

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS ACUOSOS
VEGETALES SOBRE *Diabrotica* sp (Coleoptera: Chrysomelidae)

IVONNE ANDREA NARVAEZ ZAMBRANO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYAN
2005

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE EXTRACTOS ACUOSOS
VEGETALES SOBRE *Diabrotica* sp (Coleoptera: Chrysomelidae)

IVONNE ANDREA NARVAEZ ZAMBRANO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
BIÓLOGA

Director

MSc. NELSON BOLIVAR ROJAS MARTINEZ

Asesor

MSc. LEONIDAS ZAMBRANO POLANCO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYAN
2005

Nota de Aceptación

MSc. Nelson Rojas Martínez
Director

MSc. Ricardo Benítez
Jurado

Bióloga Giselle Zambrano
Jurado

Popayán, junio 16 de 2005.

A mi hijo Juan José, la motivación más grande que Dios pueda brindar.

A mis hermanas Betzy Adriana, Linda Lucia y Jennifer quien es mi fortaleza desde el cielo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios principalmente por darme la vida y ser mi soporte. A la Universidad del Cauca, por la formación recibida, al Profesor Nelson Rojas por su apoyo tanto técnico como moral, al profesor Leonidas Zambrano por su asesoría en la parte de campo, a los jurados Mg. Ricardo Benítez y Bióloga Giselle Zambrano, por enriquecer el trabajo con sus aportes, al profesor Silvio Carvajal por su desinteresada ayuda en la parte estadística, al Lic. Jhon Carlos Meléndez por sus valiosas sugerencias y por su gran capacidad de servicio a los demás, al Diseñador gráfico Carlos Pineda, por su gran colaboración en la implementación del invernadero y la realización de la presentación digital. A mi mamá, Licenciada Bellanir Zambrano Bolaños, a mi esposo, Abogado Julio Hernán Tobar Ocampo y a toda mi familia quienes desde siempre han sido mi apoyo. Finalmente agradezco a mis compañeros del énfasis en Biología Celular y Molecular y a todas las personas que de cualquier manera contribuyeron a la finalización de este trabajo.

CONTENIDO

| | pág. |
|---|------|
| RESUMEN. | 13 |
| INTRODUCCIÓN. | 14 |
| JUSTIFICACION. | 17 |
| 1. OBJETIVOS. | 18 |
| 1.1. OBJETIVO GENERAL. | 18 |
| 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS. | 18 |
| 2. MARCO TEÓRICO. | 19 |
| 2.1. BIOLOGÍA DEL INSECTO. | 19 |
| 2.1.1. CLASIFICACION TAXONOMICA DEL INSECTO. | 19 |
| 2.1.2. IMPORTANCIA DEL GENERO <i>Diabrotica</i> . | 21 |
| 2.1.3. CICLO DE VIDA DEL INSECTO. | 22 |
| 2.2. PLANTAS CON ACTIVIDAD BIOLOGICA. | 24 |
| 2.2.1. GÉNERO <i>Tagetes</i> . | 25 |
| 2.2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONOMICA DEL GENERO <i>Tagetes</i> . | 25 |
| 2.2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL GENERO <i>Tagetes</i> . | 26 |
| 2.2.1.3. RENDIMIENTO DE LAS PLANTAS DE LA FAMILIA Asteraceae. | 28 |
| 2.2.1.4. USOS DEL GENERO <i>Tagetes</i> . | 28 |
| 2.2.2. GÉNERO <i>Dichondra</i> . | 29 |
| 2.2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Dichondra</i> . | 29 |
| 2.2.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE <i>Dichondra sericea</i> Swartz. | 29 |
| 2.2.2.3. USOS DE <i>Dichondra sericea</i> Swartz. | 30 |

| | | |
|----------|--|----|
| 2.2.3. | PRINCIPIOS ACTIVOS. | 30 |
| 2.2.3.1. | CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE LAS PIRETRINAS. | 32 |
| 2.2.3.2. | CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LAS PIRETRINAS. | 33 |
| 2.2.3.3. | MODO DE ACCION DE LAS PIRETRINAS. | 34 |
| 2.2.3.4. | CLASIFICACION QUIMICA DE LAS ROTENONAS. | 36 |
| 2.2.3.5. | CARACTERISTICAS QUÍMICAS DE LAS ROTENONAS. | 37 |
| 2.2.3.6. | MODO DE ACCION DE LAS ROTENONAS. | 37 |
| 3. | MATERIALES Y METODOS. | 39 |
| 3.1. | OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL. | 39 |
| 3.2. | OBTENCION DE LOS EXTRACTOS. | 39 |
| 3.3. | TRATAMIENTO DE LAS SEMILLAS. | 40 |
| 3.4. | TRATAMIENTO DEL SUELO. | 41 |
| 3.5. | EVALUACION DE MORTALIDAD EN LABORATORIO. | 41 |
| 3.6. | EVALUACION DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN INVERNADERO. | 42 |
| 4. | RESULTADOS. | 44 |
| 4.1. | RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS. | 44 |
| 4.2. | MORTALIDAD EN LABORATORIO DE <i>Diabrotica sp.</i> | 44 |
| 4.3. | MORTALIDAD ACUMULADA A LA OCTAVA HORA. | 51 |
| 4.4. | AREA FOLIAR CONSUMIDA. | 52 |
| 5. | DISCUSIÓN | 56 |
| 6. | CONCLUSIONES | 61 |
| 7. | RECOMENDACIONES | 63 |
| | LISTA DE REFERENCIAS CITADAS | 64 |
| | ANEXOS | 72 |

LISTA DE TABLAS

| | pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Clasificación taxonómica del insecto | 19 |
| Tabla 2. Cantidades de abono para tratamiento del suelo | 41 |
| Tabla 3. Análisis de varianza para mortalidad en laboratorio. | 44 |
| Tabla 4. Estadística descriptiva de la interacción entre concentración (g/mL)*extracto. | 45 |
| Tabla 5. Prueba de DUNCAN para interacción entre tiempo*concentración*extracto. | 49 |
| Tabla 6. Análisis de varianza para el área foliar consumida. | 54 |
| Tabla 7. Estadística descriptiva para área foliar consumida. | 54 |

LISTA DE CUADROS

| | pág. |
|--|------|
| Cuadro 1. Especies del género <i>Diabrotica</i> . | 20 |
| Cuadro 2. Clasificación taxonómica del género <i>Tagetes</i> . | 25 |
| Cuadro 3. Clasificación taxonómica del género <i>Dichondra</i> . | 29 |
| Cuadro 4. Estructura química de las piretrinas. | 33 |
| Cuadro 5. Mecanismos celulares donde intervienen las piretrinas | 35 |
| Cuadro 6. Complejos de la cadena transportadora de electrones. | 38 |

LISTA DE GRAFICOS

| | pág. |
|--|------|
| Gráfica 1. Mortalidad causada por tratamiento EDS(extracto de <i>Dichondra sericea</i>). | 46 |
| Gráfica 2. Mortalidad causada por tratamiento ETEP(extracto de <i>Tagetes erecta</i> y <i>T. patula</i>). | 47 |
| Gráfica 3. Barras representativas de comparación con prueba de DUNCAN, para interacción entre tiempo*concentración*extracto. | 50 |
| Gráfica 4. Mortalidad acumulada a la octava hora. | 51 |
| Gráfica 5. Prueba de DUNCAN para mortalidad acumulada. | 52 |
| Gráfica 6. Barras representativas re prueba de DUNCAN para porcentaje de área foliar consumida. | 55 |

LISTA DE IMAGENES

| | | pág. |
|-----------|--|------|
| Imagen 1. | Ciclo de vida de <i>Diabrotica</i> sp. | 23 |
| Imagen 2. | <i>Tagetes erecta</i> . | 27 |
| Imagen 3. | Hojas de Fríjol con daño foliar. | 53 |

LISTA DE ANEXOS

| | pág. |
|---|------|
| Anexo A. Análisis de suelos. | 73 |
| Anexo B. Ejemplo del procesamiento de imágenes en Auto Cad, para el cálculo de algunas áreas totales y áreas libres de hojas de fríjol. | 74 |

RESUMEN

Se evaluó la actividad insecticida de extractos etanólicos de flores de *Tagetes patula* y *Tagetes erecta* (tratamiento ETEP) y la planta completa de *Dichondra sericeae* (tratamiento EDS), adicionalmente se determinó, el área foliar consumida por los insectos, al aplicar estos mismos extractos. El bioensayo en laboratorio mostró mayor mortalidad de la concentración 9.6 g/mL a la hora siete, para ambos extractos.

Los porcentajes de mortalidad al final de la evaluación (hora ocho), fueron del 16%, 25% y 96% para el tratamiento EDS (extracto de *D. sericeae*) en las concentraciones 5, 8 y 9.6 g/mL respectivamente. El tratamiento ETEP (extracto de *T. erecta* y *T. patula*) presentó porcentajes del 41%, 53% y 89% para las mismas concentraciones.

Los tratamientos, ETEP (extracto floral de *T. erecta* y *T. patula*), EDS (extracto de *D. sericeae*) y BPM (blanco positivo con malatión) redujeron el daño foliar causado por *Diabrotica sp.*, con respecto a la aplicación del blanco negativo (agua), sin embargo los tres primeros tratamientos mencionados, no presentaron diferencia significativa al compararlos entre si.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar y los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza. Los promedios se compararon mediante la prueba de DUNCAN.

INTRODUCCION

La protección química de las plantas a través del uso de pesticidas sintéticos ha sido durante muchos años el principal método de control de plagas, sin embargo, este mecanismo ha ocasionado el surgimiento de efectos adversos para el ambiente y por ende para quienes lo conforman.

Los pesticidas sintéticos ocasionan contaminación del suelo por acumulación de compuestos con prolongado tiempo de degradación. El efecto seguido es la movilidad ambiental de tales partículas contaminantes hacia el resto de los sistemas biológicos y sus diversas transformaciones químicas y bioquímicas que provocan daños al medio ambiente y la salud del hombre.

Esta problemática ha llevado a la búsqueda de métodos alternativos que sean compatibles con el ambiente y que además tengan bajos costos en su producción. El presente trabajo busca evaluar la actividad insecticida que pueden causar los extractos crudos de *Tagetes patula*, *Tagetes erecta* y *Dichondra sericea*, plantas que principalmente basan su actividad biológica en las piretrinas y rotenonas respectivamente.

Varias especies del género *Tagetes* han sido objeto de estudios donde se comprueba su actividad biológica sobre distintos organismos, pudiendo ser usados como insecticidas (Philogène *et al*, 1986), fungicidas (Welty and Prestbye, 1993) y nematocidas (Miller y Ahrens, 1969), incluso, el género

Tagetes ha sido usado en métodos alopáticos como el cultivo rotatorio, el cual, se plantea como un sistema novedoso funcional y alternativo a la fumigación con químicos para control de nemátodos (Reynolds y Coelho, 2000).

También se reportan compuestos con actividad insecticida en las hojas flores y raíces de la especie *Tagetes minuta* (Wells *et al*, 1993 y Weaver *et al*, 1994). Existe además en este género, una fototoxina sensible a la luz conocida como α -tertienil la cual presentó una extremada toxicidad contra mosquitos sin afectar organismos no-blanco como cangrejos de río y ostracodos (Philogène *et al*, Op. cit., p 1718). Otra investigación realizada para analizar el impacto de extractos de *Tagetes minuta* formulados con una combinación comercial de éter de petróleo y surfactantes, sobre macroinvertebrados acuáticos no-blanco, concluyeron que al usar extractos de *T. minuta* como pesticidas, las investigaciones deben ser enfocadas a los efectos de la formulación comercial usada en los extractos (Kumar *et al*, 2000).

En cuanto a *Dichondra sericea*, uno de sus principales compuestos activos, las rotenonas, hace parte de herbicidas botánicos usados desde hace 150 años para controlar malezas de cultivos.

Entre los pesticidas botánicos las rotenonas son las que más se han usado contra coleópteros, tales como, el cucarrón colorado de la papa *Leptinotarsa decemlineata*, y algunas especies de los géneros *Diabrotica* y *Acalynma*, los cuales se alimentan del follaje o de los frutos de las plantas. Las aplicaciones al follaje de extractos hechos a partir de plantas que

presentan rotenonas en su composición, ofrecen una protección de tres a cinco días o más (Rechcigle, 1999).

Las rotenonas son conocidas principalmente por su acción piscicida, esta susceptibilidad tan alta se debe a que, la rotenonas pueden entrar rápida y eficazmente al torrente sanguíneo a través de las branquias, viéndose favorecidas por su insolubilidad en el agua y el alto contenido lipídico de las branquias. La tráquea de los insectos actúa de modo similar a una branquia, por lo tanto, las rotenonas también pueden actuar rápidamente en insectos (Castique, 2004).

Tanto las piretrinas como las rotenonas son ampliamente usadas y aceptadas por grupos certificados de agricultura orgánica, ya que, presentan varias ventajas, entre las que se encuentran su amplio espectro de acción en artrópodos, una relativa baja toxicidad para mamíferos y especies benéficas, un tiempo de vida en el ambiente más corto y una obtención del material con mínima tecnología (Rechcigle, Op. cit.,p. 101, 102).

Esta investigación se presenta como la continuación de un trabajo donde se caracterizaron químicamente las rotenonas a partir de extractos de *Dichondra sericea*. De acuerdo a los resultados que arroje el presente, se extenderá su alcance al diseño de un paquete tecnológico alternativo a partir de dichos compuestos como contribución al desarrollo agrícola integral.

JUSTIFICACION

La economía del Departamento del Cauca es esencialmente agraria sobresaliendo la agricultura tradicional, extensiva y de baja capacidad productiva. Los limitantes a dicha actividad son la escasa tecnología aplicada en los procesos agrícolas; el empobrecimiento de los suelos y la producción empleada para la subsistencia, lo cual no genera excedentes para la comercialización en el ámbito local o regional (CINDAP, 2000). Adicionalmente, el mantenimiento de las producciones agrícolas consiste en la aplicación de dosis altas de insecticidas de categorías toxicológicas II y III (FUNCOP, 2000). Estas prácticas traen como resultado afecciones a la salud de las familias productoras como también a los consumidores, además, en la forma mencionada anteriormente, los tóxicos contaminan el suelo, el aire, las aguas, matan a los enemigos naturales y los insectos predadores adquieren resistencia.

