



**ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL EXTRACTO VEGETAL DE
Matricaria chamomilla CONTRA *Tecia solanivora*, EN TUBÉRCULOS DE
Solanum tuberosum cv Parda pastusa.**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, D.C., 2019**



**ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL EXTRACTO VEGETAL DE
Matricaria chamomilla CONTRA *Tecia solanivora*, EN TUBÉRCULOS DE
Solanum tuberosum cv Parda pastusa.**

**PAOLA ANDREA MENDEZ ZAMBRANO
LUIS DAVID MERCHÁN TRIANA**

**LIGIA CONSUELO SANCHEZ LEAL M.Sc.
Asesora**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, D.C., 2019**

*Dedicado a:
Dios y a
Nuestras Familias*

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por ser el inspirador y darnos fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A nuestras familias

Por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos. Ha sido el orgullo y el privilegio de ser sus hijos, son los mejores.

A nuestros docentes

A todos los docentes, que a lo largo de nuestra vida han aportado su conocimiento para nuestra formación como profesionales y principalmente como personas íntegras e idóneas, especialmente a la docente Ligia Consuelo Sánchez por su dirección, amistad y apoyo incondicional. De igual manera extendemos los agradecimientos al Doctor Edison Tello Camacho; director del grupo del Laboratorio de Bioprospección de la Universidad de la Sabana y a Liliana Celi, Stephanie Numa y Juan Camilo Ovalle de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), por todo su apoyo, asesoría y colaboración durante la realización de esta investigación.

A Nuestros Amigos

Son muchas las personas especiales a las que nos gustaría agradecer por su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de nuestra vida. Algunos están aquí con nosotros y otras en nuestros recuerdos y en el corazón. Sin importar en donde estén o si alguna vez llegan a leer esta dedicatoria queremos darles las gracias por formar parte de nuestra vida, por todo lo que nos han brindado y por todos sus buenos deseos y bendiciones.

TABLA DE CONTENIDO

Pág

1. Resumen	10
2. Introducción	14
3. Objetivos.....	16
4. Antecedentes.....	17
5. Marco referencial	21
5.1 Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	21
5.2 Clasificación taxonomica <i>Solanum tuberosum</i>	21
5.3 Origenes e importancia	22
5.4 Cultivo.....	22
5.5 Cultivo de papa en Colombia	23
5.6 plagas y microorganismos fitopatógenos	23
5.7 Polilla guatemalteca (<i>Tecia solanivora</i>).....	25
5.8 Clasificación taxonómica de <i>Tecia solanivora</i>	25
5.9 Ciclo de vida.	26
5.10 Comportamiento y daño a los cultivos de papa pastusa.....	26
5.11 Pérdida económica por <i>Tecia solanivora</i>	27
5.12 Control químico de <i>Tecia solanivora</i>	27
5.13 Control biológico de <i>Tecia solanivora</i>	27
5.14 Insecticidas	28
5.15 Tipos de insecticidas.....	28
5.16 Efectos secundarios en las abejas y en los humanos	28
5.17 Manzanilla (<i>Matricaria</i>).....	29
5.18 Clasificación taxonómica de <i>Matricaria chamomilla</i>	29
5.19 Tipos de manzanilla	29
5.20 Cultivo de manzanilla	30
5.21 Manzanilla alemana (<i>Matricaria chamomilla</i>)	30
5.22 Propiedades de la manzanilla alemana.....	30
5.23 Extracto vegetal	30
5.24 Concentración de extracto vegetal por rotoevaporador	31
5.25 Uso del extracto vegetal como insecticida.....	31

6	Diseño metodológico	32
6.1	Universo, población y muestra	32
6.2	Hipótesis, variables e indicadores	32
6.3	Técnicas y procedimientos	33
7.	Bioensayos	38
8.	Resultados	46
8.1	Bioensayo de repelencia	47
8.2	Bioensayo de mortalidad	49
9	Discusión	54
10	Conclusiones	59
11	Recomendaciones	60
12	Referencias	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Clasificación taxonómica de <i>Solanum tuberosum</i>	22
Figura 2. Clasificación taxonómica de <i>Tecia solanivora</i>	26
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Tecia solanivora</i>	27
Figura 4. Clasificación taxonómica de <i>Matricaria chamomilla</i>	30
Figura 5. Secado del material vegetal.....	34
Figura 6. Picado del material vegetal	35
Figura 7. Maceración del material vegetal (<i>Matricaria chamomilla</i>) en metanol y cloroformo	35
Figura 8. Filtración del extracto vegetal obtenido luego de 24 horas en maceración.....	36
Figura 9. Concentración de filtrado del extracto de <i>Matricaria chamomilla</i> en rotoevaporador	36
Figura 10. Viales de almacenamiento del extracto.....	37
Figura 11. Observación de huevos de <i>Tecia solanivora</i> al estereoscopio	39
Figura 12. Huevos de <i>Tecia solanivora</i> , almacenados en condiciones para su desarrollo	40
Figura 13. Larvas en estadio L1 sobre la papa en cámara de incubación	40
Figura 14. Larvas entrando y saliendo del tubérculo por túneles de entrada.....	41
Figura 15. Deformación del tubérculo y larva L4.	41
Figura 16. Cámara para el albergue de los adultos.....	42
Figura 17. Cámaras de ovipostura	42
Figura 18. Variación de la temperatura y humedad relativa durante la cría	43
Figura 19. Olfatómetro para bioensayo de repelencia.....	44
Figura 20. Bioensayos de mortalidad.....	46
Figura 21. Controles de los bioensayos de mortalidad.....	46
Figura 22. Proporción de repelencia de <i>Tecia solanivora</i> a extracto metanólico y clorofórmico de <i>Matricaria chamomilla</i>	49
Figura 23. Resultado controles bioensayo de mortalidad.....	51
Figura 24. Proporción de mortalidad de <i>Tecia solanivora</i> a extracto metanólico de <i>Matricaria chamomilla</i>	52
Figura 25. Proporción de mortalidad de <i>Tecia solanivora</i> a extracto clorofórmico de <i>Matricaria chamomilla</i>	52
Figura 26. Comparación del extracto metanólico y el extracto cloroformico en ensayos de mortalidad a las 24 horas.....	53
Figura 27. Comparación del extracto metanólico y el extracto cloroformico en ensayos de mortalidad a las 48 horas.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Pág

Tabla 1. Condiciones agroclimatológicas	24
Tabla 2. Condiciones de peso del material vegetal, volumen de solvente, vacío, temperatura y revoluciones, utilizadas en la extracción del extracto metanólico de <i>Matricaria chamomilla</i>	37
Tabla 3. Condiciones de peso del material vegetal, volumen de solvente, vacío, temperatura y revoluciones, utilizadas en la extracción del extracto Clorofórmico de <i>Matricaria chamomilla</i>	38
Tabla 4. Porcentaje de repelencia e índice de repelencia a las 48 horas.	48
Tabla 5. Porcentaje de mortalidad de los extractos Metanólico y Clorofórmico a las 24 y 48 horas.....	50



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO

ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL EXTRACTO VEGETAL DE
***Matricaria chamomilla* CONTRA *Tecia solanivora*, EN TUBÉRCULOS DE**
***Solanum tuberosum* cv Parda pastusa**

En Colombia, uno de los cultivos de mayor importancia es la papa (*Solanum tuberosum*). Esta especie vegetal es atacada por *Tecia solanivora*, polilla que daña el tubérculo y produce las mayores pérdidas económicas. Actualmente, el control se realiza con agroquímicos, pero esto produce daño en la salud del agricultor y a nivel ambiental. El objetivo del presente estudio, fue evaluar la actividad insecticida *in vitro* de extractos vegetales obtenidos de *Matricaria chamomilla*, frente a larvas L1 y adultos de *Tecia solanivora*. La metodología incluyó la extracción de metabolitos de *Matricaria chamomilla* con metanol y cloroformo, bioensayos de repelencia y mortalidad utilizando concentraciones del extracto al 1.25, 2.5, 5, 10 y 20%. El bioensayo de repelencia se realizó mediante un diseño experimental con olfatómetro, con diez insectos sin diferenciación sexual de estadio adulto en cada ensayo. Los bioensayos de mortalidad se realizaron en larvas neonatas (L1), usando placas de Petri con papel filtro impregnado con 300µL del extracto, cada ensayo con 10 larvas en cada caja. Los

datos de los ensayos fueron registrados transcurridas 24 y 48 horas después de realizados. Los resultados obtenidos porcentualmente en el ensayo de repelencia, no representan un aporte al biocontrol de *Tecia solanivora*. En los ensayos de mortalidad se observaron resultados prometedores al obtener mortalidad inicial del 20%, hasta el 100% de larvas, a las 48 horas de realizado el bioensayo. A futuro, es necesario complementar estos ensayos, utilizando huevos y aplicando el extracto en condiciones controladas en campo.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, *Matricaria chamomilla*, *Tecia solanivora*, Extracto vegetal.

