Lizarazo y 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 (0 mg/L). 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 las larvas de *P. xylostella* en cada caja (Figura 7), estas larvas tenían una edad de nueve días (L<sub>2</sub>).



**Figura 7.** Discos de repollo en cajas plásticas para tratamiento.

Fuente: Autor

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 inicio del ensayo (Figura 8).



**Figura 8.** Cajas plásticas rotuladas con su respectiva larva.

Fuente: Autor

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 era 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 7). 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. 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 9.** Observación de larvas de *P. xylostella* en cada tratamiento.

Fuente: Autor

#### **5.4.3.3. Cálculo de la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub> causada por extractos acuosos de *S. humboldtiana* y *E. globulus*, bajo condiciones de laboratorio.**

Para determinar la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub>, se tomaron datos de muerte cada 12 horas hasta las 96 horas de exposición de las larvas, sin cambiar los discos tratados, ya que, dentro del concepto de la CL<sub>50</sub>, 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*.

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 transformaron a  $\sqrt{x + 0,5}$  para normalizar los datos y realizar 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  $p \leq 0,05$ .

Los parámetros de CL<sub>50</sub> se determinarán con un Análisis Probit, transformando las cinco concentraciones de cada extracto a log<sub>10</sub> y las mortalidades se transformaron a Probit. Se realizó un análisis de regresión simple para determinar la relación entre la mortalidad y la concentración, lo que permitió construir la respuesta concentración-efecto. Para cada concentración, en cada uno de los dos extractos, que es la base para la determinación de la

CL<sub>50</sub>. 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 (TL<sub>50</sub>) para cada concentración en los dos extractos.

## **6. Resultados**

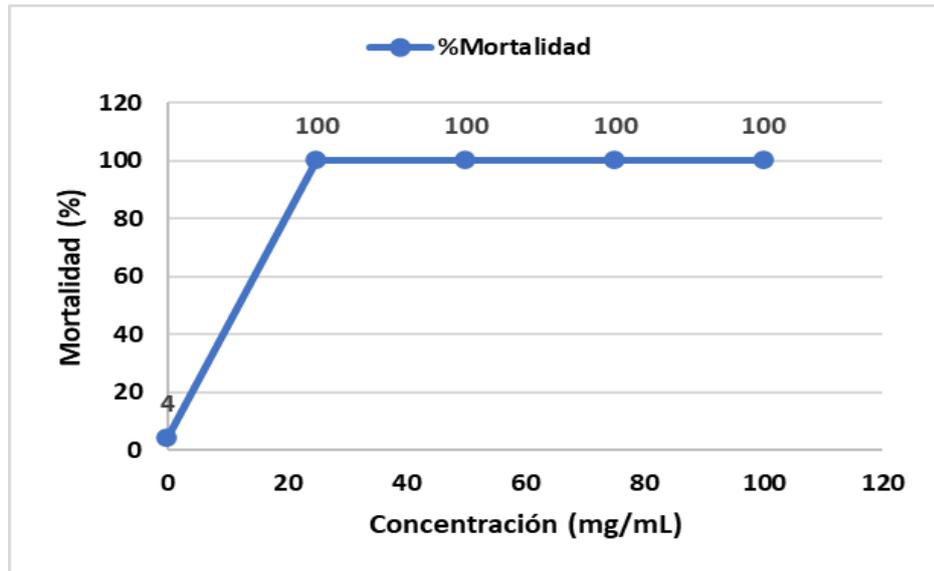
Las plantas utilizadas en el presente bioensayo fueron determinadas como *Salix humboldtiana* Willd y *Eucalyptus globulus* Labill., por el botánico Luis Roberto Sánchez Montaña, director del Herbario Catatumbo Sarare de la Universidad de Pamplona.

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

#### **6.1.1. Mortalidad de larvas de *Plutella xylostella* (L.).**

##### **6.1.1.1. Extractos acuosos de sauce llorón *Salix humboldtiana* Willd.**

En la Figura 10, se puede apreciar la respuesta en las mortalidades de larvas de segundo instar larval de *P. xylostella* sometida a cinco concentraciones de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*; en donde las concentraciones de 100, 75, 50 y 25 mg/mL, causan el 100% de mortalidad a la población del ensayo, mientras que el testigo solamente presentó una mortalidad de 4%.



**Figura 10.** Respuesta en las mortalidades de larvas de *P. xylostella*, sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) con extractos acuosos de hojas de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*.

Fuente: Autor

Las mortalidades de larvas de *P. xylostella* fueron transformadas a  $\sqrt{x + 0,5}$  y una vez realizados los Anova simples y la Comparación de Medias con la Prueba de Duncan (Anexos 2, 3, 4), todas las cuatro concentraciones con extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana* causaron el 100% de mortalidad, detectándose diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) con el testigo con 4% de mortalidad (Tabla 4).