Basado en lo anterior el presente proyecto pretende probar prácticas alternativas al uso de insecticidas sintéticos de acción prolongada y de efectos tóxicos en el ambiente y en distintos organismos no blanco, incluido el hombre.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad en el control de *Diabrotica* sp., de los principios activos presentes en los extractos etanólicos de *Tagetes patula*, *Tagetes erecta* y *Dichondra sericea*.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Realizar la extracción de los principios activos a partir de flores de *T. erecta* y *T. patula* y la planta completa de *Dichondra sericea*.

Determinar en el laboratorio, la mortalidad causada por los extractos crudos de *T. patula*, *T. erecta* y *D. sericea* probados a varias concentraciones.

Evaluar mortalidad y actividad antialimentaria de *Diabrotica* sp al aplicar los extractos etanólicos, sobre frijol sembrado en invernadero, tomando como referencia la concentración más efectiva determinada en el laboratorio.

2. MARCO TEORICO

2.1. BIOLOGIA DEL INSECTO

2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONOMICA DEL INSECTO

Las especies de los insectos utilizados en el presente trabajo se mencionan en la tabla 1 y pueden observarse en el cuadro 1, sin embargo la especie predominante colectada para los bioensayos fue *Diabrotica speciosa*.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del insecto

| | |
|---------|---|
| Clase | Insecta |
| Orden | Coleoptera |
| Familia | Chrysomelidae |
| Género | <i>Diabrotica</i> |
| Especie | <i>D. balteata</i> , <i>D. undecimpunctata</i> y <i>D. speciosa</i> . |

Fuente: editada de la página web del sistema de información sobre biodiversidad Atta, Instituto Nacional de Biodiversidad de Costa rica. Disponible en: <http://www.inbio.ac.cr>

Cuadro 1. Especies del género *Diabrotica*



Imagen A. *Diabrotica balteata*



Imagen B. *Diabrotica speciosa*



Imagen C. *Diabrotica undecimpunctata howardi*

Fuentes: Imagen A. e imagen C. DREES, B.M. and JACKMAN, John. En: Field Guide to Texas Insects. Gulf Publishing Company, Houston, Texas. Copyright 1999. Disponible en: <http://insects.tamu.edu/peaople/facultu/jackmanj.html>. Imagen B. Fotografía tomada por Carlos Pineda para la realización de este trabajo.

2.1.2. IMPORTANCIA DEL GÉNERO *Diabrotica*.

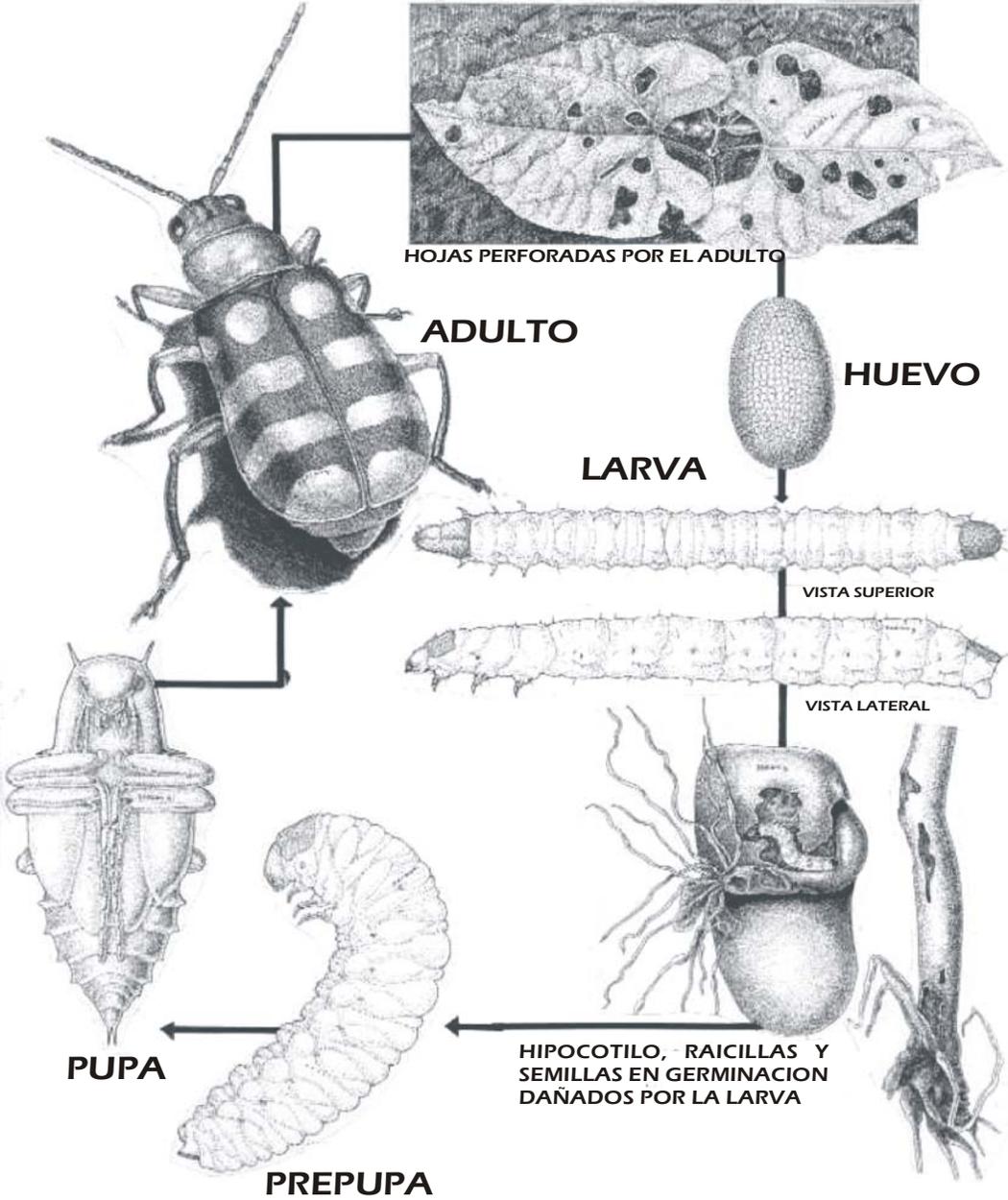
A este género pertenecen varias especies, como *D. balteata*, *D. virgifera*, *D. undecimpunctata*, *D. porracea* y *D. variegata*, cuyas larvas forman parte del complejo de especies rizófagas. Adicionalmente, estos insectos pueden ocasionar daño en estado adulto mostrando preferencia por las familias *Cucurbitaceae*, *Rosaceae*, *Leguminosaceae*, *Cruciferaeae* y muchas otras plantas cultivadas dada su característica de insecto omnívoro (Carvalho, 1990). Las formas más frecuentes de causar daños, son la defoliación, que por lo general la realizan en etapas iniciales del desarrollo del frijol y el daño en las raíces y los nódulos ocasionado por las larvas, lo que puede incrementar la incidencia y severidad del hongo *fusarium* (Batista, *et al.* 1999.)

Si las semillas en etapa de germinación son atacadas, las hojas crecerán deformes y con perforaciones a causa de los daños al embrión. Las plantas cercanas a la madurez también pueden ser atacadas, sin embargo, aunque la defoliación resulte alarmante, la planta resiste un alto grado de ataque sin que se afecte la producción (CIAT, 1982).

2.1.3. CICLO DE VIDA

Los huevecillos son ovalados de color blanco recién ovopositados y amarillos después, miden aproximadamente 0.6 m.m. de largo y 0.35 m.m. de ancho. Estos huevecillos son puestos en el suelo cerca de las raíces de la planta. Su incubación dura de 5 a 10 días. Las larvas recién emergidas son blancas con la cabeza café claro, cuando maduran son de color cremoso y cabeza café, para este tiempo han alcanzado un largo de 6 a 10 m.m. El tiempo de desarrollo de esta etapa es dependiente de la temperatura, pasando de tres a cuatro instares larvales en 4-8, 3-11 y 4-15 días del primero al cuarto instar larval. El tiempo total de desarrollo larval es usualmente de 11 a 25 días, periodo en el que se alimentan de las raíces de las plantas. La pupación ocurre en celdas de tierra en el suelo y dura de 6-10 días. Los adultos son unos escarabajos con élitros de 4 a 6 m.m. de tamaño. Presentan un color verde con cuatro bandas amarillas transversales. La copulación ocurre aproximadamente 6 días después de la emergencia del adulto, con una deposición de los huevos que inicia 16 días después. La oviposición toma lugar en un intervalo de 2 a 3 días por 2 a 8 semanas. Las hembras normalmente depositan de 2 a 15 racimos de 100 huevos cada uno. Un total de 850 huevos pueden ser producidos por una hembra. La longevidad del adulto es de 17 a 44 días (Saninet, 2002 y Capinera, 2003). (Ver imagen 1).

Imagen 1. Ciclo de vida de *Diabrotica* sp.



Fuente: s.d.: sin datos

2.2. PLANTAS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias de origen sintético o natural, destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos (EPA -Environmental Protection Agency U.S, 2005). Para este particular, los extractos son obtenidos de materiales vegetales, como, *Tagetes patula*, *T. erecta* y *Diabrotica sericea*, los cuales comprenden una muy pequeña porción del volumen total de pesticidas usualmente utilizados en el mundo, para el control de insectos predadores. (EPA- Regulating Biopesticides, 2005)

2.2.1. GÉNERO *Tagetes*

2.2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Tagetes*

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del género *Tagetes*

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Tagetes*

Especies: *T. erecta* y *T. patula*

Nombre común: Flor de muerto
y Marigold.



Imagen A. *Tagetes erecta*



Imagen B. *Tagetes patula*

Fuente: Clasificación taxonómica realizada por el director del herbario de la Universidad del Cauca, profesor Bernardo Ramírez. Las imágenes A y B son fotografías tomadas por la autora de este trabajo.

2.2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTANICA DEL GÉNERO *Tagetes*.

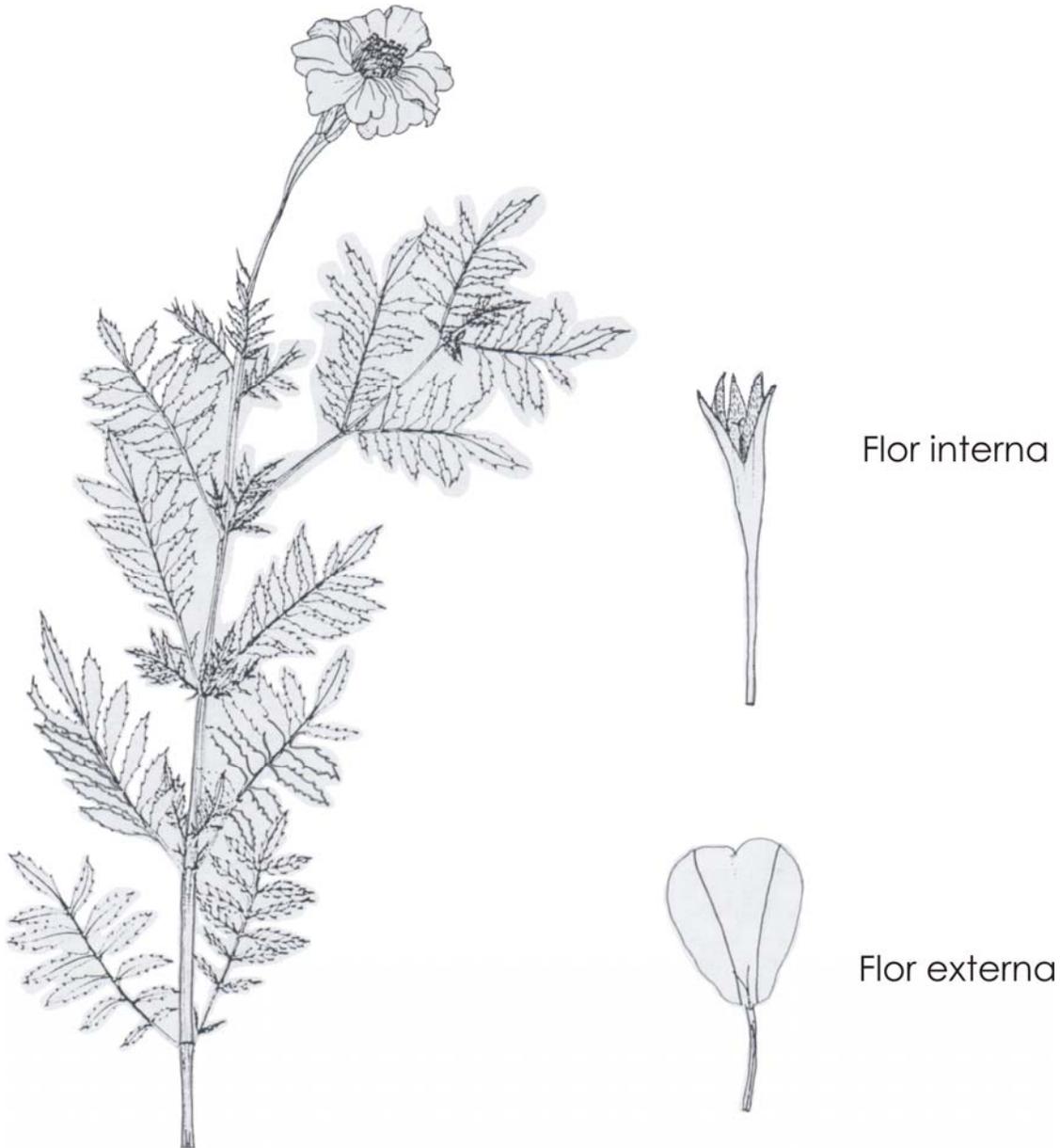
El género *Tagetes* es probablemente nativo de México y está distribuido ampliamente en climas tropicales como subtropicales, en los países de Colombia, Ecuador, Panamá, Perú. (Bradford, 2002).

Existen algunas diferencias entre las dos especies de *Tagetes* usadas en la preparación de los extractos, *Tagetes erecta* tiene un crecimiento vertical y puede alcanzar una altura de 76 a 100 cm., mientras que *Tagetes patula* crece solamente de 20 a 40 cm., *T. erecta* viene en matices de amarillo y anaranjado, mientras que *T. patula* frecuentemente es multicoloreada en matices de amarillo, anaranjado, caoba y carmesí (Garden Guides, 2003).