Estudiantes: Paola Andrea Méndez Zambrano,
Luis David Merchán Triana

Docentes: Ligia Consuelo Sánchez

Institución: Colegio Mayor de Cundinamarca

Fecha: Abril 5 de 2019



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO

ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL EXTRACTO VEGETAL DE
***Matricaria chamomilla* CONTRA *Tecia solanivora*, EN TUBÉRCULOS DE**
***Solanum tuberosum* cv Parda pastusa**

In Colombia, one of the most important crops is the potato (*Solanum tuberosum*). This plant species is attacked by *Tecia solanivora*, a pest that damages the tube and causes the greatest economic losses. Currently, the control is carried out with agrochemicals, but this practice damage to the health of the farmer and environmentally. The objective of the study was to evaluate the *in vitro* insecticidal activity of plants of *Matricaria chamomilla*, against larvae L1 and adults of *Tecia solanivora*. The methodology included the extraction of metabolites of *Matricaria chamomilla* with methanol and chloroform, bioassays of repellency and mortality using concentrations of the extract at 1.25, 2.5, 5, 10 and 20%. The repellency bioassay was carried out by means of an experimental desing using an olfactometer, with ten adult insects with out sexual differentiation in each assay. The mortality bioassays were performed on neonatal larvae (L1), using Petri dishes with filter paper impregnated with 300uL of the extract, each assay with 10 larvae in each dish. The data of the assay were recorded after 24 and 48 hours after they were performed. The results obtained percentually in the repellency test do not represent a contribution to the biocontrol of *Tecia solanivora*. In the mortality assay, promising results were achieved by obtaining the initial mortality of 20%, up

to 100% of larvae, 48 hours after the bioassay. In the future, it is necessary to complement these tests, using eggs and applying the extract under controlled conditions in the field.

Keywords: *Solanum tuberosum*, *Matricaria chamomilla*, *Tecia solanivora*, vegetable extracts.

2. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*), se ubica dentro de las tres plantas más cultivadas en el país, razón por la cual es un producto de gran importancia económica. Como toda variedad vegetal es atacada por insectos plaga como la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*), lepidóptero que causa grandes pérdidas, las cuales se atribuyen, no sólo al deterioro de la apariencia del tubérculo que reduce su valor comercial y los ingresos de los cultivadores, sino al hecho de que los tubérculos severamente afectados no se pueden utilizar para semilla ni para consumo humano o animal”².

Con el fin de liberar los cultivos comerciales del ataque de los insectos, hay un uso indiscriminado de agropesticidas de naturaleza química con uso fitosanitario, como los neocotinoídes, que son uno de los pilares para el manejo integrado de las plagas, que atacan los cultivos de papa. Adicionalmente, agroquímicos causan contaminación química a suelos, aire y agua; es por esto, que su estudio es de gran importancia “a fin de comprender cómo la tendencia actual de la intensificación agrícola, podría estar afectando tanto a los servicios ecosistémicos existentes, como a la agricultura futura, especialmente en términos de capacidad de polinización”³.

Colombia por ser un país agrícola por excelencia, necesita innovar en la creación de tecnologías que permitan que sus productos sean de mejor calidad; la papa es uno de los productos más simbólicos del país y “representa la mitad de la producción de tubérculos mundialmente, siendo Asia, África y América Latina los mayores productores”⁴. Por este motivo, se deben proponer nuevas alternativas de productos fitosanitarios para el control de plagas, orientadas en el uso de tecnologías que permitan obtener como producto final alimentos de la más alta calidad, sin residualidad de químicos tóxicos para el ser humano y a la vez generando una agricultura más sostenible.

El presente proyecto se realizó con el fin de determinar si el extracto vegetal de manzanilla alemana (*Matricaria chamomilla*) puede ser utilizada como insecticida contra *Tecia solanivora*, proporcionando un producto con características ideales, controlando la infestación por el lepidóptero, en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum* cv. Parda pastusa) y garantizar de esa manera la sostenibilidad de los agricultores.

Matricaria chamomilla, fue elegida para el desarrollo de este trabajo de debido a que en el departamento de Cundinamarca, desde el año 2008 el area sembrada de plantas aromáticas a nivel nacional se ha incrementado en un 279%, segun datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, siendo la manzanilla alemana una de las más comercializadas.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad insecticida *in vitro* de extractos vegetales obtenidos a partir de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) frente al manejo de *Tecia solanivora*, plaga que afecta los cultivos de *Solanum tuberosum* cv Parda pastusa.

- **Objetivos específicos**

Obtener el extracto polar (metanólico) y apolar (cloroformico) de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), para la determinación de su actividad insecticida.

Realizar la evaluación de la eficacia del extracto vegetal contra la polilla guatemalteca, utilizando bioensayos de repelencia y mortalidad.

4. ANTECEDENTES

En Colombia, los plaguicidas se importan y emplean desde el año 1962, pero su síntesis interna se realiza desde 1985, con la producción de herbicidas y fungicidas en 1995. Los plaguicidas no se han limitado solamente al uso agrícola, sino también, en el control de vectores de enfermedades como Fiebre Amarilla y Dengue. Dentro del área agrícola, se observa el uso indiscriminado de pesticidas, situación que es un riesgo para los seres vivos, el medio ambiente y efectos adversos en especies no blanco. Al respecto, el ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, propone regular su uso por medio de programas, que renueven las actividades agrícolas con la implementación de estatutos, cuyo objetivo es la seguridad de los recursos naturales y la salud humana⁵.

A continuación, se describen algunos reportes:

Zekovic y colaboradores en 1994, en su publicación “Chromatography in Our Investigations of Camomile (*Matricaria chamomilla* L.)”, mediante técnicas cromatográficas como HPLC, identificaron algunos de los compuestos volátiles y no volátiles de la manzanilla. Entre los compuestos presentes se hallaron compuestos pertenecientes al tipo flavonoides, los cuales cumplen función antioxidante⁶.

En 2003 Porrini y colaboradores en su artículo “Predicción de daños de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: Gelechiidae) en el Ecuador”, realizaron un estudio de campo con *Tecia solanivora* en el cual se estimó el número de población de adultos de esta polilla por medio de trampas de feromonas y a través de la instalación de una estación meteorológica, se recolectaron datos de temperatura, humedad relativa y precipitación. Se logró obtener datos de floración del cultivo de papa, estos con el fin de predecir el momento en que la hembra de la polilla no ha arribado al campo, la posible tasa de infestación y las decisiones que puede tomar el agricultor para la prevención de la contaminación de los cultivos⁷.

En 2008 Ríos y colaboradores en su publicación “Actividad citotóxica y *leishmanicida in vitro* del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*)”, evaluaron la actividad del aceite esencial de manzanilla en condiciones de laboratorio en amastigotes de distintas especies. Adicionalmente determinaron la actividad citotóxica de dicho aceite en células mamíferas de la línea promonocítica humana U-937. Los resultados obtenidos fueron favorables para la acción *leishmanicida* y para el efecto citotóxico del aceite, dejando soporte para el desarrollo de nuevos medicamentos⁸.

Bilal y colaboradores en 2009, en su publicación “Bio-Pesticides: New Tool for the Control of *Aedes (Stegomyia) albopictus*(Culicidae: Diptera) in Pakistan” sugieren la utilización de extractos de cinco tipos diferentes de plantas como estrategia para el control de mosquitos ya que son de fácil adquisición y baja toxicidad. Los aceites fueron extraídos por medio de destilación a vapor y su actividad se estimó siguiendo los protocolos de la OMS. Los resultados se obtuvieron en términos de porcentaje de mortalidad para las cinco especies (*Myristica fragrans*, *Citrus sinensis*, *Matricaria chamomilla*, *Mentha spicata* y *Zingiber officinale*). Entre estas la planta que presentó mayor efectividad fue *Citrus sinensis* con un porcentaje de mortalidad del 82%⁹.

Bosa y colaboradores en el 2011, en su artículo “Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum*” estudiaron el efecto producido por los olores generados a partir de las partes morfológicas de la planta de la papa, evaluando la conducta del insecto. Examinaron compuestos emitidos por las flores y los tubérculos, siendo las flores las que presentaron mayor respuesta antenal de *Tecia solanivora*. Estos ensayos fueron llevados a cabo por medio de olfatómetro. Los autores sugirieron que debe realizarse la valoración de distintos compuestos sintéticos de la planta de papa y su combinación¹⁰.

En el año 2012 Espinel y colaboradores mediante su publicación “Experimental mixtures of *Phthorimaea operculella granulovirus* isolates provide high biological efficacy on both *Phthorimaea operculella* and *Tecia solanivora* (Lepidoptera:

Gelechiidae)” informaron sobre la capacidad insecticida que pueden tener la mezcla de aislados de Granulovirus en el control de estas plagas. Este ensayo lo realizaron al exponer los estadios larvales de los insectos con el virus. Además, consideran este tipo de alternativas como viables para el desarrollo de bioplaguicidas, aunque sugieren que se deben analizar muchos factores para garantizar su viabilidad en una producción industrial¹¹.

Con relación a la toxicidad del uso de agroquímicos se encontraron dos trabajos que reportan su efecto sobre las abejas. En 2013 Kasiotis y colaboradores en su artículo “Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees” desarrollaron el método LC-ESI-MS / MS con el cual encontraron en los cuerpos de las abejas, 115 analitos químicos correspondientes a plaguicidas de diferentes clases. Con los resultados obtenidos se llegó a la conclusión, que este método es una potencial herramienta indicadora y de monitoreo en la determinación de plaguicidas, cuando se sospeche de la intoxicación de abejas melíferas¹² por insecticidas. Las abejas por su nula selectividad hacia plantas específicas, permite que el proceso de reproducción mediado por la polinización se lleve a cabo en cientos de especies vegetales, es allí, donde radica su importancia en los cultivos para incrementar el lote de producción.