**Tabla 4.** Prueba de medias de Duncan para los porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, en las diferentes concentraciones con los extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/mL)	N	Mortalidad (%)	Mortalidad ( $\sqrt{x + 0,5}$ )
100	5	100	10,02 a
75	5	100	10,02 a
50	5	100	10,02 a
25	5	100	10,02 a
0	5	4	1,47 b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Mortalidad transformada ( $\sqrt{x + 0,5}$ ).

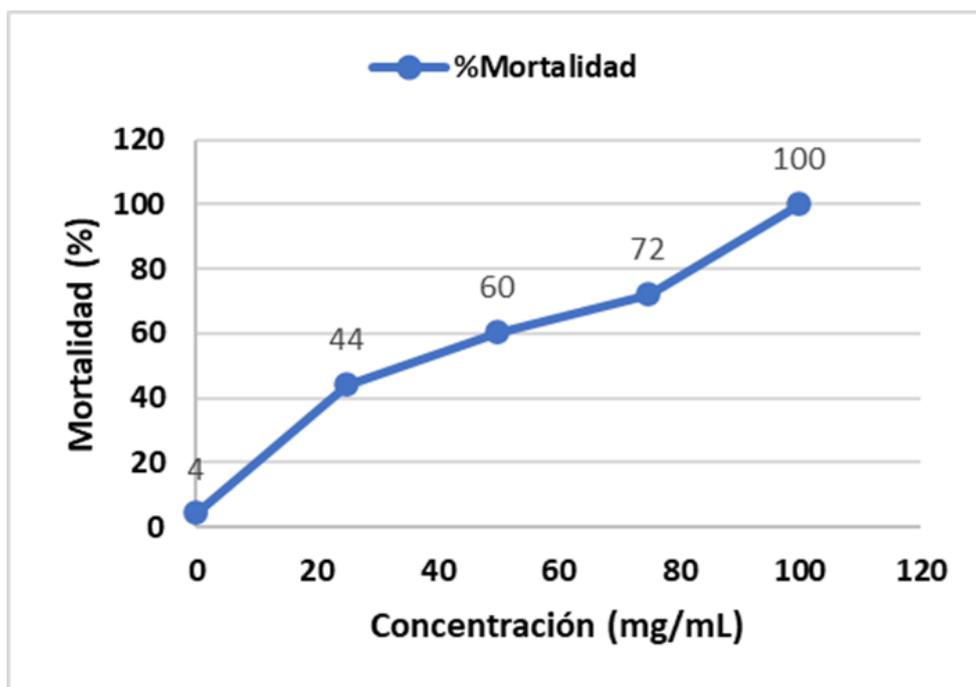
Fuente: Autor

Respecto a esta variable observada en los resultados mencionados, cabe destacar que en otros estudios como el formulado por los autores Descamps y Sánchez (2019), en el que se evalúa la mortalidad de *P. xylostella* con extractos acuosos provenientes de *Tagetes terniflora* Kunth se obtuvo un 44% de mortalidad en la concentración máxima, mientras que el *A. polystachya* fue el más efectivo ( $p < 0,05$ ), ya que generó un porcentaje de mortalidad entre el 66 % al 77 % a todas las concentraciones evaluadas.

Mondragón-Sánchez et al., (2020), determinaron que concentraciones de 100.000mg/l, de extracto de semillas de *A. indica*, lograron el 96% de mortalidad de larvas de segundo instar larval de *P. xylostella*; mientras con hojas de *A. indica* lograron mortalidades del 84%. Así mismo, Rivera-López y Giraldo-Vanegas (2022), trabajando con concentraciones de 100.000mg/l de extractos acuosos de hojas de cicuta, lengua de vaca y cariaquito lograron mortalidades de 100%, 84% y 76%, respectivamente. Sin embargo, con *S. humboldtiana*, evaluado en el presente trabajo se obtuvo el 100% de mortalidad en todas las concentraciones aplicadas, demostrando mayor eficacia frente a las otras especies.

#### **6.1.1.2. Extractos acuosos de *Eucalyptus globulus* Labill**

La dinámica de la mortalidad causada por las cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de eucalipto *E. globulus* a larvas de segundo instar de *P. xylostella* se puede apreciar en la Figura 11, notándose que la mortalidad de las larvas va aumentando con el incremento de la concentración, desde 44% de mortalidad en la concentración de 25 mg/mL hasta el 100% de mortalidad causada por la concentración de 100 mg/mL.



**Figura 11.** Respuesta en las mortalidades de larvas de *P. xylostella*, sometidas a los diferentes tratamientos (concentraciones) de extractos acuosos de hojas de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*.