Estas plantas son herbáceas, glabras y fragantes. Las hojas basales son opuestas, las apicales alternas, simples pinatipartidas, de 3 a 10 cm. de longitud por 2 a 6 cm. de ancho, hojuelas lanceoladas, margen aserrada, ápice agudo; pecíolos de 1 a 3 cm. de longitud. La inflorescencia es una sola cabezuela terminal, largamente pedunculada, de 8 a 10 cm. de longitud. involucro cilíndrico de 11 m.m. de largo, las brácteas externas son verde amarillo, hasta de 3 cm. de largo, flores externas femeninas zigomorfas, de 3 a 3.5 cm. de longitud, lígulas amplias de color amarillo rojizo; estilo bífido, piloso, de color amarillo; flores internas hermafroditas, actinomorfas, de 1.8 a 5.8 cm. de longitud; corola tubular cuatro a cinco dentada, de color amarillo; cinco estambres, anteras unidas por sus bordes formando un tubo de color amarillo claro estilo exserto, bífido, piloso(ver

imagen 2). El fruto es un aquenio estriado o no, frecuentemente piloso, de color café oscuro a negro, con un papus apical formado por aristas agudas, de color amarillo claro (Vélez, *et al.* 1998).

Imagen 2. *Tagetes erecta*



Fuente: Modificado de Flora Arvense de la Región Cafetera Centro-Andina de Colombia. Dibujante C.L. Gonzáles.

2.2.1.3. RENDIMIENTO DE PLANTAS DE LA FAMILIA Asteraceae

Una planta de *Tagetes minuta* presenta un promedio de biomasa de 3.31 Kg., del cual, el 11% es flor, el 82% es follaje y el 7% es raíz. A partir de estos porcentajes se produciría 2.38 g. de extracto floral, 7.56 g. de extracto foliar y 0.31 g. de extracto de raíz (Weaver *et al*, Op cit., p.1721).

Al secar las flores de plantas como el crisantemo, se puede obtener un producto el cual contiene aproximadamente 1-2% de piretrinas o aceites esenciales. Las piretrinas I y II se encuentran en un 73% del total de extracto. Las cinerinas I y II en un 19% y las jasmolinas I y II en un 8% (Worthing y Walker, 1987).

2.2.1.4. USOS DEL GENERO *Tagetes*.

El genero *Tagetes* es muy útil en el intercalamiento de cultivos, ya que, ésta práctica ha reducido poblaciones del nemátodo *Meloidogyne* (Davide, 1979 y Huang, 1984). En otras prácticas culturales, se reportan el uso de las hojas de *Tagetes spp.* para repeler mosquitos y hormigas (Maradufu, 1978).

2.2.2. GENERO *Dichondra*

2.2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GENERO *Dichondra*

Cuadro 3. Clasificación taxonómica del género *Dichondra*

| | | |
|----------|-------------------|---|
| División | Magnoliophyta |  |
| Clase | Magnoliopsida | |
| Orden | Solanales | |
| Familia | Convolvulaceae | |
| Género | <i>Dichondra</i> | |
| Especie | <i>D. sericea</i> | |

Fuente: Clasificación taxonómica realizada por el director del herbario de la Universidad del Cauca, profesor Bernardo Ramírez. Imagen A es una fotografía tomada por la autora de este trabajo.

2.2.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE *Dichondra sericea* Swartz

Esta pequeña hierba rastrera se distribuye desde Estados Unidos de Norteamérica hasta Chile y Argentina, presenta follaje plateado, tallos delgados glabrescentes, hojas de pecíolos largos o cortos, láminas reniformes o redondeadas, de base cordada, seríceas en el haz o en

ambas caras en la variedad holosericea. Flores pequeñas axilares, solitarias, largamente pedunculadas. Fruto pequeño de 2 a 3,5 m.m. de longitud, profundamente bilobulado. Crece en lugares fértiles, preferiblemente húmedos y sombríos (Herbotecnia, 2004).

2.2.2.3. USOS DE *Dichondra sericea* Swartz

Existen reportes informales sobre el género *Dichondra* en cuanto a usos medicinales, tales como antiinflamatorios, problemas de corazón, piquetes de hormiga, amargor de boca, dolor de muela, amigdalitis, pero principalmente es usada como césped en lugares sombríos y húmedos (Herbotecnia, Ibid., 2004).

El grupo de plantas conocido comúnmente como barbascos, al que también pertenece el género *Dichondra*, son utilizados en el control de insectos en jardines, sobre animales, humanos y como potentes ictiotóxicos (Pesticides News, 2001).

2.2.3. PRINCIPIOS ACTIVOS

Los principios activos presentes en las plantas, son metabolitos secundarios, es decir, moléculas sintetizadas normalmente en una fase tardía del ciclo de crecimiento. Los metabolitos secundarios no son necesarios para el

crecimiento del organismo que los produce. En estado natural, sus funciones se hallan ordenadas a la supervivencia de la especie, pero cuando los organismos que los producen se desarrollan en cultivo puro los metabolitos secundarios no desempeñan esa misión (Mateos, 2005).

Los géneros *Tagetes* y *Dichondra* presentan varios compuestos químicos a los que deben sus propiedades insecticidas. De las especies *Tagetes minuta* y *T. erecta* se aisló el compuesto α -tertienil (Weaver, Op cit.;1718). De la segunda especie mencionada, se aisló además, 5-(3-buten-1-inil)-2,2-bitienil (Morallo-Rejesus y Decena, 1982), todos, compuestos con actividad insecticida presentes en los extractos florales, foliares y de raíz. Adicionalmente, los extractos de las especies *T. caracasana* y *T. graveolens*, dieron positivo para piretrinas, la prueba con reactivo cromogénico (óxido de mercurio y ácido sulfúrico) (Yasno *et al.*, 1997). Este compuesto también está reportado en varias especies de la familia Asteraceae (Casida, 1973).

En el caso de *Dichondra sericea*, la única referencia bibliográfica sobre su composición química, describe la presencia de un compuesto isoflavonoide cuya caracterización y elucidación estructural mediante técnicas cromatográficas y resonancia magnética nuclear, correspondió a la rotenona (Castillo, 2002).

D. sericea, hace parte del grupo de plantas conocido como barbascos*, estas plantas pueden ser arbustos, árboles, hierbas, lianas o bejucos de varias familias botánicas (Rondón, 2002). La especie *Tephrosia catartica*, tiene reportado la presencia del compuesto rotenona (Roig y Mesa, 1988), adicionalmente, los barbascos poseen saponinas, las cuales poseen la

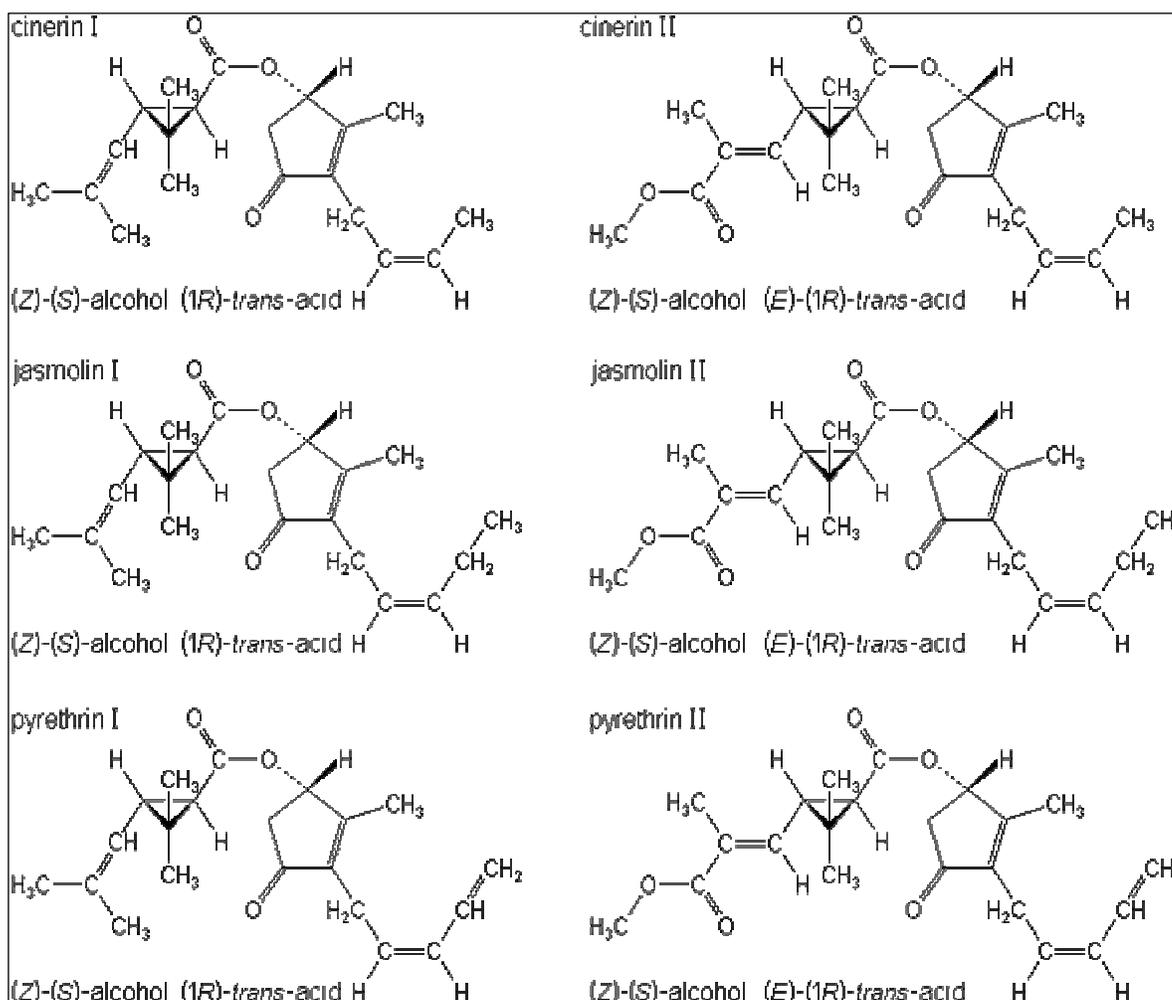
propiedad de alterar la permeabilidad de las membranas celulares; como el caso de la hemólisis (descomposición de los glóbulos rojos) convirtiéndolos en veneno para los peces e insectos al penetrar fácilmente por las agallas y tráqueas, ocasionando la expulsión de electrólitos celulares (Marcano y Hasegawa, 1991).

2.2.3.1. CLASIFICACIÓN QUIMICA DE PIRETRINAS

Las piretrinas están descritas como un éster formado por el ácido crisantémico, el ácido pirétrico y los alcoholes piretrolona, cinerolona y jasmololona. Los ésteres del ácido crisantémico son llamados PIRETRINAS I, JASMOLINAS I, y CINERINAS I, juntos se conocen como la fracción de PIRETRINAS I. Los ésteres del ácido pirétrico se llaman PIRETRINAS II, JASMOLINAS II Y CINERINAS II, en conjunto se conocen como fracción de PIRETRINAS II (Hayes, 1982 y Matsumura, 1985). (Ver cuadro 4).

* Comunicación personal con el profesor Bernardo Ramírez, Director del Herbario de la Universidad del Cauca. Popayán. 2002

Cuadro 4. Estructura química de las piretrinas.



Fuente: Compendium of Pesticide Common Names. Pyrethrins data sheet. Copyright © 1995–2005 Alan Wood. Disponible en: <http://www.hclrss.demon.co.uk/pyrethrins.html>

2.2.3.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS PIRETRINAS.

- ✓ Las piretrinas son altamente inestables, se debilitan bajo la luz ultravioleta, componente de la luz solar, convirtiéndose dentro de pocas horas en productos no tóxicos.

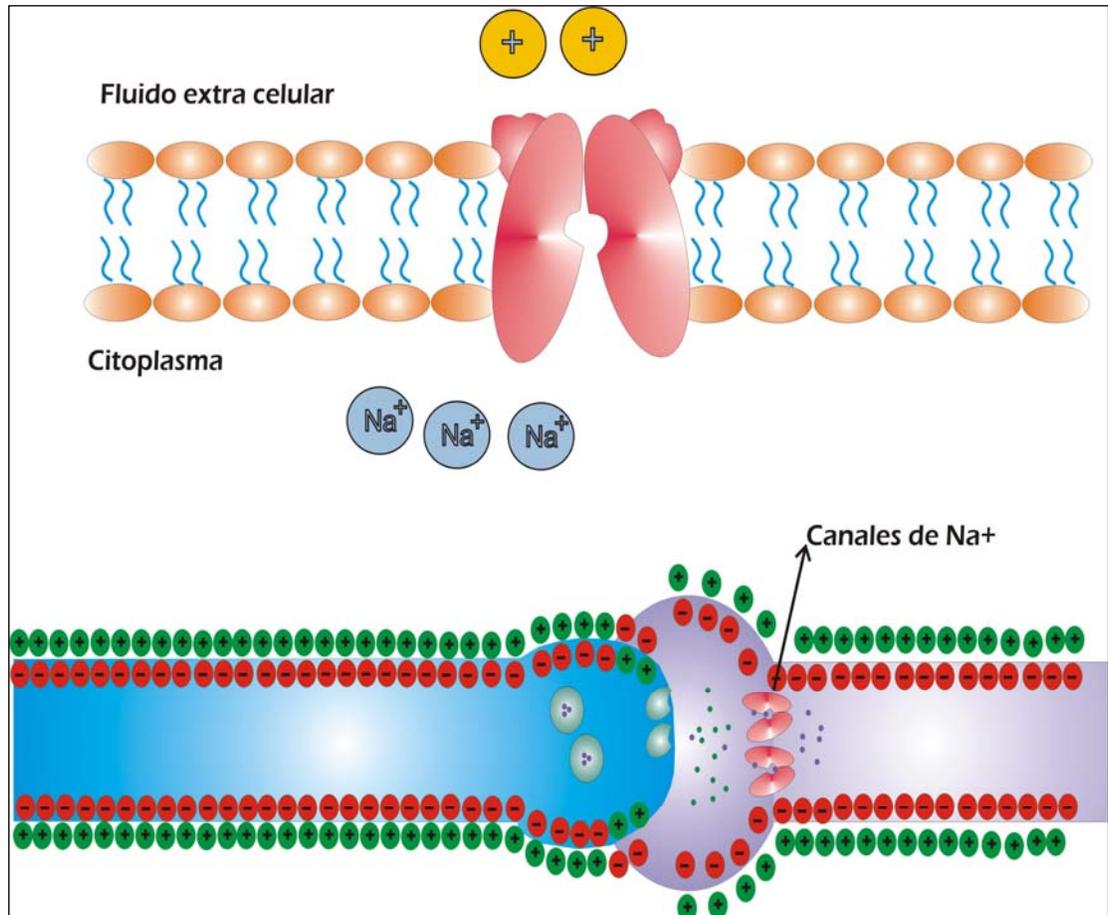
- ✓ Son inestables al calor, se hidrolizan fácilmente por los álcalis.
- ✓ Insolubles en agua, solubles en alcohol, éter de petróleo, queroseno, tetracloruro de carbono, metanol, acetona.
- ✓ Absorción máxima en etanol de 95% y una LD₅₀ oral en ratas de 1.2 g/Kg. (Merck Index)

2.2.3.3. MODO DE ACCION DE LAS PIRETRINAS.

Las piretrinas son insecticidas por contacto y actúan de modo similar en los insectos y mamíferos. Son poderosos venenos del cordón nervioso de los insectos, el cual contiene los ganglios y las sinapsis, lo mismo que en los axones de las fibras nerviosas gigantes. Las piretrinas interfieren en el intercambio del Na⁺ /K⁺ en las fibras nerviosas, es decir, las piretrinas prolongan la permeabilidad al sodio retardando el cierre de la compuerta durante la fase de recuperación del potencial de acción de las neuronas, lo que produce aumento del flujo de Na⁺ y persistencia de la despolarización de la membrana, haciendo que las células nerviosas del insecto produzcan descargas repetitivas, llevando a una parálisis eventual. El insecto además, pierde su capacidad de volar organizadamente por falta de coordinación. Este efecto de "knock down" (hacer caer al insecto fulminado) es característico de las piretrinas, siendo más marcado en las de

la Fracción II, mientras que, las de la fracción I tienen un mayor efecto letal (Ware y Whitacre, 2004). (Ver Cuadro 5).