En el otro estudio, Arena y Sgolastra mediante su estudio “*A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides*” en 2014 realizaron una comparación de sensibilidad a los pesticidas de las abejas melíferas y otras 19 especies más que pertenecen al género *Apis*. La relación de sensibilidad indicó que *Apis no mellifera* se considera una de las especies más sensibles a los plaguicidas, en comparación con otras especies de abejas. Sin embargo, no se han encontrado datos que soporten este argumento¹³. En efecto, se puede evidenciar la manera en que los insecticidas pueden afectar a varias especies entomopolinizadoras, generando su disminución inconsciente, lo que limita la fecundación de plantas y a su vez la producción de frutos y semillas.

Con relación al manejo biológico de insectos, Villamil J. y colaboradores en su artículo “Actividad biológica de hongos entomopatógenos sobre *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae)” en 2015, evaluaron el efecto individual y combinado de dos aislamientos de *Beauveria* spp para ser comparados con bioplaguicidas, los cuales emplearon diseños al azar y se evaluaron los porcentajes de daño, control y rendimiento en el momento de la cosecha. Concluyeron que la unión de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria brongniartii* (T6) fue el tratamiento más efectivo por su bajo porcentaje de daño, mayor porcentaje de control sobre la plaga y la mejor producción del tubérculo de la papa, haciendo de este tratamiento una opción a futuro para ser incluido dentro del esquema de manejo integrado de plagas¹⁴.

Jiménez C, Pantoja A., y Leonel H. en el año 2016 en su publicación “Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca “La Pila” hacen énfasis en las implicaciones negativas que tiene el uso de insecticidas en la salud de los trabajadores en el área rural, en especial a causa de no aplicar o desconocer las medidas preventivas para su manejo. Los efectos más frecuentes son dolor de cabeza y estómago, vómito e incluso diarrea, sin embargo, según la toxicidad, dosis y frecuencia de exposición, los efectos pueden empeorar a problemas de salud más graves. Ellos emplearon métodos informáticos para comparar los resultados obtenidos de dispersiones y evaluaron los riesgos por contacto¹⁵.

Teniendo en cuenta los antecedentes expuestos, con esta propuesta se espera encontrar una alternativa amigable con el medio ambiente, que pueda ser utilizada como insecticida para controlar la población de *Tecia solanivora* y reducir los efectos secundarios sobre el ambiente, la salud y la economía. Esto, debido al uso que los agricultores hacen de agroquímicos y que está causando la muerte de *Apis mellifera* a los apicultores.

5. MARCO REFERENCIAL

5.1 Papa (*Solanum tuberosum*).

Solanum tuberosum, es una especie vegetal perteneciente a la familia Solanácea, cuyo género tiene más de 2.000 especies, las cuales son cultivadas alrededor del mundo. “En Colombia las variedades más utilizadas son: tuquerreña o sabanera, parda pastusa, pastusa suprema, rubí, salentuna, carriza, diacol capiro-r12, ICA única, ICA nevada, ICA Nariño, milenio-1, diacol Monserrate y para criolla (*Solanum phureja*)”¹⁶.

5.2 Clasificación taxonómica de *Solanum tuberosum*

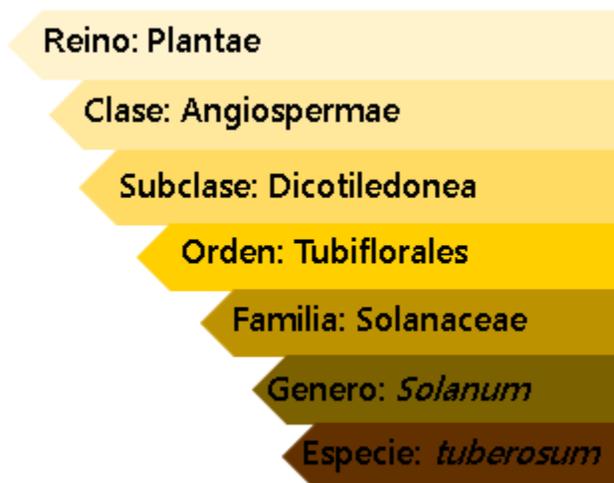


Figura 1. Información tomada: Colecta, caracterización fenotípica, productividad de papas nativas (*Solanum tuberosum* ssp *andigena* Juz et Buk) de zonas andinas en el centro del país. Tesis⁶⁴.

Para este trabajo de grado en particular, se ha elegido el uso del cv. Parda pastusa, ya que es uno de los cultivos de mayor importancia económica y a su vez de mayor calidad en el territorio nacional. Allí, se evaluó el efecto del extracto vegetal y aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre *Tecia solanivora*.

5.3 Orígenes e importancia

En información obtenida de la FAO, la papa tiene su origen en los Andes Suramericanos durante la edad de bronce, cerca al lago Titicaca, el cual está ubicado a 3.800 m.s.n.m., entre la frontera de Bolivia y Perú. De acuerdo con investigaciones antropológicas realizadas, las comunidades que poblaban las cercanías del lago Titicaca, adaptaron las especies silvestres de papa a su alimentación¹⁷.

La importancia de cv Parida pastusa, radica en su capacidad de producción, por ser una variedad que posee la destreza para adaptarse entre los 2000 y 3500 m.s.n.m., sin necesidad de suelos fértiles muy laborados¹⁸.

Además, se considera uno de los principales alimentos en la canasta familiar, cuyo origen no se encuentra relacionado con los cereales, es un producto primordial por su alto contenido en carbohidratos, buena calidad de sus proteínas “y por ser una fuente fácilmente digerible, virtualmente libre de grasas y con valores mínimos de azúcares solubles frente a otras fuentes ricas en almidón”^{19,20}.

5.4 Cultivo

Para el cultivo de papa, se recomienda que el terreno destinado sea de textura fina y con porosidad del 50%, estas garantizan el drenaje y almacenamiento hídrico para el buen desarrollo del tubérculo, además permite la aireación de la raíz. Así mismo, se deben realizar surcos con profundidad de 40 cm, con el fin de propiciar el buen desarrollo de la parte radicular de la planta²¹.

En cuanto al desarrollo de cultivo, se deben tener en cuenta tres factores fundamentales: “a) La cantidad de energía solar interceptada por el cultivo, b) la eficiencia de la planta para la conversión de dicha energía en materia seca y c) la eficiencia en la translocación de la materia seca a los tubérculos”²². No solo son los factores mencionados anteriormente indispensables para la planta, sino también lo son las condiciones agroclimáticas (**Tabla 1**) a las cuales se debe mantener el cultivo.

Tabla 1. Datos tomados de: Manual papa. Cámara de Comercio de Bogotá²¹.

CONDICIONES AGROCLIMATOLÓGICAS	
Altura sobre el nivel del mar	2000-3500 m.s.n.m.
Temperatura	Entre 12 y 14° C
Humedad relativa	75-80 %
Requerimiento Hídrico	Entre 600 y 800 mm al año
Tipo de suelo	Franco, pendiente máxima del 30 %
Rango de Ph	Entre 5,5 Y 7,0

5.5 Cultivo de papa en Colombia

Según Fedepapa y el Fondo Nacional del Fomento de la Papa (FNFP), en el año 2017 en Colombia se obtuvo una producción de 2.751.837 toneladas del tubérculo, a partir de un área sembrada de 132.161 hectáreas, siendo el departamento de Cundinamarca el que cuenta con mayor área sembrada y por lo tanto con mayor producción. El rendimiento promedio que se obtiene a nivel nacional se encuentra en 21 toneladas por cada hectárea sembrada. Dentro de las variedades comerciales en el país, se encuentra que 4 de ellas (superior, diacol, pastusa y criolla) representan el 50% del área sembrada¹⁹.

Así mismo, esta labor tiene un aspecto social en la cual aproximadamente 110.000 familias se dedican al cultivo de la papa, generando así más de 300.000 empleos en clima frío, posicionando este alimento en el tercer lugar de importancia a nivel mundial¹⁹.

5.6 Plagas y microorganismos fitopatógenos de *Solanum tuberosum*

La papa, al igual que los demás organismos del reino plantae, tiene características propias que la hacen susceptible a la invasión por parte de microorganismos o insectos plaga, que afectan las partes anatómicas de la planta, generando en la mayoría de los casos, pérdidas económicas al agricultor. A continuación, se hace una breve reseña de las plagas y enfermedades más comunes de dicho cultivo:

- Gota o añublo de la papa (*Phytophthora infestans*): "el añublo de la papa es causado por el Oomycetes *Phytophthora infestans*, común en zonas con temperaturas entre 15°C y 22°C y humedad relativa mayor al 80%"²². Se

caracteriza por presentar manchas alargadas, irregulares y necróticas que se pueden presentar en hojas, tallos e incluso el tubérculo. Generalmente se usan fungicidas para su tratamiento y se evita la humedad y el exceso de fertilización nitrogenada como para su prevención²³.