Fuente: Autor

En la Tabla 5, 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 hojas de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*, detectándose cinco grupos con diferencias significativas; así, la concentración de 100 mg/mL causó la mortalidad al 100% de las larvas; el segundo grupo con la concentración de 75 mg/mL mató el 72% de las larvas; el tercer grupo con concentración de 50 mg/mL causó el 60% de mortalidad; el cuarto grupo con la concentración de 25 mg/mL causó el 44% de mortalidad; mientras que el testigo tuvo una mortalidad de 4%.

**Tabla 5.** Prueba de medias de Duncan para los porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, en las diferentes concentraciones con los extractos acuosos de hojas de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/mL)	N	Mortalidad (%)	Mortalidad ( $\sqrt{x + 0,5}$ )
--------------------------	---	-------------------	------------------------------------

100	5	100	10,02 <b>a</b>
75	5	72	8,49 <b>b</b>
50	5	60	7,78 <b>bc</b>
25	5	44	6,56 <b>c</b>
0	5	4	1,47 <b>d</b>

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

Fuente: Autor

A diferencia del resultado anterior, con *E. globulus* se obtuvo 100% de mortalidad solamente en la concentración más alta aplicada. Sin embargo, según Lóez et al., (2022) los extractos obtenidos de la cubierta de la semilla de *J. curcas* asperjados a concentraciones de 5% y 15% causaron una mortalidad de 100% y 60% en larvas de *P. xylostella*, demostrando mayor eficacia que *E. globulus*.

**Determinar la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub> de dos extractos acuosos vegetales sobre larvas *P. xylostella* bajo condiciones de laboratorio.**

### **6.1.2. Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>)**

La CL<sub>50</sub> 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 CL<sub>50</sub> es una forma de medir el envenenamiento potencial a corto plazo (toxicidad aguda) de un material. Cabe destacar que la CL<sub>50</sub> mide la concentración letal, pero no otros efectos secundarios graves, pero no letales.

Trevan (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 CL<sub>50</sub> 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 CL<sub>50</sub>.

### 6.1.2.1. Sauce llorón *S. humboldtiana*.

En la Tabla 6, se presentan los datos de mortalidad transformados a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*.

**Tabla 6.** Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/L)	Concentración (log10)	Mortalidad (%)	Mortalidad (Probit)
100.000	5,00	100	8,09
75.000	4,87	100	8,09
50.000	4,70	100	8,09
25.000	4,39	100	8,09
0	0,00	4	3,25

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

Fuente: Autor

### 6.1.2.2. Eucalipto *E. globulus*.

Los datos de mortalidad transformados a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*, son presentados en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Mortalidades transformadas a Probit y las concentraciones transformadas a log10, para los extractos acuosos de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/L)	Concentración (log10)	Mortalidad (%)	Mortalidad (Probit)
100.000	5,00	100	8,09
75.000	4,87	72	5,58
50.000	4,70	60	5,25
25.000	4,39	44	4,85
0	0,00	4	3,25

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

Fuente: Autor

### Determinación de la CL<sub>50</sub>

Una vez realizadas las Pruebas Probit con los datos transformados, se encontraron las Ecuaciones de Regresión, los Coeficientes de Determinación (R<sup>2</sup>) y las Concentraciones Letales Medias (CL<sub>50</sub>), para cada extracto acuoso de hojas de sauce llorón *S. humboldtiana* y eucalipto *E. globolus* (Anexos 5, 6).

Los resultados obtenidos en las pruebas para encontrar la CL<sub>50</sub>, arrojaron que la CL<sub>50</sub> para los extractos acuosos de *S. humboldtiana* es 46.250 mg/L, para matar el 50% de la población de la prueba; mientras que la CL<sub>50</sub> para los extractos de *E. globolus* fue de 76.910 mg/L (Tabla 8). Estos resultados indican que los extractos de sauce llorón *S. humboldtiana* son los más tóxicos para las larvas de *P. xylostella*, ya que a menor CL<sub>50</sub>, mayor toxicidad en la población probada.

Otros autores como Mondragón-Sánchez et al., (2020), trabajando con larvas de *P. xylostella* de segundo instar encontraron que la CL<sub>50</sub>, en el caso de los tratamientos con extracto de semilla de *A. indica* fue de 37.000 mg/L y de los tratamientos con extracto de hoja fue de 57.250 mg/L. Mientras que Rivera-López y Giraldo-Vanegas (2022), también trabajando con larvas de segundo instar de *P. xylostella* determinaron las CL<sub>50</sub> 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.