Cuadro 5. Mecanismos celulares donde interfieren las piretrinas. Su acción es sobre la bomba Na/K, donde prolonga la permeabilidad al potasio, ocasionando la persistencia de la despolarización de la membrana, interfiriendo directamente en la transmisión del impulso nervioso en las fibras motoras.

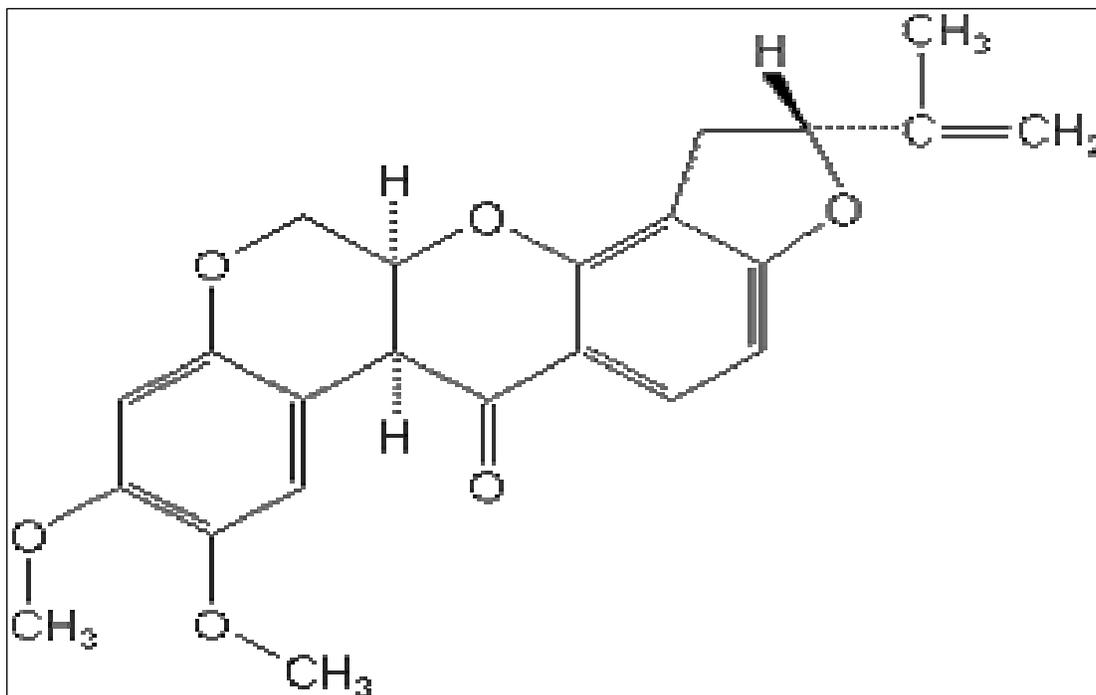


Fuente: Modificado de Interactive Concepts in Biochemistry. Copyright 2002, John Wiley & Sons Publishers, Inc. Disponible en: www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/animations.htm

2.2.3.4. CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE LAS ROTENONAS

Los isoflavonoides se originan a partir de una rama de la vía del fenilpropanoide e incluye compuestos tales como, isoflavonas, isoflavanonas, isoflavanos, quinonas, rotenoides y rotenonas, entre otros (Jung, 2003). La rotenona (2R, 6aS, 12aS)-1,2,6,6a,12,12a-hexahidro-2-isopropenil-8, 9-dimetoxicromeno [3,4 b] furo [2,3-h] comeno-6-ona (nomenclatura IUPAC), tiene como peso molecular 394.4, y su fórmula química es $C_{23}H_{22}O_6$ (Wood, 2005).

Figura 4 Estructura química de las rotenonas



Fuente: Compendium of Pesticide Common Names. Rotenone data sheet. Copyright © 1995–2005. Alan Wood. Disponible en: <http://www.hclrss.demon.co.uk/rotenone.html>

2.2.3.5. CARACTERÍSTICAS DE LAS ROTENONAS

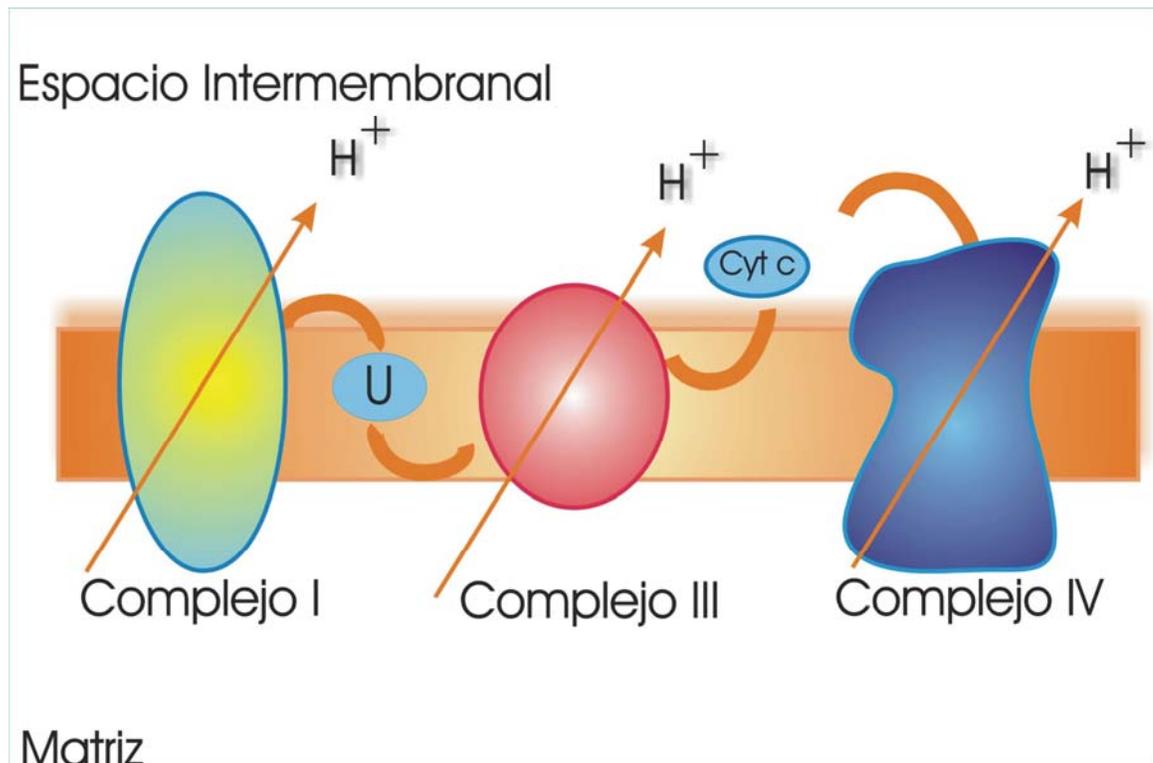
- ✓ Son sólidos cristalinos incoloros, con un punto de fusión de 165°C a 166°C.
- ✓ Solubilidad en el agua, 0.00002 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en alcohol etílico, 0.2 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en tetracloruro de carbono, 0.6 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en cloroformo, 47.2 g/100 ml a 20 °C.
- ✓ Solubilidad en Xileno, 3.4 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en acetona, 6.6 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en benceno, 8.0 g/100 ml a 20°C.
- ✓ Solubilidad en clorobenceno, 13.5 g/100 ml a 20 °C. (
- ✓ Las soluciones se oxidan rápidamente en presencia de la luz y de los medios alcalinos (EPA, 1988)

2.2.3.6. MODO DE ACCION DE LAS ROTENONAS

La membrana interna mitocondrial contiene cinco complejos enzimáticos denominados, I, II, III, IV y V. Los complejos I a IV contienen parte de la cadena transportadora de electrones, mientras que el complejo V, cataliza la síntesis de ATP, por lo que no se toma como un componente propio de la cadena transportadora de electrones. Cada complejo acepta o dona electrones a un acarreador móvil como la coenzima Q y el citocromo C,

que subsecuentemente pueden donarlos al siguiente acarreador de la cadena. Este flujo neto de electrones resulta en la síntesis de ATP. En la actualidad, se han identificado inhibidores específicos del transporte de electrones, los cuales, los cuales previenen el paso de electrones al unirse a componentes definidos de la cadena transportadora de electrones donde bloquean las reacciones de oxido-reducción (Vázquez, 2003). En el caso particular de la rotenona, ésta inhibe la actividad de la NADH ubiquinona oxidoreductasa en el complejo I, evitando que los electrones entren a este complejo (Fukami, 1976 y Hollingworth, 1995). Dado que la cadena de transporte de electrones está íntimamente ligada a la fosforilación oxidativa, estos inhibidores también detienen la síntesis de ATP (Ver cuadro 6).

Figura 5. Complejos de la cadena transportadora de electrones.



3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

En esta primera fase se llevó a cabo el reconocimiento botánico y la recolección de las muestras vegetales a estudiar. Las plantas de *Tagetes erecta* y *T. patula* tuvieron que ser sembradas debido a la dificultad de coleccionar en el campo, suficiente cantidad para la elaboración de los extractos. El cultivo de estas especies se realizó en la ciudad de Popayán, en un área de 60 m²., la cual, fue abonada según las recomendaciones del Ingeniero agrónomo Marco Fidel Mayor. *Dichondra sericea* fue colectada en diferentes partes de la ciudad ya que ésta se presenta espontáneamente como cobertura o forraje del suelo.

Cada planta obtenida fue llevada al herbario CAUP de la Universidad del Cauca, donde se identificaron las especies mencionadas en los cuadros 2 y 3.

3.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Las flores de *T. erecta*, *T. patula* y la planta completa de *D. sericea* se secaron en una incubadora Fisher Scientific a 40°C y se pulverizaron en el molino

mecánico del laboratorio de Agroquímica de la universidad. A continuación se realizó la extracción, partiendo de 100 gramos de material seco y pulverizado, en etanol al 96%. La homogenización de la mezcla se realizó en una licuadora marca Waring Laboratory (Heavy duty Laboratory blender). El extracto fue pasado por gasa y luego filtrado en papel filtro 589/5 Rotband red Ribbon marca s&s ϕ 185 mm Ref – No. 300414.

Los extractos fueron liofilizados hasta llevarlos al mayor grado de sequedad posible, con el fin de obtener un valor de rendimiento del extracto crudo como tal, con respecto a la cantidad de material seco con el que se inicia la extracción.

Para realizar las diluciones del peso seco obtenido, se probaron concentraciones de etanol que no interfirieran con la mortalidad de los insectos.

Las diluciones en etanol al 9.6%, concentración inofensiva para el insecto, se depositaron en frascos ámbar, cubiertos con papel aluminio para prevenir la degradación de los compuestos por la luz. Luego fueron almacenados en la nevera a una temperatura de 0 ± 1 °C, hasta el momento de su utilización.

3.3. TRATAMIENTO DE LAS SEMILLAS

Este tratamiento fue realizado según los parámetros del ISTA (1995-2000).

Se utilizaron semillas de frijol arbustivo variedad Calima a las que se les realizó un proceso de selección según el color, tamaño y forma. Seguidamente se hizo la prueba de flotación con la que se determinó las semillas viables, las cuales tienen la característica de undirse en el agua. Una vez escogidas, fueron dejadas en remojo con solución de KNO_3 al 0.2% a temperatura ambiente y en completa oscuridad por 12 horas, tiempo después del cual, las semillas quedaron listas para sembrar.

3.4. TRATAMIENTO DEL SUELO

Al sustrato del invernadero se le realizó análisis de suelos (Ver ANEXO A) y fue abonado según los requerimientos que presentó (Ver tabla 2).

Tabla 2. Cantidades de abono para tratamiento del suelo

| UREA AL 46% | CALFOS 48% | CAL-DOLOMITA AL 35% | BORAX |
|----------------|-----------------|---------------------|----------------|
| 1.25 g /planta | 8.75 g / planta | 1g / planta | 0.18 g /planta |

Fuente: Tabla realizada por la autora

3.5. EVALUACION DE MORTALIDAD EN LABORATORIO

Para realizar el ensayo de toxicidad se elaboraron cajas de muselina de 20 x 20 cms. Se introdujeron 20 insectos por caja, a los que se les aplicó, por

medio de un atomizador manual, 2 mL de cada extracto. Se evaluaron 6 tratamientos, ETEP (extracto con flores de *Tagetes erecta* y *T. patula*) y EDS (extracto de *Dichondra sericea*) cada uno preparados a las concentraciones 9.6 g/mL 8.0 g/mL y 5.0 g/mL. Además, se usó un testigo negativo únicamente con el solvente, etanol al 9.6%. Cada concentración se evaluó con cinco repeticiones.