- Gusano blanco (*Premnotrypes vorax*): insecto del orden coleóptera, “cuyas larvas se alimentan de los tubérculos y los adultos del follaje”²⁴. Dependiendo su nivel de infestación este insecto le puede generar una pérdida económica al agricultor entre un 20-50% del cultivo e incluso la pérdida total del mismo, por tal motivo, ellos aplican insecticidas para su control²⁶.
- Polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*): esta polilla es una de las plagas con mayor impacto económico en el cultivo de papa. Las larvas de este lepidóptero, al igual que el gusano blanco se alimentan del tubérculo, por otra parte, aunque los adultos de *Tecia solanivora* no se alimentan de la parte foliar, sí pueden ovipositar sobre el tubérculo que está en almacenaje, si este se encuentra mal conservado.
- Pudrición seca (*Fusarium spp*): enfermedad que afecta los tubérculos, arrugandolos hasta momificarlos. Es generada por el hongo *Fusarium spp*, su colonización se da por las malas condiciones de almacenamiento o presentar lesiones en terrenos contaminados. Se usan fungicidas para su tratamiento o remoción de malezas y rotación del terreno para su prevención²⁴.
- Sarna pulverulenta (*Spongospora subterranea*): la sarna de la papa es una enfermedad causada por el protista *Spongospora subterranea*, dicha enfermedad no solo afecta la parte radicular de la planta, sino que también altera la parte externa de la papa generando pústulas y así reduciendo significativamente la producción²⁷.
- Tizón temprano (*Alternaria solani*): esta fitopatología causada por el hongo *Alternaria solani*, ataca toda la planta, aunque inicia sus manifestaciones en las hojas más viejas de la planta, pese contraerse en los primeros estadios

de la planta. Se caracteriza por presentar pequeñas lesiones que con el tiempo se van necrozando²⁸.

5.7 Polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*).

Tecia solanivora, es un insecto del complejo polillas, perteneciente al orden Lepidóptera, que atacan al cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Es conocida con varios nombres como: “polilla gigante, palomilla grande, polilla centroamericana, gusano guatemalteco y principalmente como polilla guatemalteca”³¹.

El periodo de actividad de los insectos adultos se ubica hacia horas muy tempranas del día o en la noche, esto se debe a su poca tolerancia a la luz solar, por tal motivo, es posible hallarlos escondidos en lugares sombreados, inclusive en el suelo o en el lugar designado para almacenar el tubérculo³².

En países andinos, como Venezuela, Colombia y Ecuador en los cuales este cultivo es primordial en la economía, esta plaga es considerada como una de las mayores amenazas para los cultivos de papa.

5.8 Clasificación taxonómica de *Tecia solanivora*

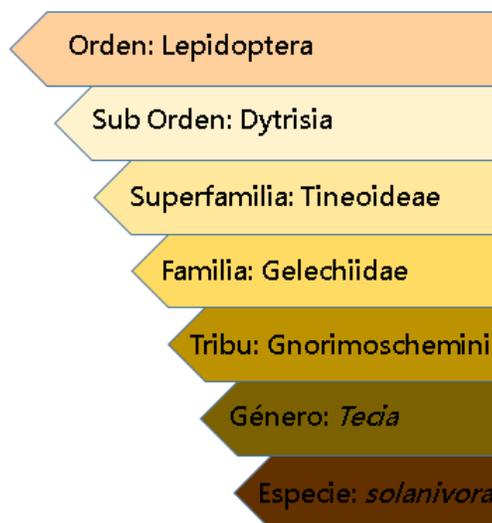


Figura 2. Información tomada de: Manual integrado de la polilla guatemalteca de la papa. CORPOICA⁶⁵

5.9 Ciclo de vida

“El insecto tiene un ciclo de vida que pasa por varias etapas: huevo, larva, pupa y adulto, la duración del ciclo está entre 54 a 96 días y cada estado está determinado por las condiciones del ambiente. La polilla puede depositar de 150 a 360 huevos y puede dar hasta seis generaciones al año, dependiendo de las condiciones ambientales”³².



Figura 3. Tomada de: La polilla guatemalteca. Consejería de agricultura, pesca y desarrollo rural⁶⁶

5.10 Comportamiento y daño a los cultivos de papa pastusa

El daño generado por *Tecia solanivora* en los cultivos, sucede en su estadio de larva, la cual se alimenta principalmente de los tubérculos de papa. A pesar del deterioro que las larvas causan, aún no se han descrito los mecanismos por los cuales las larvas son capaces de encontrar el tubérculo ya que dichos procesos han sido muy poco estudiados³³. De allí la importancia de empezar a implementar medidas de control integrado de plagas, diferente al uso de sustancias químicas.

5.11 Pérdida económica por *Tecia solanivora*

En Colombia, se reporta por primera vez esta plaga en el año 1985, causando infestaciones en cultivo del 90% y pérdidas hasta de un 25% en producción y 100% en almacenamiento. El daño en el producto inicia cuando “Las hembras de *T. solanivora* depositan los huevos en el suelo, cerca de la base de las plantas de papa o sobre los tubérculos en almacén. Una vez que la larva emerge, se orienta hacia el tubérculo, raspa su superficie, penetra debajo de la epidermis y luego barrena más profundamente hasta formar galerías dentro del tubérculo, permaneciendo en este hasta el momento de pupar”³⁴.

Debido a esto, la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) es considerada una de las plagas que mayor impacto económico ocasiona a los cultivadores de papa, considerándose aún más dañina que el gusano blanco (*Premnotrypes vorax*). Por este motivo se buscan alternativas eficaces para su control que a su vez sean amigables con el ambiente³¹.

5.12 Control químico de *Tecia solanivora*

Para su control, los agricultores generalmente emplean insecticidas de alta toxicidad, los cuales aplican con una frecuencia entre 12 a 15 veces durante el cultivo. Esta forma de manejar la plaga, además de ocasionar alzas en los costos de producción, también puede generar efectos secundarios a la salud humana de quien lo aplica, impacto negativo sobre el medio ambiente e incluso la resistencia a las sustancias químicas, por parte del insecto plaga^{35, 36}.

5.13 Control biológico de *Tecia solanivora*

Pese a que el uso de insecticidas es hasta el momento, la opción más eficaz para combatir la plaga, existen otras alternativas que también pueden ser usadas en el manejo eficiente y sostenible de la plaga, esto se puede lograr mediante el uso de microorganismos entomopatógenos o semioquímicos³⁷.

Hasta el momento, en la literatura se reporta el uso de hongos del género *Bacillus* y *Metarhizium* y virus del género granulovirus^{37, 38}. Por otro lado, como

semioquímicos se han utilizado feromonas y kairomonas¹⁰. Sin embargo, ninguno de los métodos empleados y mencionados ofrece un nivel de mortalidad como la tienen los insecticidas generalmente empleados.

5.14 Insecticidas

Los insecticidas son sustancias químicas contaminantes que son empleadas para el control de alguna población de insectos. Generalmente son empleados para combatir insectos transmisores de enfermedades y por agricultores para poder salvaguardar sus cultivos, de plagas³⁹.

Las siguientes son aquellas características que harían de un insecticida el producto ideal, sin embargo, no se encuentran unificadas en un solo producto:

Gran especificidad, baja toxicidad en humanos y demás animales: un producto que en tiempo prolongado de exposición no genere efectos secundarios, baja dosis letal, bajo coste, de característica latente, biodegradable y baja probabilidad de generar resistencia^{40, 41}.

5.15 Tipos de insecticidas

Generalmente se les clasifica en inorgánicos, sintéticos y biológicos. Los inorgánicos fueron los primeros en utilizarse al provenir de elementos como Plomo, Cobre y Arsénico, pero su uso ha disminuido por sus efectos negativos. En cuanto a los sintéticos, son los producidos química e industrialmente y los favoritos por su eficacia, aunque también tienen repercusiones adversas sobre el medio ambiente. Y finalmente, los biológicos son obtenidos a partir de plantas o microorganismos, a pesar de que no genere efectos secundarios, su uso aún no es tan recomendado a causa de costos o efectividad⁴².

5.16 Efectos secundarios de los insecticidas

Aunque pueden existir otras técnicas empleadas en la agricultura que generan impacto negativo sobre el ambiente, el uso de insecticidas es una de las asociadas a dicho daño. Los insecticidas se emplean con el objetivo de matar insectos plaga, pero pueden tener un efecto letal o subletal sobre insectos que son

beneficiosos, como los polinizadores⁴³. Las abejas se pueden contaminar de forma indirecta al consumir polen y néctar. Las demás abejas del panal, como obreras, larvas e incluso la reina, se pueden contaminar si abejas contaminadas llevan residuos del químico al panal, lo que va teniendo efectos negativos en las poblaciones de abejas⁴⁴.

Finalmente, cabe destacar que el uso de plaguicidas debería estar acompañado de capacitaciones o tener conocimientos previos, de tal manera que se puedan emplear las medidas necesarias para que la exposición sea minimizada⁴⁵.

5.17 Manzanilla (*Matricaria*).

“Herbácea de hasta 40 cm, anual, ramificada, aromática, tallo erecto; hojas sésiles, divididas en lacinias lineares; flores en cabezuela reunidas en corimbo, con disco grande, amarillo y en domo; lígulas blancas vueltas hacia abajo; olor muy característico”⁵¹.