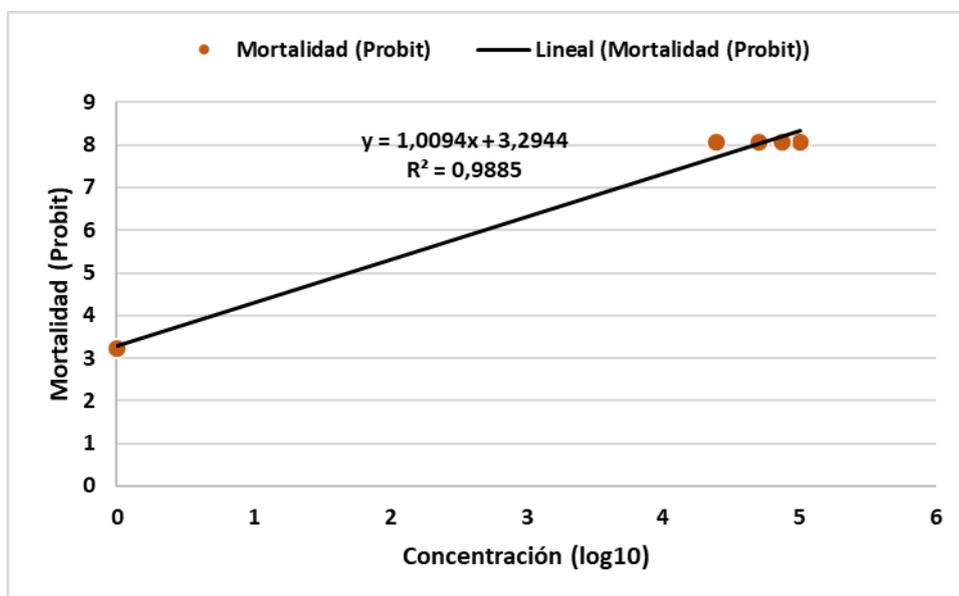
Tabla 8. Concentraciones letales medias (CL<sub>50</sub>) de los dos extractos acuosos de sauce llorón y eucalipto para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio.

Extracto Acuoso	Ecuación Regresión	R <sup>2</sup>	CL <sub>50</sub> (mg/L)
<i>S. humboldtiana</i>	y=1,01x + 3,29	0,99	46.250
<i>E. globolus</i>	y=0,61x + 3,08	0,56	76.910

Fuente: Autor

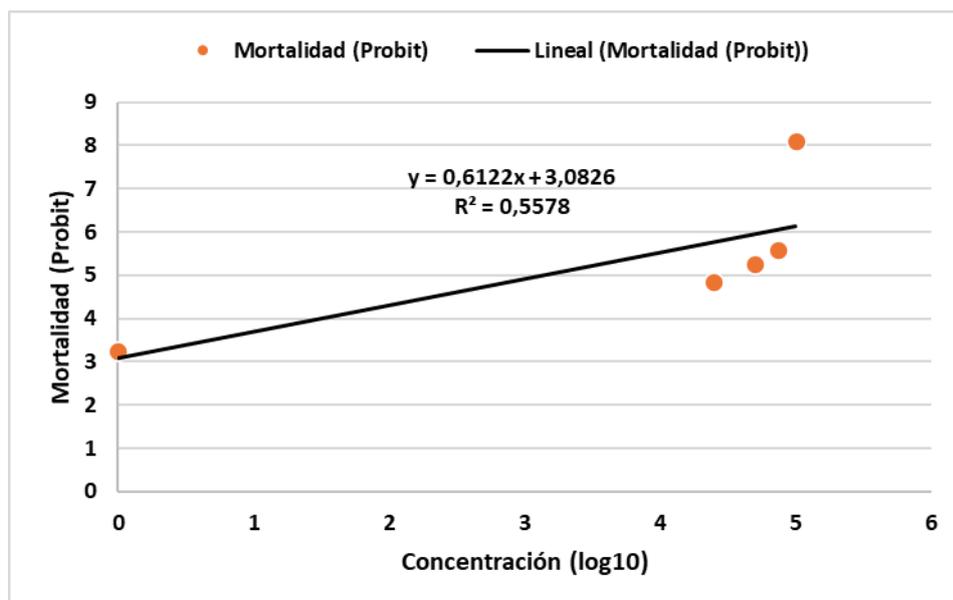
En las Figuras 12 y 13, se presentan las regresiones resultantes de las relaciones concentración y porcentajes de mortalidad causados por los extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana* y eucalipto *E. globulus* para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio. De esta manera, los extractos de sauce llorón arrojaron una Ecuación de Regresión  $y=1,01x + 3,29$  y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 0,99; los extractos de eucalipto arrojaron una Ecuación de Regresión  $y=0,61x + 3,08$  y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 0,56, demostrando una baja dependencia.

El Análisis de Regresión entre la Mortalidad (Probit) y las Concentraciones ( $\log_{10}$ ) se observa en el Anexo 6, y la representación gráfica de esta relación se presenta en la Figura 10; encontrándose un Coeficiente de Determinación de 98,85%.