Las lecturas de mortalidad se realizaron de la primera a la octava hora después de la aspersion y los resultados obtenidos de cada tratamiento fueron sometidos a análisis de varianza y comparación de las medias a través de la prueba de Duncan.

3.6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN INVERNADERO.

El bioensayo se realizó en un invernadero de 30 mts² sobre un cultivo de *Phaseolus vulgaris*, utilizando un diseño experimental de bloques completos al azar. Los tratamientos preparados a una concentración de 9.6 g/mL, fueron: ETEP (extracto de *Tagetes erecta* y *T. patula*), EDS (extracto de *Dichondra sericea*), BPM (blanco positivo con malation) y BNA (blanco negativo con agua). Cada uno tuvo cuatro repeticiones y una unidad experimental de 10 plantas.

Se evaluó para cada extracto, el número de insectos muertos en 2, 4, 8, 16, 24, horas después de la aspersion de los tratamientos y el área foliar consumida, la cual se calculó tres días después de la aplicación.

El ensayo de mortalidad se inició con la introducción en el invernadero de 100 adultos de *Diabrotica speciosa*, para cada uno de los tratamientos. Tres minutos después se revisó el frasco colector con el fin de verificar el número de insectos muertos por la manipulación, los cuales se reemplazaron, compensándose así la mortalidad.

Una vez introducidos los insectos, se procedió a la fumigación de las plantas de 30 días de crecimiento, tanto por el haz como por el envés. El resto del cubículo también fue fumigado, con el fin de garantizar que los insectos recibieran los tratamientos por contacto directo, por consumo de las hojas o por incorporación a través del sistema respiratorio. Las dimensiones del área foliar consumida por los insectos se obtuvieron utilizando el programa Auto Cad versión 2004, tomando como parámetro de selección, hojas de 10 cms de longitud.

Todos los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y los resultados se compararon por medio de la prueba de Duncan.

4. RESULTADOS

4.1. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS

Partiendo de 100 g. de material seco y molido, se obtuvieron 8 g de extracto crudo de flores de *Tagetes patula* y *T. erecta* y 13 g. de extracto crudo de *Dichondra sericea*, usando la planta completa.

4.2. MORTALIDAD EN EL LABORATORIO DE *Diabrotica* sp.

De acuerdo con el análisis de varianza, se presentaron valores significativos para la concentración, de forma dependiente del tiempo y para el extracto, en interacción con la concentración y el tiempo (Ver tabla 3)

Tabla 3. Análisis de varianza para mortalidad de *Diabrotica* sp.

| Fuente | Suma de Cuadrados tipo III | Grados de libertad | Media cuadrática | F | Significancia |
|---------------------------------|----------------------------|--------------------|------------------|-------|---------------|
| Tiempo | 36,509 | 7 | 5,216 | 5,123 | ,000 |
| Tiempo * Concentración | 101,890 | 21 | 4,852 | 4,766 | ,000 |
| Tiempo * Extracto | 4,205 | 7 | ,601 | ,590 | ,764 |
| Tiempo*Concentración * Extracto | 76,536 | 21 | 3,645 | 3,580 | ,000 |

Fuente: Tabla originada del programa estadístico SPSS versión 11.0

Los dos tratamientos en interacción con las tres concentraciones evaluadas, presentaron promedios de mortalidad que difirieron entre si. En la concentración 5 g/mL la mortalidad más alta la presentó el tratamiento ETEP (Extracto de flores de *Tagetes erecta* y *T. patula*). Esta tendencia se mantuvo en la concentración 8 g/mL, pero en la evaluación de la concentración 9.6 g/mL, los promedios de mortalidad tendieron a igualarse, siendo levemente más alto el promedio de mortalidad del tratamiento EDS (Extracto de *Dichondra sericea*). En comparación con el testigo, las tres concentraciones mostraron promedios de mortalidad mayores (Ver tabla 4).

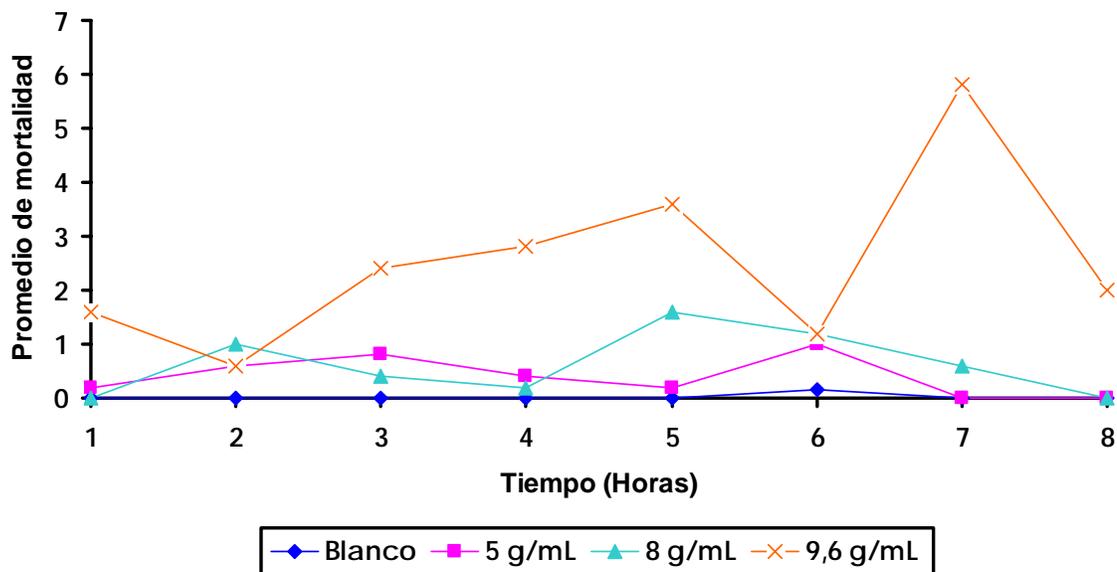
Tabla 4. Estadística descriptiva de la interacción Concentración (g/mL) * Extracto

| Concentración Extracto | Media | Error típico | Intervalo de confianza al 95% | |
|------------------------|---------------------|--------------|-------------------------------|-----------------|
| | | | Límite inferior | Límite superior |
| 0 EDS ETEP | 2,083 ⁻² | ,137 | -,258 | ,299 |
| | 2,500 ⁻² | ,150 | -,280 | ,330 |
| 5,0 EDS ETEP | ,400 | ,150 | 9,506 ⁻² | ,705 |
| | ,900 | ,150 | ,595 | 1,205 |
| 8,0 EDS ETEP | ,625 | ,150 | ,320 | ,930 |
| | 1,325 | ,150 | 1,020 | 1,630 |
| 9,6 EDS ETEP | 2,500 | ,150 | 2,195 | 2,805 |
| | 2,225 | ,150 | 1,920 | 2,530 |

Fuente: Tabla originada del programa estadístico SPSS versión 11.0

Analizando para cada uno de los tratamientos las concentraciones evaluadas, tenemos que para EDS (Extracto de *Dichondra sericea*) la concentración más efectiva es 9.6 g/mL., pues difiere de las concentraciones 5 y 8 g/mL y del testigo, durante todo el periodo de evaluación, presentando un valor máximo de mortalidad a la 7 hora (Ver Gráfica 1).

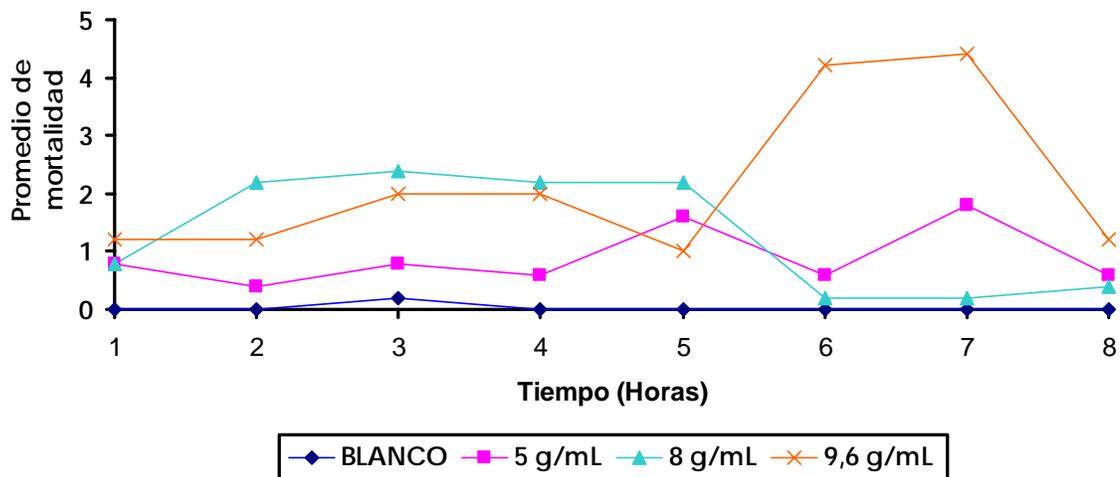
Gráfica 1. Mortalidad causada por tratamiento EDS (extracto de *Dichondra sericea*)



Fuente: Gráfica realizada por la autora.

Para el tratamiento de ETEP (Extracto de Flores de *T. erecta* y *T. patula*), el efecto de las concentraciones oscila a lo largo del periodo de evaluación, siendo la concentración 8 g/mL la de mayor mortalidad, de la segunda hasta la quinta hora, sin embargo, a partir de la sexta hora, hasta el final de la evaluación, octava hora, la concentración 9.6 g/mL pasa a ser más efectiva, alcanzando un máximo de mortalidad a la séptima hora (Ver gráfica 2).

**Gráfica 2. Mortalidad causada por tratamiento ETEP
(extracto de *Tagetes erecta* y *T. patula*)**



Fuente: Gráfica realizada por la autora

La tabla 3 muestra una interacción entre el tiempo, la concentración y el extracto, que tiene un valor significativo. Para intentar explicar dicha interacción se aplicó la prueba de DUNCAN a cada uno de los tratamientos con su respectivas repeticiones (Ver tabla 5), obteniendo como resultado tres intervalos de mortalidad: el primero va 0 a 1.8 y corresponde en su mayoría, a promedios obtenidos en la primeras horas de evaluación, con las concentraciones, 5.0 y 8.0 g/mL, para ambos tratamientos. Las excepciones muestran promedios para la concentración 9.6 g/mL, en las primeras horas de evaluación. El segundo intervalo va de 2 a 4.2 y abarca promedios obtenidos únicamente con las concentraciones 8 y 9.6 g/mL en horas que van de la mitad, hasta el final del tiempo de evaluación, para ambos tratamientos. En este intervalo la concentración 5 g/mL no registra mortalidad. El último intervalo va de 4.4 a 5.8 y presenta los promedios más específicos obtenidos con la concentración 9.6 g/mL a

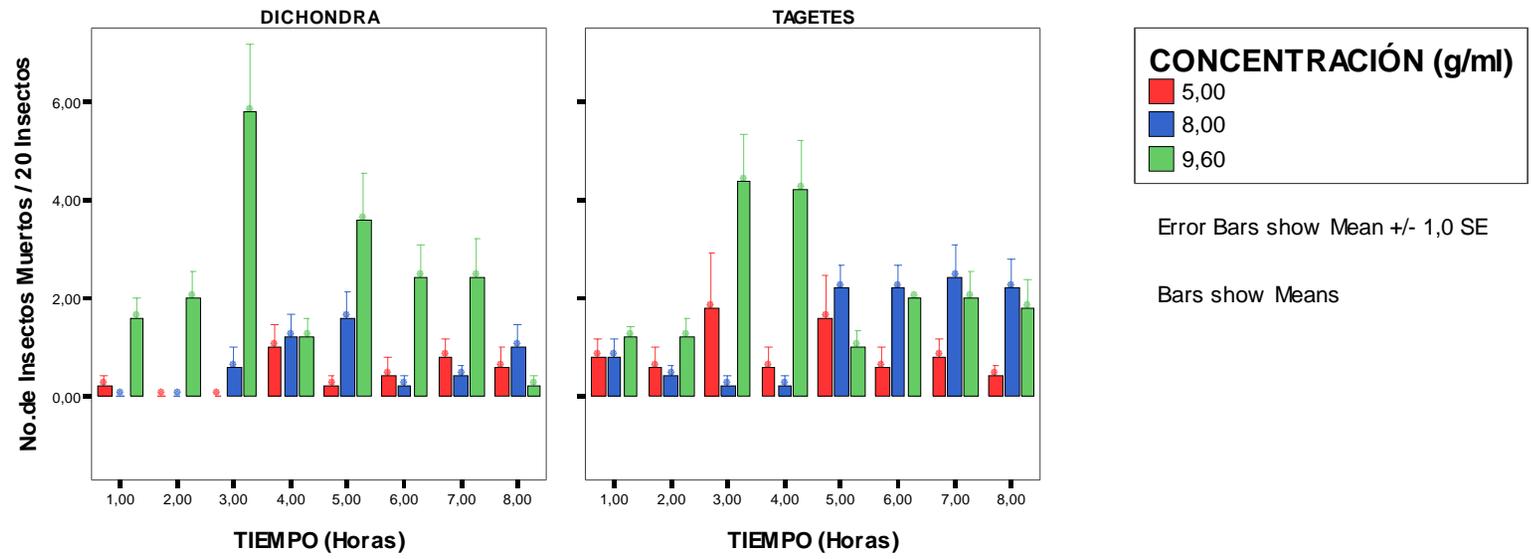
la tercera hora de evaluación en ambos tratamientos, siendo en este grupo de datos donde se presenta la mayor mortalidad (Ver gráfica 3).