5.18 Clasificación taxonómica de *Matricaria chamomilla*

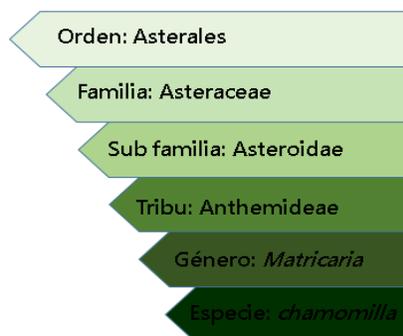


Figura 4. Información tomada de: eol.com. *Matricaria chamomilla*⁶⁷

5.19 Tipos de manzanilla

Alrededor del mundo existen diversas variedades de manzanilla; sin embargo, solo cuatro de ellas son las más conocidas: manzanilla alemana (*Matricaria chamomilla*), manzanilla romana (*Arthemis nobilis*), manzanilla fina (*Matricaria aurea*), manzanilla bastarda (*Arthemis arvensis*). Otras manzanillas un poco menos

conocidas son: manzanilla amarga (*Santolina chamaecyparissus*), manzanilla borriquera (*Anacyclus clavatus*) y manzanilla sin olor (*Tripleurospermum inodorum*)⁵².

5.20 Cultivo de manzanilla

Al momento de cultivar manzanilla, se deben tener en cuenta ciertos parámetros para su cultivo. Dichos parámetros son: preparación del terreno haciendo surcos a los cuales se les debe agregar sustancias de protección y nutrición necesarias; siembra de 0,30 metros entre planta y planta; control de arvenses con cobertura plástica para facilitar su remoción manual; fertilización con materia orgánica o dado el caso con fertilización química, pero se debe tener en cuenta el tipo de suelo; la cosecha es obtenida aproximadamente 4 meses después, sin embargo, puede variar según las condiciones ambientales; la poscosecha y secado se realiza cortando desde el tallo y dejando secar a temperatura ambiente⁵³.

5.21 Manzanilla alemana (*Matricaria chamomilla*)

“Planta herbácea, posee el tallo erguido, ramificado, redondo, hueco y puede crecer cerca de 50 cm de altura; tiene un aroma ligeramente más suave que la manzanilla romana; hojas finamente divididas y floración que aparece hacia el final de la primavera hasta final del verano”⁸.

5.22 Propiedades de la manzanilla alemana

La *Matricaria chamomilla* o manzanilla alemana, es una de las plantas más antiguas empleadas con fines medicinales en Europa, y actualmente se utiliza en la medicina fitoterapéutica para aliviar problemas digestivos, como sedante y antiespasmódico, estos últimos actuando por vía tópica. También le adjudican al aceite esencial capacidad antiinflamatoria, cicatrizante, analgésica y antiviral⁵⁴.

5.23 Extracto vegetal

Se define a un extracto vegetal, como el compuesto obtenido mediante procesos físico-químicos a partir de sustancias presentes en los tejidos conformacionales de la planta⁴⁶. Los extractos vegetales, poseen la presencia de algunos metabolitos

no volatilizables, los cuales pueden ser agrupados en compuestos fenólicos, nitrogenados y terpenoides, cuya presencia le confiere al extracto propiedades plaguicidas⁴⁷.

5.24 Concentración de extracto vegetal por rotoevaporador

El fundamento de la rotaevaporación se basa en aplicar energía térmica, a tal punto que la presión de vapor interna iguale a la presión de vapor externa y se empiece a evaporar, es decir hasta que la sustancia a analizar alcance su punto de ebullición. Lo que favorece a esta técnica, es la aplicación de vacío al sistema, ayudando a que el analito alcance su punto de ebullición a temperaturas inferiores, debido a la igualación de presiones en menor tiempo⁴⁸.

5.25 Uso del extracto vegetal como insecticida

El control de plagas con extractos vegetales ha sido una técnica empleada desde tiempo atrás con resultados positivos, negativos y neutros. Pero dichas prácticas fueron reemplazadas desde la implementación de insecticidas sintéticos⁴⁹. El resurgimiento de estas alternativas sostenibles en pro de satisfacer la necesidad de hallar nuevos compuestos biorracionales, con el objetivo de mantener la plaga bajo control sin provocar problemas, permite impulsar el uso de extractos vegetales como una alternativa que puede darle solución a estos problema⁵⁰.

6. Diseño metodológico

6.1 Universo, población y muestra

Universo

El universo de esta investigación es la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) y los extractos de Manzanilla.

Población

La población son las larvas y adultos de *Tecia solanivora* y los extractos vegetales de *Matricaria chamomilla*.

Muestra

Estadios de larva neonata y de adulto de *Tecia solanivora*, los cuales fueron obtenidos a través de cría *in vitro* en la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y extractos de *Matricaria chamomilla* en diferentes concentraciones.

6.2 Hipótesis, variables e indicadores

Hipótesis

Los extractos de *Matricaria chamomilla* tienen capacidad insecticida, haciendo repelencia o causando mortalidad de *Tecia solanivora*.

Variables

La variable dependiente para este estudio fueron las concentraciones del extracto de *Matricaria chamomilla*.

La variable independiente fueron los estadios de larva neonata (L1) y adultos de *Tecia solanivora*.

Indicadores

Número de larvas neonatas (L1) y adultos de *Tecia solanivora* muertos y las Concentraciones de *Matricaria chamomilla* que demostraron porcentaje de muerte o repelencia.

6.3 Técnicas y procedimientos

Recolección del material vegetal

La especie vegetal utilizada (*Matricaria chamomilla*), se obtuvo en la plaza Samper Mendoza, la cual “es en América Latina la primera plaza dedicada al comercio de plantas, considerada patrimonio inmaterial de la localidad de Los Mártires”⁵⁵, en Bogotá.

Tratamiento del material vegetal

El material se dejó secar por 60 días a temperatura ambiente en el invernadero de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, con temperaturas que oscilaron entre 22-25°C.



Figura 5. Secado del material vegetal (*Matricaria chamomilla*). Foto tomada por los autores

Posterior al secado de la muestra vegetal, se realizó triturado manual (**Figura 6**) y se elaboró una preparación en la cual se utilizó como solvente polar Metanol (440 mL). Se cubrió el material vegetal (82,07 gr) en su totalidad con el fin de extraer la

mayor cantidad de extracto posible a partir del material vegetal. Simultáneamente se realizó la misma preparación utilizando como solvente apolar Cloroformo (470 mL) y material vegetal (82.07 gr). **(Figura 7)**



Figura 6. Picado del material para su maceración en solvente, en nuestro caso Metanol y Cloroformo. (Foto tomada por los autores)



Figura 7. Maceración del material vegetal (*Matricaria chamomilla*) en Metanol y Cloroformo por 24 horas. (Foto tomada por los autores)

Transcurridas 24 horas, las muestras fueron filtradas para la separación del material vegetal del extracto **(Figura 8)**, la maceración del material vegetal se sumergió nuevamente en el respectivo solvente, durante 24 horas con el fin de obtener metabolitos menos volátiles. Los extractos se concentraron por separado en rotoevaporador **(Figura 9)** y se llevaron a viales de vidrio cuyo volumen es de aproximadamente 5 mL, los cuales fueron expuestos al ambiente, con el fin de lograr la evaporación del solvente sobrante **(Figura 10)**, finalmente se almacenaron a 4°C, hasta la preparación de las soluciones.



Figura 8 . Filtración del extracto vegetal obtenido luego de 24 horas en maceración.

(Foto tomada por los autores)



Figura 9. Concentración de filtrado del extracto de *Matricaria chamomilla* en rotoevaporador.

(Foto tomada por los autores)

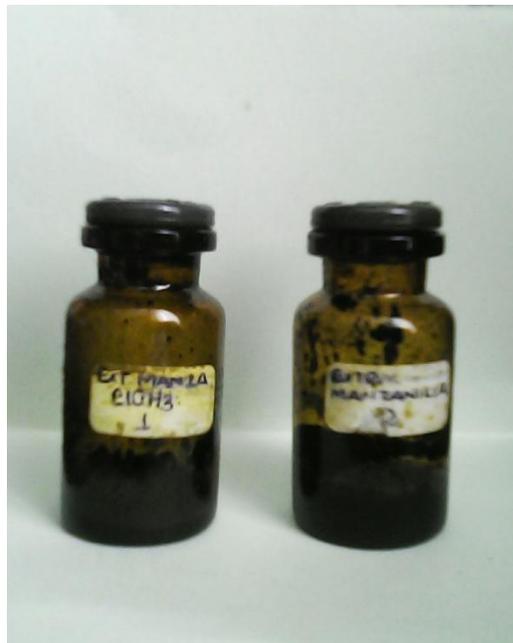


Figura 10. Viales de almacenamiento del extracto. (Foto tomada por los autores)

Los parámetros para realizar las concentraciones de los extractos se presentan en la tabla 2 y tabla 3:

Tabla 2. Condiciones de peso del material vegetal, volumen de solvente, vacío, temperatura y revoluciones, utilizadas en la extracción del extracto metanólico de *Matricaria chamomilla*. Agrupado por los autores.