**Figura 12.** Regresión de la interacción Concentración-Mortalidad para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de sauce llorón *S. humboldtiana*, bajo condiciones *in vitro*.

Fuente: Autor



**Figura 13.** Regresión de la interacción Concentración -Mortalidad para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a cuatro concentraciones extractos acuosos de eucalipto *E. globulus*, bajo condiciones *in vitro*

Fuente: Autor

### 6.1.3. Determinación del Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>).

El Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>), 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 (TL<sub>50</sub>) para cada una de las cuatro concentraciones de los dos extractos acuosos de hojas de sauce llorón *S. humboldtiana* y eucalipto *E. globulus* evaluadas, igualmente mediante análisis de regresión entre la relación mortalidad acumulada y tiempo de muerte.

En la Tabla 9, se presenta las ecuaciones de regresión, el coeficiente de determinación y el TL<sub>50</sub> para las cuatro concentraciones de los extractos acuosos de hojas de sauce, determinándose que la concentración de 100.000 mg/L de extracto de hojas de sauce mata al 50% de la población a las 61 horas; mientras que los extractos de eucalipto matan al 50% de la población de la prueba a las 102 (Tabla 10) horas. Estos resultados indican que los extractos de sauce son más letales que los extractos de eucalipto.

Los Coeficientes de Determinación ( $R^2$ ) tan bajos, indican que no existe una interacción entre la Mortalidad acumulada-Hora de muerte y la concentración de los extractos acuosos de sauce y eucalipto. Sin embargo, es importante recordar que todas las concentraciones de los extractos acuosos de hojas de sauce llorón causaron el 100% de mortalidad a las larvas de segundo instar de *P. xylostella*.

**Tabla 9.** Tiempo Letal Medio ( $TL_{50}$ ), en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, sometidas a cuatro concentraciones de extractos acuosos de hojas de sauce llorón, en condiciones *in vitro*.

Concentración (mg/l)	Ecuación Regresión	$R^2$	$TL_{50}$ (Hora)
100.000	$y=0,83x - 1,0$	0,09	61
75.000	$y= 0,54x -5,14$	0,26	102
50.000	$y= 0,29x -3,86$	0,37	106
25.000	$y= 0,27x - 3,28$	0,36	189

Fuente: Autor

Por otra parte, Mondragón-Sánchez et al., (2020), determinaron los  $TL_{50}$  para la concentración de 100.000mg/l de extractos de semillas de nim mata el 50% de la población a las 22 horas, mientras que en el caso de los extractos de hojas, se determinó un  $TL_{50}$  de 39 horas. Investigaciones similares realizadas por Rivera-López y Giraldo-Vanegas (2022) con extractos acuosos de cicuta, lengua de vaca y cariaquito en concentraciones de 100.000mg/l, los  $TL_{50}$  fueron de 98, 73, y 305 horas; respectivamente, para la población de larvas de *P. xylostella* del bioensayo.

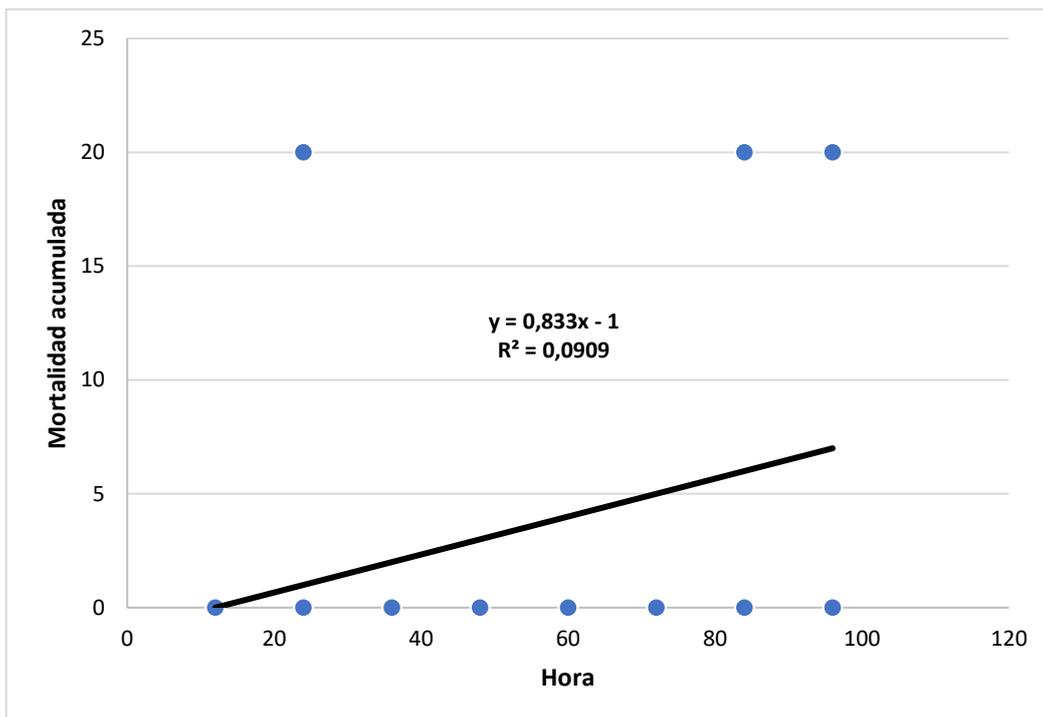
**Tabla 10.** Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>), en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, sometidas a la concentración 100.000 mg/L de extractos acuosos de hojas de sauce y eucalipto, en condiciones *in vitro*.