Tabla 5. Prueba de Duncan para interacción entre tiempo * concentración *extracto

| INTERACCION† | N | Subconjunto para alfa = .05 | | | | | | |
|--------------|---|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 118 | 5 | 0 | | | | | | |
| 125 | 5 | 0 | | | | | | |
| 128 | 5 | 0 | | | | | | |
| 135 | 5 | 0 | | | | | | |
| 115 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 155 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 168 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 189.6 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 238 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 248 | 5 | 0.2 | 0.2 | | | | | |
| 165 | 5 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | | | | |
| 178 | 5 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | | | | |
| 228 | 5 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | | | | |
| 285 | 5 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | | | | |
| 138 | 5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | | | |
| 185 | 5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | | |
| 225 | 5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | | |
| 245 | 5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | | |
| 265 | 5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | | |
| 175 | 5 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | | |
| 215 | 5 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | | |
| 218 | 5 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | | |
| 275 | 5 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | | |
| 145 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | |
| 188 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | |
| 259.6 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | |
| 148 | 5 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | | |
| 149.6 | 5 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | | |
| 219.6 | 5 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | | |
| 229.6 | 5 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | 1.2 | | |
| 119.6 | 5 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | | |
| 158 | 5 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | | |
| 255 | 5 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | | |
| 235 | 5 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | | |
| 289.6 | 5 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | 1.8 | | |
| 129.6 | 5 | | 2 | 2 | 2 | 2 | | |
| 269.6 | 5 | | 2 | 2 | 2 | 2 | | |
| 279.6 | 5 | | 2 | 2 | 2 | 2 | | |
| 258 | 5 | | | 2.2 | 2.2 | 2.2 | | |
| 268 | 5 | | | 2.2 | 2.2 | 2.2 | | |
| 288 | 5 | | | 2.2 | 2.2 | 2.2 | | |
| 169.6 | 5 | | | | 2.4 | 2.4 | | |
| 179.6 | 5 | | | | 2.4 | 2.4 | | |
| 278 | 5 | | | | 2.4 | 2.4 | | |
| 159.6 | 5 | | | | | 3.6 | 3.6 | |
| 249.6 | 5 | | | | | | 4.2 | |
| 239.6 | 5 | | | | | | 4.4 | 4.4 |
| 139.6 | 5 | | | | | | | 5.8 |

† Los tratamientos se codificaron con números, donde el primero, corresponde al tratamiento (1 para EDS y 2 para ETEP), el segundo, corresponde a la hora de evaluación y el tercer número, a la concentración probada.

Gráfica 3. Barras representativas de comparación con prueba de DUNCAN para interacción entre tiempo *concentración * extracto

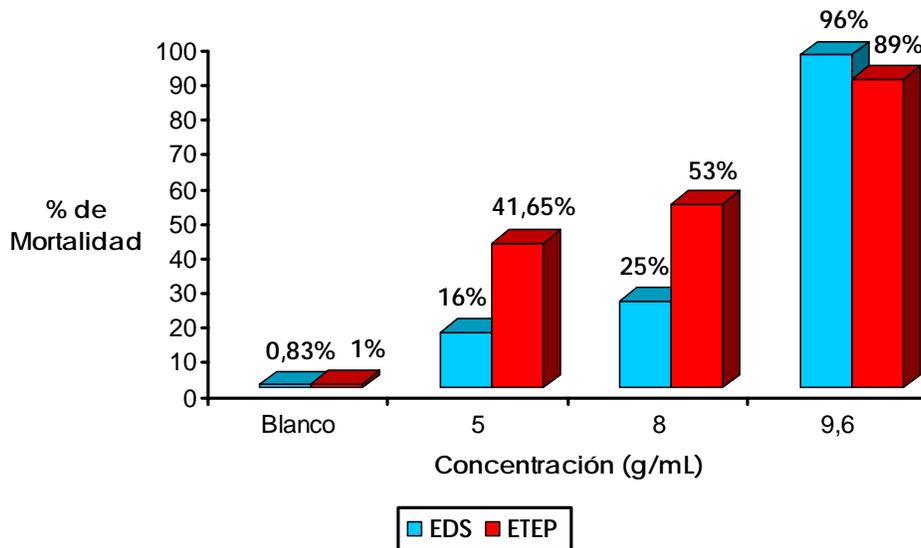


Fuente: Gráfica originada del programa estadístico SPSS versión 11.0.

4.3. MORTALIDAD ACUMULADA A LA OCTAVA HORA.

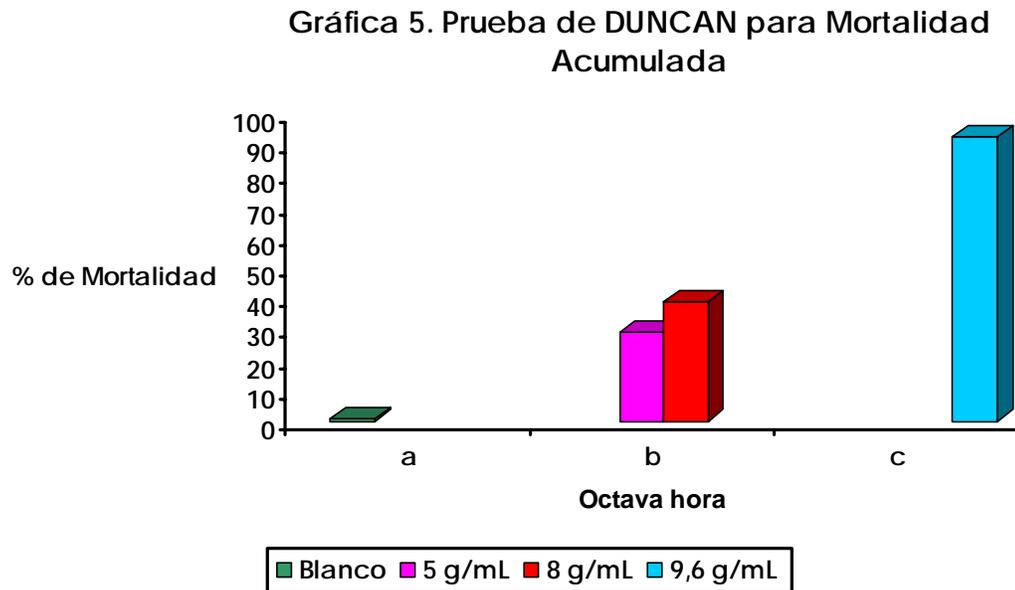
Para poder determinar el efecto de los tratamientos al final de la evaluación, se realizó un análisis de los porcentajes de mortalidad acumulada, a la octava hora, corregidos por la fórmula de Abbot (Abbot, 1925). El tratamiento ETEP (extracto floral de *Tagetes erecta* y *T. patula*) a las concentraciones 5 g/mL y 8 g/mL, presentó mayor porcentaje de mortalidad, con un 41% y un 53%, con respecto a un 16% y un 25% del tratamiento EDS (extracto de *Dichondra sericea*). Sin embargo este último tratamiento evaluado a la concentración 9.6 g/mL, mostró un porcentaje de mortalidad del 96% en comparación con un 89% de ETEP (Ver gráfica 4).

Gráfica 4. Mortalidad Acumulada a la Octava Hora



Fuente: Gráfica realizada por la autora.

Las tres concentraciones presentaron mayor porcentaje de mortalidad en comparación con el blanco, sin embargo, las concentraciones al 5 y 8 g/mL no mostraron diferencia significativa entre si (Ver Gráfica 5).

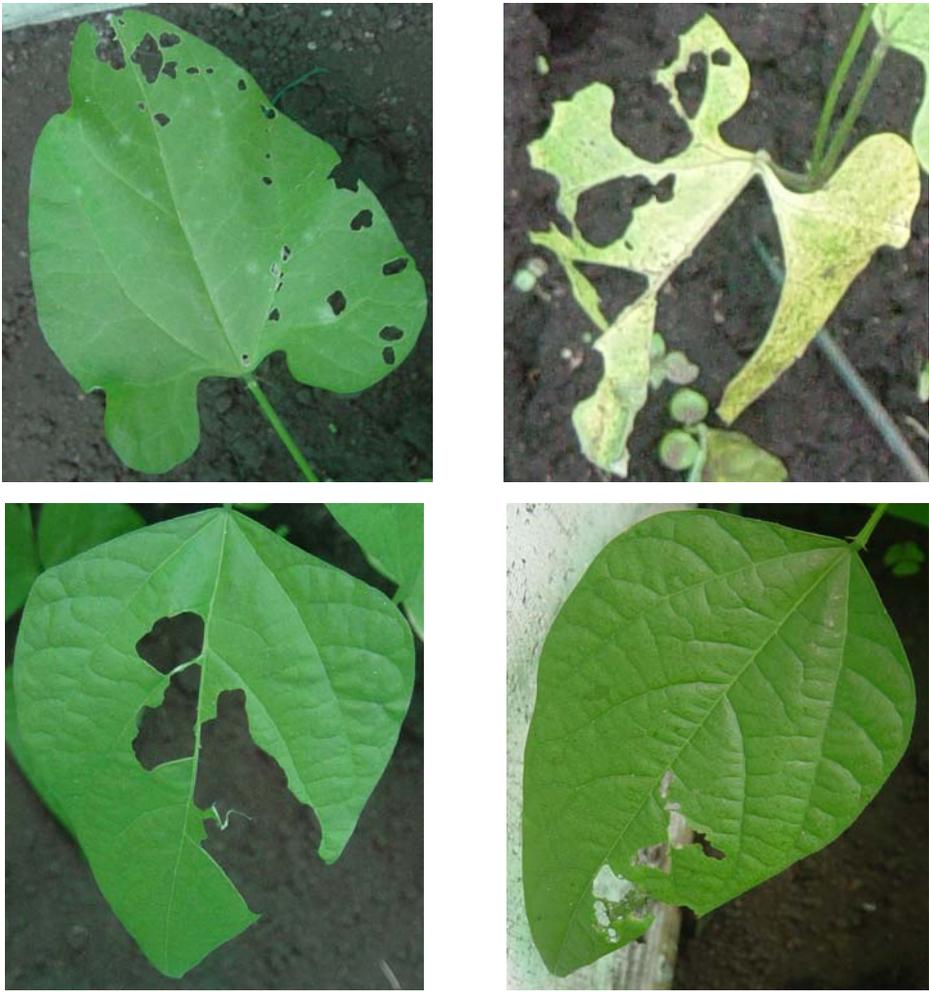


4.4. AREA FOLIAR CONSUMIDA

Para el análisis de las áreas foliares se tomaron como parámetro hojas de diez centímetros de longitud. En total resultaron 25 hojas por cada tratamiento, las cuales fueron fotografiadas (ver Imagen 3) e introducidas en Auto Cad versión 2004 donde se dibujaron los contornos con sus respectivos espacios consumidos por los insectos. Luego se uso el comando

correr topografía, para que el programa reconociera las características de los polígonos, los cuales fueron escalados al tamaño real de las hojas. Seguidamente los archivos fueron transferidos al programa ARCAD con el fin de que pudieran ser reconocidos por el programa ARC view GIS, el cual, finalmente realizó los cálculos de área foliar (Ver ejemplos en el Anexo B).

Imagen 3. Hojas de frijol con daño foliar.



Fuente: Fotografías tomadas por la autora.

El análisis de varianza mostró un resultado significativo de los tratamientos, sobre el área foliar consumida, es decir, que la afectación de las hojas al aplicar los tratamientos se vio disminuida (Ver Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de varianza para el área foliar consumida.

| | Suma de Cuadrados | Grados de libertad | Media cuadrática | F | Sig |
|--------------|-------------------|--------------------|------------------|--------|------|
| Inter grupos | 1109.529 | 3 | 369,843 | 14.425 | .000 |
| Intra grupos | 2358.796 | 92 | 25.639 | | |
| Total | 3468.325 | 95 | | | |

Fuente: Tabla originada del programa estadístico SPSS versión 11.0

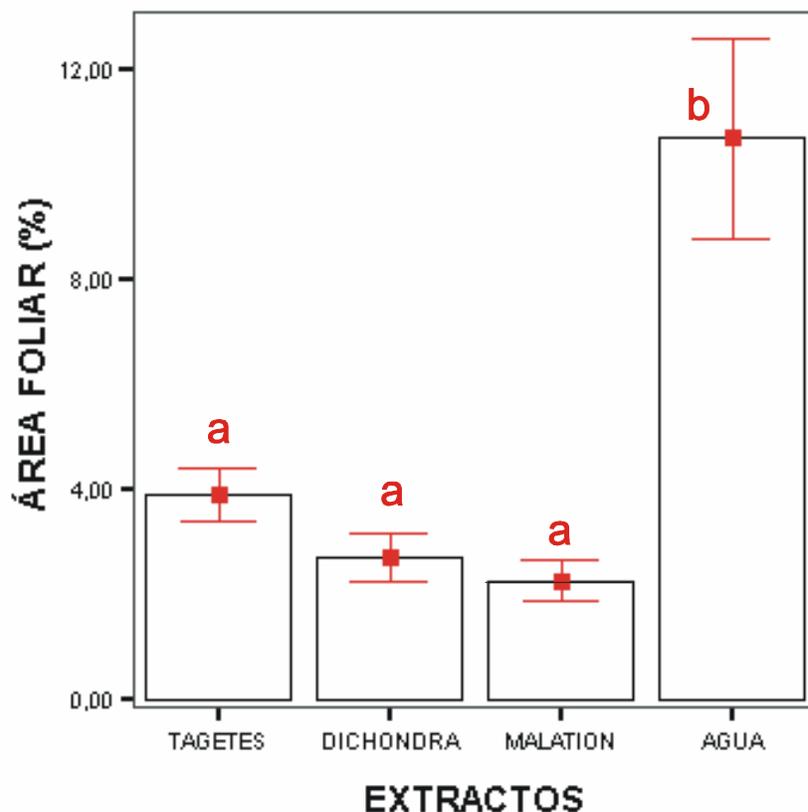
La estadística descriptiva nos muestra que el menor porcentaje de área foliar consumida lo produce el Blanco positivo con malatión, seguido por el tratamiento EDS (Extracto de *Dichondra sericea*) y el tratamiento ETEP (Extracto floral de *T. erecta* y *T. patula*). Sin embargo los tres tratamientos no difieren entre si, solo lo hacen con respecto al blanco negativo (agua) (Ver Tabla 7 y Gráfica 6)

Tabla 7. Estadística descriptiva para área foliar consumida

| | N | Media | Desviación típica | Error típico | Intervalo de confianza para la media al 95% | | Mínimo | Máximo |
|--------------------|----|---------|-------------------|--------------|---|-----------------|--------|--------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| <i>Tagetes</i> spp | 24 | 3.8875 | 2.5183 | 0.5141 | 2.8241 | 4.9509 | 0.00 | 8.10 |
| <i>D. sericea</i> | 24 | 2.6958 | 2.2526 | 0.4598 | 1.7446 | 3.6470 | 0.00 | 7.60 |
| Malatión | 24 | 2.2500 | 1.9547 | 0.3990 | 1.4246 | 3.0754 | 0.00 | 7.50 |
| Agua | 24 | 10.6729 | 9.3445 | 1.9074 | 6.7271 | 14.6187 | 1.50 | 45.00 |
| Total | 96 | 4.8766 | 6.0422 | 0.6167 | 3.6523 | 6.1008 | 0.00 | 45.00 |

Fuente: Tabla originada del programa estadístico SPSS versión 11.0.