EXTRACCIÓN METANOLICA					
1ra extraccion (10 ABRIL 2018)		2da extraccion (20 ABRIL 2018)		3ra extraccion	
Manzanilla (gr)	82.07	Manzanilla (gr)	82.07	Manzanilla (gr)	82.07
Volumen metanol	440 mL	Volumen metanol	311 mL	Volumen metanol (mL)	330
Condiciones del Rotoevaporador		Condiciones del Rotoevaporador		Condiciones del Rotoevaporador	
Tara Balon (gr)	172,53	Tara Balon (gr)	175.79	Tara Balon (gr)	171,08
Vacio	230 mbar	Vacio	227 mbar	Vacio	220 mbar
Temperatura	38°C	Temperatura	36°C	Temperatura	36,9°C
Revoluciones	72 rpm	Revoluciones	90 rpm	Revoluciones	90 rpm
VIAL		VIAL		VIAL	
Peso sin tapa (gr)	10,22	Peso sin tapa (gr)	10,2	Peso sin tapa (gr)	10,15
EXTRACTO		EXTRACTO		EXTRACTO	
Peso (20 abril 2018)	6,11 gr	Peso	4,53 gr	Peso	4,43 gr

Tabla 3. Condiciones de peso del material vegetal, volumen de solvente, vacío, temperatura y revoluciones, utilizadas en la extracción del extracto Clorofórmico de *Matricaria chamomilla*. Agrupado por los autores

EXTRACCIÓN CLOROFORMO			
1ra extraccion		2da extraccion	
Manzanilla (gr)	82.07	Manzanilla (gr)	82.07
Volumen cloroformo	470 mL	Volumen cloroformo	288 mL
Condiciones del Rotoevaporador		Condiciones del Rotoevaporador	
Tara Balon (gr)	173,69	Tara Balon (gr)	173,69
Vacio	354 mbar	Vacio	300 mbar
Temperatura	36°C	Temperatura	36°C
Revoluciones	90 rpm	Revoluciones	90 rpm
VIAL		VIAL	
Peso sin tapa (gr)	10,15	Peso sin tapa (gr)	10,2
EXTRACTO		EXTRACTO	
Peso	N.A.	Peso	3,15 gr

7. BIOENSAYOS

1. Obtención de huevos de *Tecia solanivora*.

Los huevos de *Tecia solanivora* (**Figura 11**) se obtuvieron por donación de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA). A partir de allí, se inició la cría de *Tecia solanivora* en las instalaciones de la Universidad colegio Mayor de Cundinamarca. Las condiciones para la cría del insecto fueron: temperaturas que oscilarán entre 16 y 18°C y humedad entre 47 y 52%. Los huevos fueron humedecidos con frecuencia para garantizar los niveles requeridos de humedad por parte del insecto.



Figura 11: Observación de huevos de *Tecia solanivora* al estereoscopio

Cría de *Tecia solanivora*

Siguiendo el protocolo sugerido por AGROSAVIA en la visita realizada a sus instalaciones. Los pasos a seguir para el desarrollo de la cría fueron:

1. Los huevos se dejaron incubar en la caja de Petri con permanente humedad hasta eclosionar y observar la presencia de larvas neonatas.



A

B

Figura 12. Huevos de *Tecia solanivora*, almacenados en condiciones para su desarrollo, se realiza lectura de temperatura y humedad diariamente. A y B. Cajas de Petri en las cuales se almacenan las servilletas de las cámaras de ovoposición.

2. Se elaboró la cámara de cría, empleando una cubeta plástica transparente, con



arena, dos soportes y rejilla, en la cual se ubican los ejemplares de papa pastusa.

Figura 13. Larvas en estadio L1 sobre la papa en cámara de incubación para la infestación de Papa (*Solanum tuberosum* cv Parda pastusa).

3. Las larvas neonatas (L1) fueron trasladadas aleatoriamente con precaución a ejemplares de papa pastusa los cuales se dispusieron en la cámara de cría con el objetivo de que entren en el tubérculo y puedan continuar con su proceso de metamorfosis. Las servilletas de las cámaras de oviposición también fueron puestas sobre la papa hasta que se dejó de observar la presencia de larvas neonatas.



Figura 14. Se observan larvas entrando y saliendo del tubérculo, así como túneles de entrada

4. En la semana tres después de disponer las larvas en la papa, se observó la deformación del tubérculo (**Figura 15A**) con presencia de aberturas generalizadas correspondientes a los túneles ocasionados por las larvas L4 (**Figura 15B**), las cuales migran del interior del tubérculo al medio externo para empupar.

- Los instares larvales L2 y L3 se desarrollan dentro del tubérculo.



Figura 15. A Deformación del tubérculo B. Larva (L4) de *Tecia solanivora* al estereoscopio, región dorsal de la larva (Rojo- Púrpura)

5. Las larvas de último instar aprovecharon la arena de la cámara de cría para la formación de la pupa, en la cual se llevó a cabo la parte final de la metamorfosis hasta estadio adulto.



Figura 16. Cámara para el albergue de los adultos después de pasar por estadio de pupa

6. Para la semana 5, los adultos emergidos se albergaron en la cámara de adultos, la cual fue elaborada en vidrio y su entrada fue cubierta con velo suizo.
7. Los adultos se recolectaron sin diferenciación sexual en frascos de plástico con boca ancha.



Imagen 17. Cámaras de ovipostura en las cuales se ponen alrededor de 15 adultos entre hembras y machos, en la base de la cámara se instala una servilleta y velo suizo para la estimulación del aparato ovopositor de la hembra. Los tacos de algodón observados en la fotografía contienen agua-miel para alimentación de los adultos de *Tecia solanivora*.

8. Los huevos obtenidos en la cámara de oviposición se dispusieron nuevamente en cámara de incubación para continuar con la cría (**Figura 12**).

Durante las cinco semanas de cría, se realizó lectura de temperatura y humedad relativa diariamente, donde se obtiene el siguiente comportamiento como se muestra en la **Figura 18**. Las mediciones se hicieron con un termohigómetro Thermometer TA218.

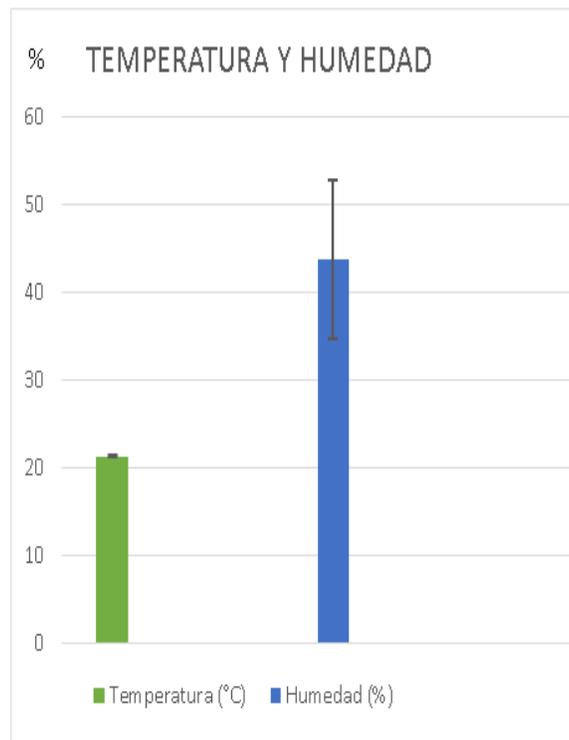


Figura 18. Variación de la temperatura y humedad relativa durante la cría de *Tecia solanivora*. Temperatura de 21, 30,2°C y humedad relativa de 43, 83,9%

En la figura 18 se puede observar que la temperatura mantuvo su variación muy cercana a la media, en comparación con la humedad relativa registrada, cuyos datos presentaron mayor dispersión durante el periodo registrado. Independientemente de los cambios registrados, estas condiciones fueron aceptadas por *Tecia solanivora* durante la cría *in vitro*.

Bioensayo de repelencia

Para evaluar la actividad repelente del extracto crudo concentrado de *Matricaria chamomilla*, se empleó la técnica utilizada por Castillo y colaboradores en su publicación “Actividad biológica *in vitro* del extracto de *Capsicum chinense* Jacq contra *Bemisia tabaci* Genn”. La elaboración del olfatómetro se realizó de la siguiente manera:

1. Se tomaron dos frascos de 200 mL aproximadamente, los cuales se taparon con dos circunferencias de papel filtro.

2. Se unieron los frascos por medio de un tubo de plástico transparente de 10 cm de longitud y 6 mm de diámetro.
3. En el frasco número 1 se situó un papel filtro impregnado con 300μL del extracto metanólico al 20%, se debe esperar 30 minutos para la evaporación del solvente, posteriormente se ubicaron 10 adultos de *Tecia solanivora* sin distinción sexual. De la misma manera se realizó el extracto clorofórmico y los controles.
4. El frasco número 2 se dejó vacío.
5. Los ensayos se evaluaron a las 24 y 48 horas después de poner en contacto los insectos con el extracto, se observó la cantidad de insectos que migraron al recipiente que no contenían extracto cuyos datos eran de importancia estadística.



Figura 19. Olfatómetro para bioensayo de repelencia

6. El índice de repelencia (IR) se calculó teniendo en cuenta la fórmula usada por Salvador y colaboradores en el año 2007⁵⁶.

$$\text{Índice de repelencia} = \frac{2 * (\% \text{insectos en el ensayo})}{(\% \text{insectos en el ensayo} + \% \text{insectos en el testigo})}$$

*el número dos es usado como una constante.

Dónde:

Se considera que el extracto es repelente si su IR es <1 ; Neutro si es $= 1$, es decir que no presenta actividad repelente o atrayente; Atrayente si el IR es >1 .