<i>Extracto</i>	<i>Ecuación Regresión</i>	<i>R<sup>2</sup></i>	<i>TL<sub>50</sub> (Hora)</i>
<i>Salix</i>	$y=0,83x - 1,0$	0,09	61
<i>Eucalyptus</i>	$Y=0,39x + 10$	0,48	102

Fuente: Autor

En las Figuras 12 y 13, se presentan las Regresiones de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte causados por los extractos acuosos de sauce y eucalipto en la concentración de 100.000 mg/L, para larvas de segundo instar de *P. xylostella*, en condiciones de laboratorio.

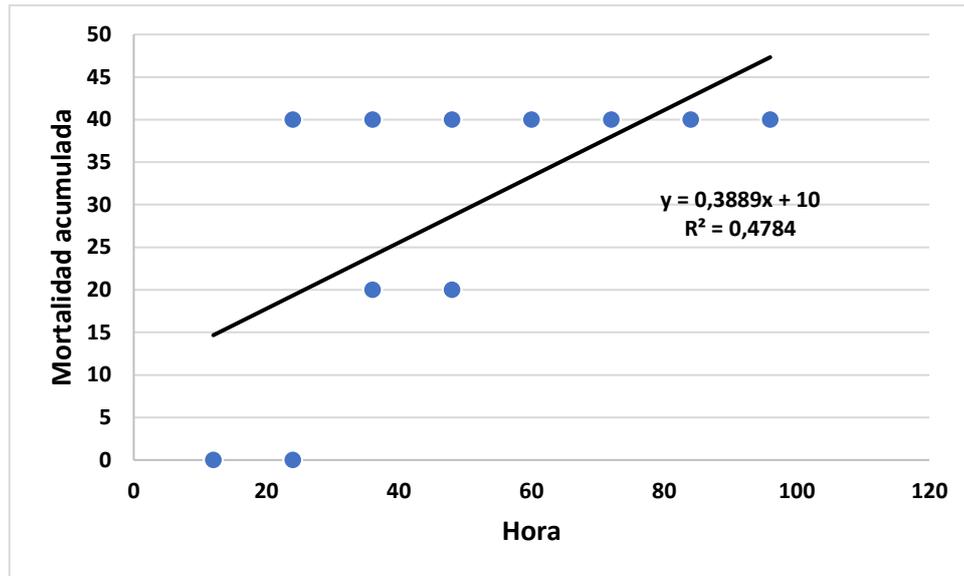
De esta manera, la concentración de 100.000 mg/L de los extractos de sauce arrojaron una Ecuación de Regresión  $y=0,83x - 1$  y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 0,09; mientras que los extractos de eucalipto arrojaron una Ecuación de Regresión  $y=0,13x + 12,29$  y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 0,10, por lo cual la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de *P. xylostella* es muy baja, para ambos extractos.



**Figura 14.** 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 sauce, bajo condiciones *in vitro*.

Fuente: Autor

En los Anexos 7, 8 y 9, se pueden observar las Regresiones de la interacción Mortalidad acumulada-Hora de muerte para larvas de segundo instar de *P. xylostella* sometidas a las concentraciones de 75.000, 50.000 y 25.000 mg/L de extractos acuosos de hojas de sauce, bajo condiciones *in vitro*.



**Figura 15.** 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 eucalipto, bajo condiciones *in vitro*.

Fuente: Autor

Es de hacer notar que no se pudo realizar los correspondientes análisis de regresión con las concentraciones de 75.00, 50.000 y 25.00 mg/l, debido a que no hubo mortalidad en las primeras 96 horas en que se tomaron datos para determinar los Tiempos Letales Medios; siendo la aparición de la primera larva muerta en cada concentración como sigue: a las 204 horas en las concentraciones de 75.000 y 50.000 mg/l; mientras que en la concentración de 25.000 mg/l la ocurrencia de la primera larva muerta fue a las 180 horas. En el testigo la primera y única larva muerta fue encontrada a las 24 horas.