Gráfica 6. Barras representativas de prueba de DUNCAN para porcentaje de área foliar consumida.



La evaluación de mortalidad en invernadero, no pudo ser llevada a término, debido a deficiencias en el montaje, que no permitieron garantizar la permanencia de los insectos dentro de cada cubículo de evaluación, obteniéndose como resultados 48 insectos muertos a la hora dos de evaluación con el tratamiento BPM (blanco positivo con maltión), en una sola repetición. Esta información no es suficiente para aplicar un análisis estadístico.

5. DISCUSIÓN

Las especies *Tagetes erecta* y *T. patula* usadas en conjunto, mostraron un rendimiento del extracto crudo de 7g, a partir de 100 gramos de flores secas y molidas. Comparándolo con la especie *Tagetes minuta*, con 2.38 g de extracto floral crudo (Weaver *et al*, Op cit., p.1721), puede afirmarse que, el uso en conjunto de las primeras especies mencionadas proporciona un mayor rendimiento en la obtención de los extractos.

La especie *Dichondra sericea* presentó un valor de rendimiento más alto aun, 13 g de extracto crudo a partir de 100 gramos de planta seca y molida. Estos valores muestran que las especies vegetales utilizadas, pueden poseer un rendimiento favorable para la elaboración de un producto comercial. Adicionalmente, si se le garantiza al cultivo de estas plantas, condiciones adicionales de abonos y nutrientes que favorezcan su crecimiento y desarrollo, puede potenciarse la cantidad y calidad de los principios activos.

En condiciones normales, estas plantas crecen rápida y fácilmente, incluso en terrenos de baja calidad, además los cuidados que requieren son mínimos. Dichas, características, hacen recomendables a estas especies vegetales, para la obtención de principios activos a partir de ellas.

Los resultados estadísticos obtenidos, permiten atribuirle actividad insecticida a los extractos vegetales de las especies *T. erecta*, *T. patula* y *D.*

sericea, puesto que presentaron porcentajes de mortalidad altos al final de la evaluación. Al comparar la efectividad de los dos extractos, no puede decirse que uno es más efectivo que el otro, ya que según la prueba comparativa de DUNCAN, los mayores promedios de mortalidad se presentaron con la concentración 9.6 g/mL a la tercera hora de evaluación, tanto para *Tagetes* como para *Dichondra*.

En cuanto a las características de la actividad insecticida determinada en este trabajo, puede decirse que los tratamientos evaluados mostraron un modo de acción no lineal, ya que la muerte de los insectos no se produjo de forma acumulativa con el pasar de las horas. Los promedios de mortalidad presentados, aumentaron y disminuyeron a lo largo del periodo de evaluación (Ver gráficas 1 y 2). Este comportamiento puede deberse a varios factores que posiblemente intervinieron en el bioensayo, pero que no se tomaron dentro de las condiciones controladas. Por ejemplo, la edad y sexo del insecto, son variables que no se discriminaron en este trabajo y que pudieron haber influido en los resultados.

Otro aspecto es la composición de los extractos trabajados, ya que estos fueron extractos crudos, es decir, además de los metabolitos que según la literatura están presentes en las plantas utilizadas para la extracción, existen muchos otros compuestos como terpenoides, aceites esenciales y ácidos grasos entre otros, los cuales forman parte de los componentes que también podrían poseer actividad insecticida.

Este oscilamiento es más notorio en el extracto de las especies de *T. patula* y *T. erecta*, ya que la concentración más alta, 9.6g/mL no presenta mayor

mortalidad durante las ocho horas de tratamiento, solo lo hace de la sexta a la octava hora, siendo la hora siete la de mayor promedio de mortalidad (ver gráfica 2). En *Dichondra sericea*, la concentración más alta, solo presenta valores de mortalidad menores en la hora dos y la hora siete.

Otro parámetro que puede explicar estos valores de mortalidad tan heterogéneos, es la forma en que los tratamientos llegan a los insectos. Los posibles compuestos presentes en los extractos son en su mayoría lipofílicos, es decir, que su entrada en los insectos podría verse favorecida por el contenido relativamente alto de compuestos lipídicos presentes en las tráqueas de los insectos, permitiendo un paso rápido hacia el torrente sanguíneo (Castrique, 2004). Sin embargo, el modelo de bioensayo utilizado en este trabajo, podría no resultar tan eficiente, puesto que una aspersión o fumigación, garantiza un contacto directo, más no inmediato, de los principios activos, como posiblemente si ocurriría en un sistema acuático, donde el agua actuaría como un transportador eficaz de los compuestos, favorecidos por la insolubilidad que tienen en este medio. Según las observaciones hechas en el bioensayo de laboratorio, podría existir una diferencia de tiempo entre la aspersión, el contacto y la entrada de los principios activos a los sistemas blanco del insecto. Este tiempo puede ser otro factor, además de las concentraciones de los principios activos, que influye en la velocidad de acción de los extractos crudos evaluados en este trabajo.

Los variados principios activos, presentes en los extractos vegetales trabajados, tienen distintas velocidades de acción, como es el caso del compuesto volátil α -tertienil, identificado en las flores, hojas y raíces del

género *Tagetes*, al cual se le atribuye un posible modo de acción rápido a la hora de fumigar (Weaver, 1994). Este efecto es conocido como “knockdown”, y hace referencia a la facultad que tiene un compuesto para incapacitar un insecto impidiéndole volar coordinadamente o produciéndole excitabilidad en los movimientos. En el bioensayo de laboratorio con los extractos de las especies *T. erecta* y *T. patula*, se observó este mismo efecto en la primera hora de evaluación, sin embargo después de presentarse la excitabilidad de los insectos en la primera hora, transcurrieron seis horas más para que se diera el mayor promedio de mortalidad.

Sería relevante realizar para estas especies vegetales, análisis de tiempos medios de incapacitación y susceptibilidad ocasionada en los insectos, ya que este tipo de pruebas permitirían inferir qué metabolitos actúan más rápido que otros y cuáles son más letales, puesto que según la literatura, los compuestos del género *Tagetes* poseen valores bajos para las LD₅₀ pero que actúan lentamente, siendo los compuestos volátiles, los que primero se manifiestan incapacitando a los insectos, mas no matándolos. Es importante aclarar que este trabajo no incluye, la determinación ni la cuantificación exacta de de los metabolitos principales ni de los compuestos adicionales que conforman la mezcla, pero se asume hagan parte del extracto crudo.

Los resultados del análisis del área foliar consumida permiten concluir que los tratamientos evaluados disminuyen el daño causado por los insectos, sin embargo los parámetros con que se hizo la evaluación no permiten tener clara la magnitud de esta protección, ya que, al no permanecer los

insectos en los cubículos de evaluación, no se puede determinar si hubieran consumido más área foliar, o si se hubiera inhibido la alimentación o si finalmente la protección se hubiera dado por la muerte de los insectos. Es importante anotar que este insecto presenta un parámetro de comportamiento, en donde existe un tiempo en que se posa sobre las hojas y otro en que está volando, llegando a viajar hasta 500 millas en 3 o 4 días (Defra, 2003), condición que pudo haber influido en la no permanencia de los insectos en los cubículos de evaluación, aún contando con la presencia de las plantas de fríjol, altamente preferidas para su alimentación.

Los resultados obtenidos permiten establecer unos antecedentes de actividad insecticida para las plantas trabajadas, pudiendo dar lugar a estudios subsecuentes donde se incluyan aspectos cualitativos y cuantitativos de los compuestos que presentan las especies vegetales, complementados con análisis de laboratorio de dosis letales medias y efectos sobre otras especies animales, como también ensayos en campo abierto, que es la aplicación final de todo un proceso de evaluación.

Este trabajo hace parte de un proyecto más grande donde se pretende estandarizar el uso y la obtención de metabolitos secundarios no solo de las plantas trabajadas en el presente, sino en general de los muchos recursos vegetales, con el interés de contribuir al desarrollo de prácticas agrícolas más integrales e inofensivas para el entorno.

6. CONCLUSIONES

- ✓ Un extracto no es más eficaz que el otro, ya que ambos poseen valores de mortalidad altos que no difieren significativamente, pero que si les atribuyen características insecticidas.
- ✓ La concentración más efectiva a la que se deben preparar los extractos, es 9.6 g/mL, ya que, a esta concentración, en ambos tratamientos se produjo los mayores valores de mortalidad.
- ✓ La evaluación realizada en el invernadero, redujo significativamente el área foliar consumida siendo levemente más eficaz el extracto de *D. sericeae*.
- ✓ Deficiencias en la implementación del invernadero impidieron la realización de la evaluación de mortalidad, al no poder garantizar la presencia continua de los insectos dentro de los cubículos de evaluación.
- ✓ Los resultados estadísticos permiten concluir que ambos extractos presentan dos tipos de actividad biológica, la insecticida y la antialimentaria.

- ✓ Los promedios de mortalidad para ambos extractos a 9.6 g/mL permiten determinar que, pueden servir como herramienta para el control integral de insectos predadores.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar a los extractos de las especies *Tagetes erecta*, *Tagetes patula* y *Dichondra sericea*, un estudio fitoquímico preliminar que permita determinar su composición general.
- ✓ Para conocer la magnitud exacta de la actividad insecticida, es importante realizar caracterizaciones y cuantificaciones de los compuestos presentes en los extractos.
- ✓ Para fines prácticos de la aplicación del extracto, deben realizarse cálculos de las dosis letales medias y tiempos de susceptibilidad del insecto.
- ✓ La determinación de la mortalidad del insecto en condiciones más semejantes a las de campo, es recomendable hacerlas en mangas que cubran uno o dos macetas con las plantas sembradas, lo cual resulta más fáciles de implementar, pudiendo garantizar que el espacio donde estarán los insectos, será hermético.
- ✓ Realizar los bioensayos con especies de insectos determinadas, incluyendo la variable del sexo, puesto que machos y hembras pueden tener diferente susceptibilidad a los compuestos.

LISTA DE REFERENCIAS CITADAS

ABBOT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. En: J. Econ. Entomol, Vol. 18 (1925); p. 265-267.

BATISTA CASTOR MARQUES, Gilberto; AVILA Crebio José y POSTALI PARRA José Roberto. Danos causados por larvas e adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) em milho. En: Pesq. Agropec. Bras., Brasília, Vol. 34, No. 11 (nov.1999); p. 1983-1986

BRADFORD, Bearce. Marigolds (*Tagetes sp.*). Centre for Agriculture, Natural Resources and Community Development. West Virginia University, Extension Service. Actualización: abril de 2005. Citado el 6 de mayo de 2002. No se encuentra disponible en la web.

CAPINERA, Jhon L. Banded Cucumber Beetle *Diabrotica balteata* LeConte (Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae). EDIS Electronic Data Information Source of UF/IFAS Extension. Actualización: 14 de abril de 2005. Citado el 26 de mayo de 2003. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu>.

CARVALHO, S.M. Em defesa do feijão. En: Ciência Hoje. Vol. 65, No. 11(1990); p. 64-67.

CASIDA, J.E. Pyrethrum: The Natural Insecticide. Academic Press New York. (1973); p. 1983-1986.

CASTILLO, Dora Liliana. Aislamiento, caracterización y cuantificación de rotenonas de especies de barbascos en el municipio de Popayán. Popayán, 2002, 48p. Trabajo de grado (Químico). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Química.

CASTRIQUE, Emma. The molecule of the mounth. University of Bristol. School of Chemistry . Actualización: enero de 2004. Citado el 22 de enero de 2005. Disponible en: www.chm.bris.ac.uk/motm/rotenone/piscicideh.html

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Descripción y daños de las plagas que atacan el fríjol; Guía de estudio. Contenido Científico: Aart van Schoonhoven, Luis A. Gómez y Rafael Valderrama. Producción: Héctor F. Ospina y Carlos A. Flor. Cali, Colombia. CIAT. Segunda Edición, (noviembre de 1982); 32 p. (Serie 04SB-05.01)

CINDAP. Propuesta de Fortalecimiento a las Comunidades Indígenas de Guabito, Pílamó y López Adentro en el Norte del Cauca. 2000.

DAVIDE, R.G. Effects of Nematocides and *Tagetes erecta* on the control of *Meloidogyne incognita* and on yield of tomato. Phillipp. En: Phytopathol. Vol. 11 (1978); p. 141-144.

DEFRA, Department for Environment, Food and Rural Affaire. Plants and Seeds; Diabrotica species. Actualización: 1 de abril de 2003. Citado el 29 de septiembre de 2004. Disponible en: www.defra.gov.uk.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency) glossary. Actualización: martes 17 de mayo de 2005. Citado el 18 de febrero de 2002. Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/glossary/m-q.html#p>).

_____ Pesticide Fact Sheet 10/88. (October 7-1988). En: Cornell University. Actualización: 12 de febrero de 2003. Citado el 27 de mayo de 2003. Disponible en: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/propetamphos-zetacyperm/rotenone/insect-prof-rotenone.html>

_____ Regulating Biopesticides. Actualización: miércoles, 27 de abril de 2005 Citado el 12 de junio de 2003. Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/index.htm>

FUKAMI, J.I. Insecticide Biochemistry and Physiology. Ed. Wilkinson, C.F. Plenum, New York ,(1976); p. 353-396.

FUNDACION PARA LA COMUNICACIÓN POPULAR FUNCOP - CAUCA. Repuesta al Manejo con técnicas orgánicas y biológicas en el cultivo del chontaduro (*Bactris gasipaes* H.B.K Bailey) en el corregimiento de Cuatro Esquinas, municipio del Tambo, departamento del Cauca. Informe Final. (sep. 2000); p.1-35.