Bioensayo de mortalidad

Para evaluar la actividad insecticida de los extractos crudos concentrados, metanólicos y clorofórmicos obtenidos de *Matricaria chamomilla*, se prepararon cinco soluciones con diferentes concentraciones (1.25, 2.5, 5, 10 y 20%) diluidos con metanol y cloroformo, se siguió la metodología propuesta por la OMS (WHO 1981)⁵⁷. Los ensayos de mortalidad se elaboraron de la siguiente manera:

1. Se utilizó papel filtro estéril de aproximadamente 5.0 cm de diámetro y se les agregó 300 μ L de cada concentración del extracto por separado, luego se dispusieron en la base de su respectiva caja de Petri estéril.
2. A partir de agregado el extracto, se debía esperar 30 minutos con el objetivo de evaporar el solvente y la correcta distribución del extracto en el papel filtro.
3. Finalizados los 30 minutos, se expusieron por separado grupos de 10 larvas en estadio L1 a las cinco concentraciones de cada extracto.
4. Luego cada caja de Petri fue tapada y almacenada a temperatura ambiente privadas de la luz (**Figura 20**).
5. Los bioensayos, se evaluaron a las 24 y 48 horas de exposición, para determinar la mortalidad larval. Las larvas fueron consideradas muertas al no reaccionar al contacto físico.
6. El montaje de los controles (**Figura 21**) fue realizado de la misma forma que los extractos a evaluar. Como control positivo se usó el agroquímico de marca comercial Regent® (200g/L) cuyo principio activo es el fipronil y como control negativo se usó agua destilada.



Figura 20. Bioensayos de mortalidad. A. Ensayos con extracto metanólico. B. Ensayos con el extracto clorofórmico

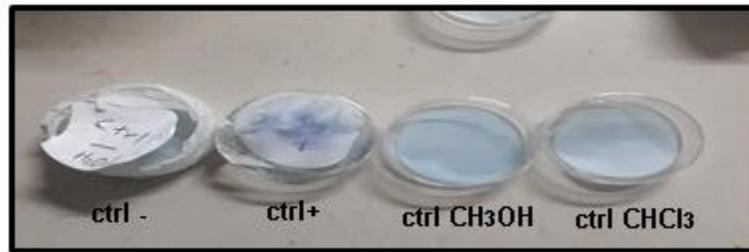


Figura 21. Controles de los bioensayos de mortalidad. Control negativo (ctrl-), control positivo (ctrl+), control de metanol (ctrl CH₃OH) y control de cloroformo (ctrl CHCl₃) respectivamente.

8. Resultados

Los extractos vegetales, se han convertido en una alternativa con numerosas aplicaciones, entre ellas se encuentran su actividad antimicrobiana, actividad antioxidante, actividad plaguicida y actividad insecticida, siendo esta última el objetivo de este trabajo. El material vegetal utilizado para la obtención del extracto vegetal de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla alemana), se adquirió en la Plaza de Mercado Samper Mendoza, ubicada en la localidad de Los Mártires. Este lugar presta sus servicios de comercialización de hierbas aromáticas a los visitantes, generalmente desde las 3:45 am hasta las 5 pm. La gran mayoría de las aromáticas que se distribuyen en este lugar, especialmente la manzanilla, es traída del municipio de Chipaque, el cual está conformado por 23 veredas y “se localiza al oriente del departamento de Cundinamarca, en la provincia Oriente, a una distancia de 27 km de Bogotá y a una altura de 2400 m.s.n.m”²⁹, además cuenta con una temperatura promedio de 14°C, siendo conveniente debido a que la “manzanilla es una especie que se da en clima frío/seco, (10-18°C). La altitud recomendada para su cultivo se encuentra entre los 2000 y 2600 m.s.n.m”³⁰.

La compra del material vegetal, se llevó a cabo en el mes de Septiembre de 2018, sin tener en cuenta las condiciones agroclimáticas del lugar de cultivo. Se adquirieron alrededor de 5 Kg de manzanilla con un valor promedio de 0,89 USD (equivalentes a 3000 COP) por kilo de aromática.

Con el fin de evaluar la actividad insecticida del extracto de *Matricaria chamomilla*, se desarrollaron dos tipos de ensayos (repelencia y mortalidad) utilizando adultos y larvas neonatas respectivamente de *Tecia solanivora*. A continuación se describen cada uno de los ensayos realizados.

8.1 Bioensayo de repelencia

A continuación, en la tabla 4, se presentan los resultados del Bioensayo de repelencia:

Tabla 4. Porcentaje de repelencia e índice de repelencia a las 48 horas. Agrupado por los autores.

Bioensayo de Repelencia			
Horas	Porcentaje a las 24 horas	Porcentaje a las 48 horas	Índice de Repelencia*
Control Neg. (Agua destilada)	0%	0%	-----
Control de metanol	0%	0%	-----
Control de cloroformo	0%	0%	-----
Extracto de <i>Matricaria chamomilla</i> (Metanol)			
20%	0%	0%	1
Extracto de <i>Matricaria chamomilla</i> (Cloroformo)			
20%	10%	30%	0,82

* Índice de repelencia calculado a las 48 horas

El porcentaje de repelencia, se obtuvo teniendo en cuenta la cantidad de insectos que se alejaban de la cámara del olfatómetro en la que se encontraba el extracto. El extracto cloroformico de *Matricaria chamomilla*, presentó el mayor porcentaje de repelencia con el 30% (3 individuos) de los insectos a las 48 horas. Para este caso, el índice de repelencia obtenido fue de 0,82.

En la figura 22, se observa que el extracto de mayor eficacia en repelencia para *Tecia solanivora* es el extracto cloroformico, con un porcentaje de repelencia del 30%, mientras que el extracto metanólico no generó ningún efecto a las 24 y 48 horas.

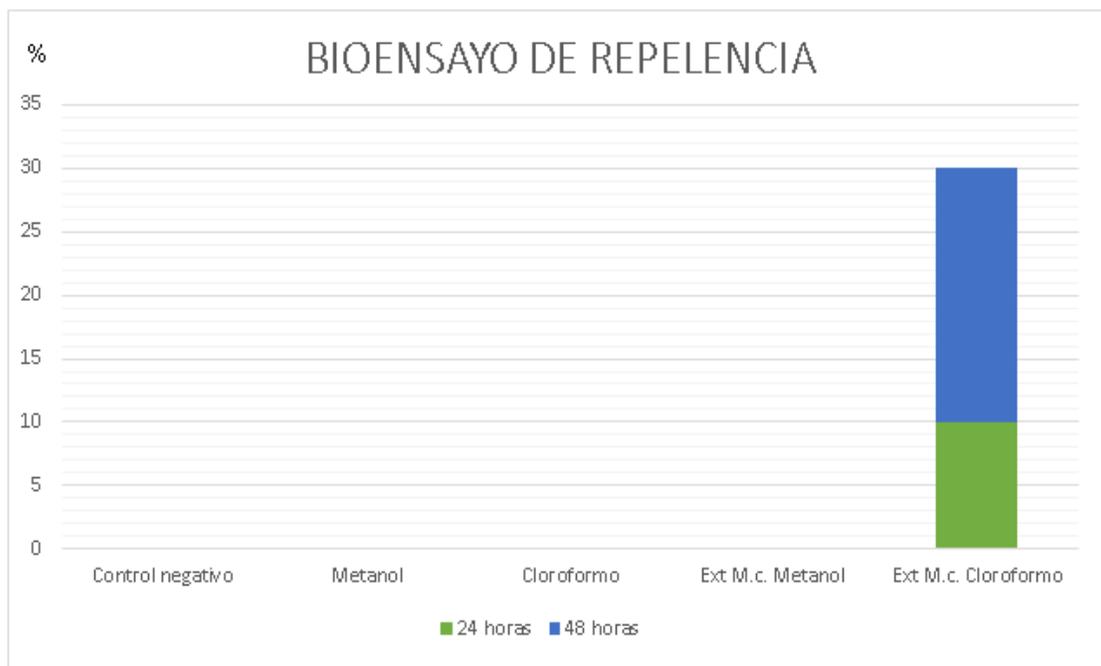


Figura 22: Proporción de repelencia de *Tecia solanivora* a extracto metanólico y clorofórmico de *Matricaria chamomilla*

En los ensayos de repelencia no se realizó control positivo, debido a que a la fecha no se encuentra registrado ante el ICA un producto comercial con actividad repelente aplicado contra *Tecia solanivora* en tubérculos de *Solanum tuberosum*. Sin embargo, comercialmente se encuentra un producto con registro ICA número 4536 de nombre “ALISIN”, clasificado como insecticida orgánico (toxicidad tipo IV), cuyo principio activo es la combinación del extracto de ajo (*Allium sativum*) y extracto de ají (*Capsicum anuum*). La ficha técnica del producto registra tener actividad repelente sobre *Tecia solanivora*, no obstante en los registro del ICA no se encuentra autorizado para su aplicación en esta plaga, por otro lado, sí está autorizado en el control de áfido negro (*Macrosiphoniella sanborni*), broca del café (*Hypothenemus hampei*) y cochinilla (*Dysmicoccus brevipes*) en cultivos de pompom, café y piña respectivamente^{68,69}.