## Conclusiones

Se conoció el efecto que poseen las dos 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.

Según la mortalidad de *P. xylostella* producida por *S. humboldtiana* y *E. globulus*, se estableció que la primera especie tiene mayor eficacia que la segunda, ya que esta produjo una mortalidad del 100% en todas las concentraciones.

Para  $CL_{50}$ , comparando los resultados obtenidos de los dos extractos para matar el 50% de la población de la prueba, muestran que los extractos acuosos de Sauce fueron de 46.250 mg/l, para los extractos acuosos de Eucalipto es 76.910 mg/l; mientras que estos resultados indican que los extractos Sauce (*Salix humboldtiana*) 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 dos tratamientos de los extractos acuosos completaron su desarrollo hasta el estado de pupa; esto sucedió mayormente en el tratamiento de Eucalipto el cual presentó los índices de mortalidad más bajos comparado con el otro tratamiento evaluado.

Del Tiempo Letal Medio para las cuatro concentraciones de sauce llorón y eucalipto se determinó que *S. humboldtiana* causan la muerte de la población de prueba en menos tiempo que con las concentraciones similares de *E. globulus*.

De los resultados obtenidos se concluye que *S. humboldtiana*, evaluada por primera vez como insecticida, tiene una gran posibilidad de lanzarse como nuevo producto para dicho efecto sobre *P. xylostella*.

## **Recomendaciones**

Los resultados de la presente investigación obligan a continuar con los estudios de las plantas locales para probar sus extractos acuosos contra artrópodos y fitopatógenos que se presentan en los cultivos del municipio de Pamplona.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente proyecto se recomienda evaluar a *S. humboldtiana* en campo, como insecticida en diversos grupos de insectos plaga.

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.

## Bibliografía

- Bernachea, N. (2019). Valoración económica y secuestro de CO<sub>2</sub> en bosques plantados de eucalipto (*Eucalyptus globulus Labil*) y pino (*Pinus radiata*) de 11 años de edad en Cochatemala, distrito Huacar, provincia ambo departamento Huánuco – setiembre, 2018 – febrero, 2019. *Trabajo de grado. Universidad de Huanuco*. Obtenido de <http://repositorio.udh.edu.pe/handle/123456789/1776>
- Castellanos, M., Hernández, J., & Sandoval, A. (2019). Formulación y evaluación de la actividad bactericida de un desinfectante para superficies obtenido a partir de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labil*). *Trabajo de grado. Universidad del Salvador*. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/237468297.pdf>
- Cazar, M. E., Villena, P., Parra, J., Espinoza, V., Larriva, G., & Caldas, A. (2014). Eficacia de extracto etanólico de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) en el control de *Alternaria* sp. en cultivos de col y patata. *MASKANA*, 5(1). Obtenido de <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/427/367>
- Curis, M. C. and BertolaccinI, I. (2006). de estado del MIP de *Plutella xylostella* (lepidóptera) en Argentina <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEAgrarias/article/view/8780/12207>
- Cathey k. (1998) Crisantemos. Cultivo del crisantemo, híbridos comerciales de crisantemo Recuperado de: <http://canales.hoy.es/canalagro/datos/flores/flores/crisantemo.htm>
- Descamps, L. R., & Sánchez, C. (2019). Evaluación de la acción insecticida de aceites esenciales en larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Dominguezia*, 35(2). Obtenido de <http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/35205.pdf>
- Dezzotti, A., Sbrancia, R., Attis, H., Velásquez, A., & Mortoro, A. (2020). Aspectos históricos, ecológicos y sociales asociados a *Salix humboldtiana* en la ribera del río agrio en la Patagonia argentina. *Ciencia e Investigación Forestal INFOR*, 26(2). Obtenido de <https://bibliotecadigital.infor.cl/bitstream/handle/20.500.12220/30342/30342.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Díaz, J., & Orellana, P. (2000). Evaluación de extractos botánicos para el control de la chinche (*Leptoglossus zonatus*) del fruto del marañón (*Anacardium occidentale*) en