GARDEN GUIDES. Marigold, French Marigolds (*Tagetes patula*), African Marigold (*Tagetes erecta*). Actualización: 2004. Citado en febrero de 2003. Disponible en: www.gardenguides.com/flowers/annuals/marigold.htm

HAYES, W.J. Pesticides derived from plants and other organisms. (1982); p 75-111, En: W.J. Hayes (ed.) Pesticides Studied in Man. Williamson and Williamson, Baltimore.

HERBOTECNIA, Plantas autóctonas, *Dichondra sericea* Swartz. Actualización: 25 de septiembre de 2003. Citado el 6 de abril de 2004. Disponible en: <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-dichondra.html>

HOLLINGWORTH, R.M. y AHAMMADSAHIB, H.I. En: Rev. Pestic. Toxicol. Vol. 3 (1995); p. 277- 302.

HUANG, S.P. Cropping effects of marigolds, corn and okra on populations of *Meloidogyne javanica* and on carrot yields. En: J. Nematol. Vol. 16, (1984); p. 396-398.

ISTA. Handbook of Method Validation. ISTA, Bassersdorf, Switzerland In press. 2005

JUNG, Woo suk; CHUNG, Ill-Min y YOUNG HEO, Hwa. Manipulating Isoflavone Levels in Plants. En: J. Plant Biotechnology. Vol. 5, No.3 (Mar. 2003); p. 149-155.

KUMAR, Anuj *et al.* Effect of Root Extracts of Mexican Marigold, *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae), on Six Nontarget Aquatic Macro invertebrates. En: Environmental Entomology. Vol. 29, No. 2 (apr. 2000); p. 140-149.

MARCANO, D. y HASEGAWA, M. Fotoquímica Orgánica. Caracas (Venezuela): CDCHT. UCV, 1991. 451 p.

MARADUFU, A; LUBEGA, R y DORN, F. Isolation of (5E) –Ocimenone, a mosquito larvicide from *Tagetes minuta*. En: Lloydia (Cinnci). Vol 41, (1978); p. 181-183.

MATEOS, Pedro F. Producción industrial de metabolitos secundarios: Metabolitos secundarios de interés industrial. Servidor Educativo, Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca. Actualización: 15 de Marzo de 2005. Citado el 23 de agosto de 2002. Disponible en: <http://edicion-micro.usal.es/web/SEFIN/MI/tema08MI.html>

MATSUMURA, F. Toxicology of Insecticides (2da. Ed), 1985 Plenum Press, New York.

MILLER, M.P., and AHRENS, J.F. Influence of growing marigolds, weeds, two covercrops and fumigation on subsequent populations of parasitic, netamodes and plant growth. En: Plant Diseases Reports. Vol. 53 (1969); p. 642-646.

MORALLO-REJESUS, B y DECENA, A. The activity, isolation, purification and identification of the insecticidal principles from *Tagetes*. En: Philipp. J. Crop Sci. Vol. 7 (1982); p. 31-36.

PESTICIDES NEWS, Rotenone. No. 54 (December 2001); p. 20-21. En: PAN (Pesticide Action Network) International Website. Citado el 16 de diciembre

de 2003. Disponible en: <http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/rotenone.htm>

PHILOGÈNE, B.J.R., *et al*/ Efficacy of the plant phototoxin a-terthienyl against *Aedes intrudens* and effects on non-target organisms. En: Journal of Chemical Ecology. Vol. 12 (1986); p. 893-898.

REHCIGLE, Jack and REHCIGLE, Nancy A. Biological and Biotechnological Control of Insect Pests. JCRC Press, September 1999. 392 p. ISBN 1566704790.

REYNOLDS, L. Bruce; POTTER, John W and BALL-COELHO, Bonnie R. Crop Rotation with *Tagetes* sp. is an Alternative to Chemical Fumigation for control of Lesion Nematodes. En: Agronomy Journal. Vol. 92, (sep.-oct. 2000); p. 957-966.

ROIG Y MESA, J. Diccionario Botánico de Nombres Vulgares Cubanos. La Habana (Cuba): Edit. Científico-Técnica, 1988.Tomo 1 y 2. 1140 p.

RONDÓN RANGEL, José Armando. Guía descriptiva de los barbascos de Venezuela. En: Revista de la facultad de farmacia vol. 43 (2002); p. 34-42

SANINET IICA. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Citado el 19 de Marzo de 2002. Disponible en: www.iicasaninet.net.

THE MERCK INDEX. 13th Edition (a U.S. publication, Whitehouse Station, N.J., USA)

VAZQUEZ CONTRERAS, Edgar. Bioquímica y Biología Molecular en línea. Instituto de Química de la UNAM. Actualización: 3 de octubre de 2003. Citado el 9 de junio de 2003. Disponible en: <http://bq.unam.mx/~evazquez>

VELEZ, María Cristina; AGUDELO, Carlos Alberto y MACIAS, Diego. Monografías de la Flora Andina: Flora Arvense de la Región Cafetera Centro-Andina de Colombia. Armenia, octubre de 1998. Tomo I, p. 180 y 181. (Publicación seriada de la Universidad del Quindío). ISSN 0123-9538.

WARE, George W. y WHITACRE, David M. En: The Pesticide Book. 6th Ed. (2004); 496 p. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio. (ISBN 1892829-11-8).

WEAVER, David K, WELLS, Carl D, DUNKEL, Florence V, BERTSH, Wolfgang, SING, Sharlene E y SRIHARAN, Shobha. Insecticidal activity of foliar and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). En: J. Econ. Entomol. Vol 87, No. 6 (1994); p. 1718-1725.

WELLS, Carl D; BERTSCH, W and PERICH, M. Insecticidal volatiles from the marigold plant (genus *Tagetes*). Effect of species and simple manipulation. En: Chromatographia. Vol 35 (1993); p. 209-215. Citado por: WEAVER, David K et al. Toxicity of Fractionated and Degraded Mexican Marigold Floral Extract to Adult *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). En: J. Econ. Entomol. Vol. 90, No. 6 (Dec. 1997); p. 1678.

WELTY, L.E and PRESTBYE, L. Determination of feasibility of using rotational crops to reduce pest problems in peppermint. Report of two year project. Montana State University Northwest Agricultural Experiment Station, Kalispell, MT, 1993. Citado por: KUMAR, Anuj *et al.* Effect of Root Extracts of Mexican Marigold, *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae), on Six Nontarget Aquatic Macro invertebrates. En: Environmental Entomology. Vol. 29, No. 2 (Abr. 2000); p. 140.

WOOD, Alan. Compendium of Pesticide Common Names. Actualización: mayo de 2005. Citado el 30 de mayo de 2003. Disponible en: <http://www.hclrss.demon.co.uk/rotenone.html>

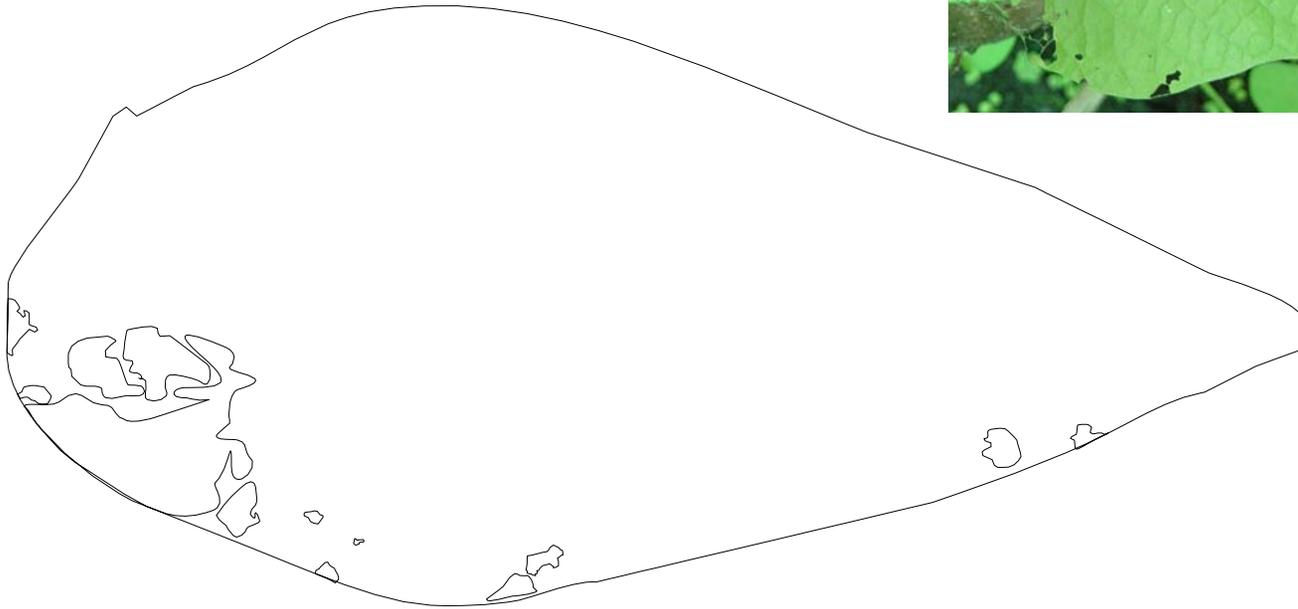
WORTHING C.R. y WALKER S.B. The Pesticide Manual. A World Compendium. 8th ed. Thornton Heath, UK: The British Crop Protection Council. 1987

YASNO DULCE, Ginet Margot; MELENDEZ BENAVIDEZ, Jhon Carlos y ROMERO CUERO, Maritza. Evaluación de la Actividad Insecticida y estudio de Metabolitos Secundarios presentes en Heterocondylos vitalbae, Tagetes caracasana, Tagetes graveolens y Polygonum punctatum. Popayán, 1997. 100 p. Trabajo de grado (Licenciado en Educación con Especialidad en Biología). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de Biología.

ANEXOS

Anexo B. Ejemplo del procesamiento de imágenes en Auto Cad, para el cálculo de algunas áreas totales y áreas libres de hojas de fríjol

3.1% de área foliar consumida



Fuente: Auto Cad 2004

Anexo A. Análisis de suelos



Laboratorio de Suelos C.I. Palmira-36 años
Programa Nacional de Recursos Biofísicos, Regional 5

| | | | | |
|-------------------------------|-------------------|----------------|----|------|
| Nombre: IVONNE ANDREA NARVAEZ | | DD | MM | AA |
| Finca: | Fecha entrada: | 7 | 10 | 2003 |
| Tel / Fax: 2805189-8241393 | Fecha salida: | 16 | 10 | 2003 |
| | Material: | Suelos x Aguas | | |
| Municipio: POPAYÁN | Tipo de análisis: | Completo | | |
| Departamento: CAUCA | | | | |

| RESULTADOS DEL ANALISIS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|------------------|------------|-------|---------|-------|---|------|------|--------|--------|------|-------------------------|------|------|------|------|-------|-----|-------|-----|------|
| Identif | No.Lab | Prof. (cm) | pH | N-total | M.O | C | P | S | Sat Al | Al + H | Al | Ca | Mg | K | Na | ClCe | B | Cu | Fe | Mn | Zn |
| | | | 1:2:5 | % | | | ppm | | % | | | Cmol ⁽⁺⁾ /Kg | | | | | mg/Kg | | | | |
| 1 | 30M ² | 1310 | 0-20 | 5.4 | 19.31 | | 13.0 | 23.4 | 4.79 | 0.60 | 0.40 | 5.42 | 1.17 | 0.81 | 0.34 | 8.34 | 0.05 | 4.6 | 195.0 | 5.3 | 23.3 |
| | | | F | A | | D | A | | | | C | B | D | A | F | | F | A | | C | A |

CONSULTE AL AGRONOMO DE ASISTENCIA TECNICA PARA SELECCIONAR LOS FERTILIZANTES, METODOS Y EPOCAS DE APLICACIÓN

Interpretación de los resultados: A: Contenido abundante o alto, más no excesivo. B: Contenido suficiente o valor adecuado. C: Contenido moderado o valor adecuado. D: Contenido pobre o valor deficiente. E: Valor muy alto, excesivo que puede ser perjudicial. F: Contenido ínfimo o valor muy pobre. Para pH: A: Alcalino. B: Neutro. C: Ligeramente ácido. D: Moderadamente ácido. F: Fuertemente ácido. E: Muy alcalino.

| SOLUBLES | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|------------------|-----------|---|----|------|---------------------|-------------------------|----|---|----|-----|-----|-----------------|------------------|-----------------|----|--------|---------|-----|---------|-------|--|
| Identif | No.Lab | Textura % | | | C.E | SatH ₂ O | Ca | Mg | K | Na | Ras | PSI | CO ₃ | HCO ₃ | SO ₄ | Cl | Dureza | Calific | CO3 | a.s.n.m | Ca/Mg | |
| | | A | L | Ar | dS/m | % | Cmol ⁽⁺⁾ /Lt | | | | | | | | | | | | | | (m) | |
| 1 | 30M ² | | | | 0.52 | | | | | | | | | | | | | | | 1700 | 4.63 | |
| | | FA | | | C | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| RECOMENDACIONES DE FERTILIZACIÓN | | | | | | OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES | | Métodos de análisis | | |
|----------------------------------|------------------|---------|--------------------------|-------------------------------|------------------|---------------------------------|----|---------------------|--|--|
| Identif | No.Lab | Cultivo | Nutrientes puros en K/ha | | | | | | | |
| | | | N | P ₂ O ₅ | K ₂ O | CaO | Mg | | | |
| 1 | 30M ² | Frijol | 25 | 70 | 00 | | 25 | | | |

1310: Relación Ca/Mg amplia y muy bajo valor de Magnesio Intercambiable. En lo posible no disminuir la dosis de este nutriente sugerida. Aplicar la dosis Fosfórica y Magnésica al inicio del plan. La dosis Nitrogenada solo debe ser aplicada si sobre los 30-35 días después de germinado el cultivo, manifiesta los síntomas de deficiencia de nitrógeno. Aplicar en mezcla con los fertilizantes fosfóricos y Magnésicos 10Kg de Borax/ha.

Acidez Intercamb: KCl; M.O Walkley & Black; P:Bray; Ca, Mg, K y Na: AcONH₄ 1N pH:7. Cu, Fe, Zn, Mn: Olsen modificado. B y S: Fosfato monocálcico.