- el departamento de San miguel, El salvador. *San Salvador*. Obtenido de [https://pdf.usaid.gov/pdf\\_docs/pnack463.pdf](https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnack463.pdf)
- Lowery, D. T. and M. J. Smirle. (2000). Toxicity of insecticides to obliquebanded leafroller, *Chroristoneura rosaceana*, larvae and adults exposed previously to neem seed oil. *Entomol. Exp. Appl.* 95:201-207.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1570-7458.2000.00658.x>
- Miranda F. (2007). Control biológico de *Plutella xylostella* (L.), en fincas semiorgánicas comparadas con sistemas convencionales de producción en el cultivo de repollo en Estelí, Nicaragua [https://agris.fao.org/agris-search/search.do;jsessionid=4944D3197FAE4CAF31A794F271C37397?request\\_locale=es&recordID=CU2009100111&sourceQuery=&query=&sortField=&sortOrder=&agrovocString=&advQuery=&centerString=&enableField](https://agris.fao.org/agris-search/search.do;jsessionid=4944D3197FAE4CAF31A794F271C37397?request_locale=es&recordID=CU2009100111&sourceQuery=&query=&sortField=&sortOrder=&agrovocString=&advQuery=&centerString=&enableField)
- Miyamoto, C. T.; Rocha De Sant'anna, J.; Da Silva Franco, C. C.; Cunico, M. M.; Miguel, O. G.; Côcco, L. C.; Yamamoto, C. I.; Corrêa Jr., C.; & De Castro-Prado, M. A. A. (2009). Genotoxic activity of *Eucalyptus globulus* essential oil in *Aspergillus nidulans* diploid cells. *Folia Microbiol* 54, 493–498 <https://doi.org/10.1007/s12223-009-0070-1>
- Mondragón-Sánchez, Y. D.; Triana-Marroquín, B. S. y Giraldo-Vanegas, H. (2020). Determinación de la mortalidad, la CL<sub>50</sub> y el TL<sub>50</sub> de extractos acuosas de hojas y semillas de *Azadirachta indica* A. Juss, sobre *Plutella xylostella* (L.), bajo condiciones de laboratorio. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander.
- Pérez, L. (2018). Inducción de la floración en fresa (*fragaria x ananassa*) variedad albión, mediante la aplicación de extracto de sauce (*Salix humboldtiana*) y agua de coco (*Cocos nucifera* L). *Trabajo de grado. Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28651/1/Tesis-212%20%20Ingenier%c3%ada%20Agron%c3%b3mica%20-CD%20605.pdf>
- Pomponio, M., Torales, S., Vazquez, C., Mirra, F., Cerrillo, T., & López, M. (2019). Estudios de diversidad genética en *Salix humboldtiana*. *Investigación, ciencia y universidad*. Obtenido de [http://repositorio.umaza.edu.ar/bitstream/handle/00261/1625/ICU%20V3N4%202019\\_resumen%20p60.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.umaza.edu.ar/bitstream/handle/00261/1625/ICU%20V3N4%202019_resumen%20p60.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Pérez, H. (2013). Cría y liberación del Parasitoide *Diadegma insulare* (Cresson) de la palomilla del repollo (*Plutella xylostella* L.) dentro de un contexto de MIP. Tesis Ing. Agr. Managua- Nicaragua. p. 24 - 31. <https://repositorio.una.edu.ni/1744/>
- Rivera-López, B. S. y Giraldo-Vanegas, H. (2022). Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (L.) a tres extractos acuosos vegetales, bajo condiciones de laboratorio. Universidad de Pamplona. Pamplona, Norte de Santander.
- Ruíz, P. A. T., Restrepo, L. N. Z., Sánchez, R. A. H., Rodríguez, F. C. Y., Tafur, J. C., & Sánchez, F. O. (2008). Determinación de la DL50 y TL50 de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 61(2), 4564-4575. <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179915376010.pdf>
- Rojas-Sandoval, J. (2020). *Tagetes erecta* (Mexican marigold). <https://doi.org/10.1079/isc.52641.20203483362>
- Sarfraz, R. M. (2021). *Plutella xylostella* (diamondback moth). <https://doi.org/10.1079/cpc.42318.20210099922>
- 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 Norte de Santander.” Trabajo de Grado Ingeniero Agrónomo. Universidad de Pamplona. Facultad de Ciencias Agrarias. Pamplona. 51 p.
- Sáenz, A. (2012). Susceptibilidad de *Plutella xylostella* L. a *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Revista Colombiana de Entomología, 38 (1), 94-96. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v38n1/v38n1a16.pdf>
- Serrato-Cruz M. A. (2005). Colecta, caracterización y aprovechamiento de *Tagetes erecta* L. Como ornamental; Avances. X Congreso Nacional y III Internacional de Horticultura Ornamental. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México <https://panama.inaturalist.org/taxa/79312-Tagetes-erecta>
- Sergio Z. (2014). Fichas botánicas CRISANTEMO (*Chrysanthemum morifolium*). . recuperado de: <https://perdidoporlosjardinesdebabilonia.blogspot.com/2014/04/crisantemo.html>

Trevan, J. W. (1927). The error of determination of toxicity. Proc. R. Soc. Lond. B.101: 483–514.

Waizel-Bucay, J. (2010). Plantas y compuestos importantes para la medicina: los sauces, los salicilatos y la aspirina. Revista de Fitoterapia 2010; 10 (2): 133-145.