8.2 Bioensayo de mortalidad

En la tabla 5, se muestran los resultados del bioensayo de mortalidad:

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad de los extractos Metanólico y Clorofórmico a las 24 y 48 horas. Agrupado por los autores

Bioensayo de Mortalidad		
Horas	% de larvas muertas	
	24	48
<i>Control Neg. (Agua destilada)</i>	0%	0%
<i>Control Pos. (Regent)</i>	100%	100%
Metanol	40%	100%
Cloroformo	60%	100%
Extracto <i>Matricaria chamomilla</i> (Metanol)		
1,25%	30%	90%
2,5%	50%	100%
5,0%	80%	100%
10%	80%	100%
20%	90%	100%
Extracto <i>Matricaria chamomilla</i> (Cloroformo)		
1,25%	20%	70%
2,5%	50%	80%
5,0%	60%	100%
10%	70%	100%
20%	90%	100%

Teniendo en cuenta los datos agrupados en la tabla 5, todas las concentraciones de extractos empleados independientemente de su solvente generaron mortalidad en larvas neonatas de *Tecia solanivora*. Como era de esperarse, de aquellas soluciones que estaban menos concentradas se obtuvo un recuento menor que aquellas con mayor concentración de metabolitos. Cuantitativamente con respecto a los solventes empleados, el extracto metanólico no difiere mucho del extracto clorofórmico en cuanto a su capacidad insecticida a las 24 (**figura 26**) y 48 horas (**figura 27**).

Así mismo, los controles de solvente fueron aquellos con los que se realizó la maceración del material vegetal, para la extracción de los metabolitos. Al comparar el resultado de los controles de solvente a las 24 horas, con los datos obtenidos con los extractos en el mismo periodo de tiempo, se observa que el porcentaje de mortalidad por parte de los extractos es igual o superior al 60% a partir de concentraciones del 5%, es decir igualan o superan la mortalidad máxima

obtenida por los controles a las 24 horas, razón por la cual la mortalidad se puede asociar al extracto.

En cuanto a los datos obtenidos a las 48 horas, se evidencia que la mortalidad tanto en los controles de solvente como en los extractos es del 100%, estos resultados pueden estar asociados a factores externos al ensayo.

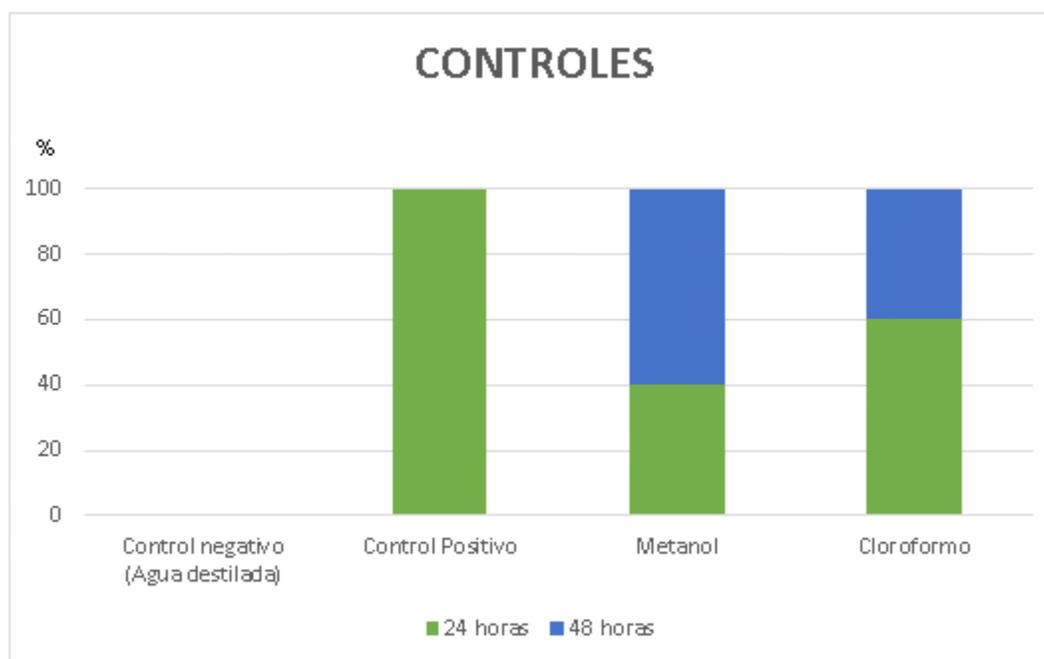


Figura 23. Resultado controles bioensayo de mortalidad

El extracto metanólico de *Matricaria chamomilla* concentrado al 20% fue el que presentó el mayor porcentaje de mortalidad frente a las larvas neonatas de *Tecia solanivora*, en contraste, la concentración de 1,25% fue la que produjo el menor porcentaje de mortalidad. A pesar, de las variaciones que mostraron los resultados, lo positivo para el ensayo es que todas las concentraciones produjeron mortalidad larvaria con un rango del 20%-90% a las 24 horas y del 70-100% a las 48 horas (figura 24).

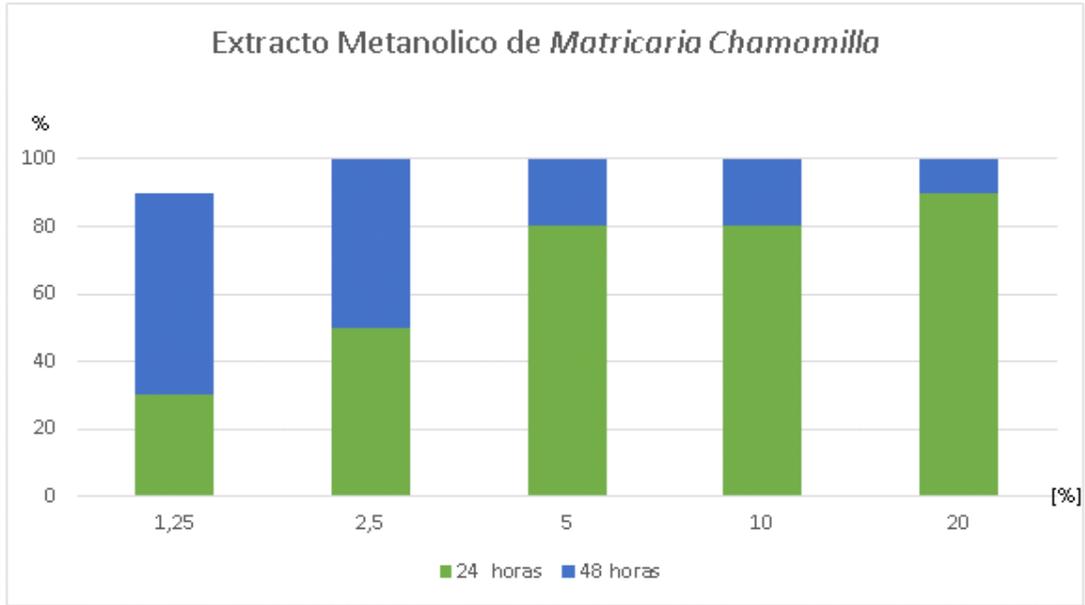


Figura 24: Proporción de mortalidad de *Tecia solanivora* a extracto metanólico de *Matricaria chamomilla*

Como se puede observar en la figura 25 los extractos cloroformicos empleados, también tuvieron efecto de mortalidad en las larvas neonatas, incluso la menor concentración. Estos resultados no tuvieron grandes diferencias al compararlos con los de mortalidad por el extracto metanólico.

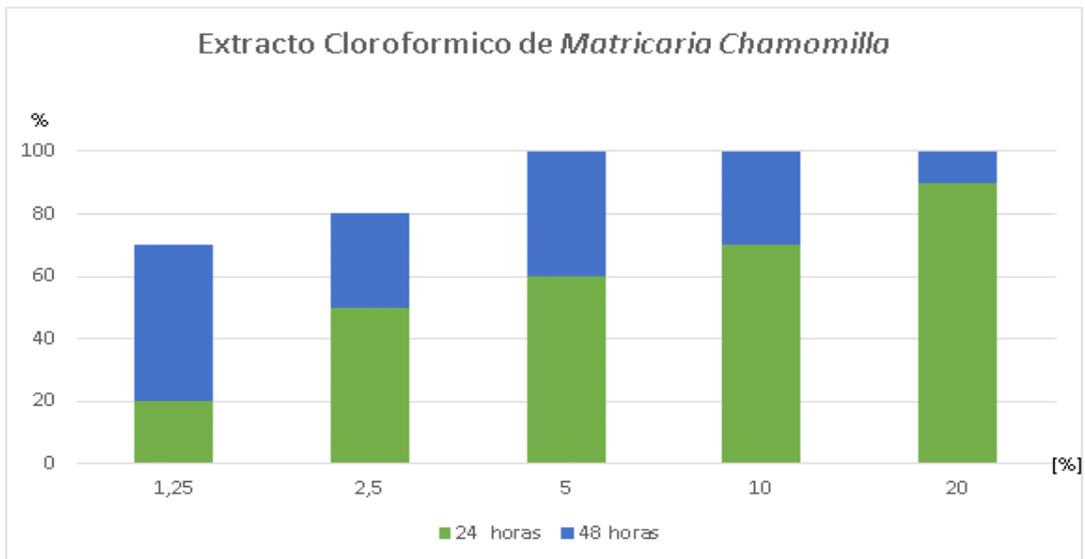


Figura 25: Proporción de mortalidad de *Tecia solanivora* a extracto cloroformico de *Matricaria chamomilla*

En la figura 26, se observa que la capacidad insecticida del extracto metanólico a las 24 horas, comparada con el extracto clorofórmico tiene una variación del 10%, exceptuando la concentración al 5%, cuya diferencia es del 20%, lo que nos indica que la capacidad de mortalidad del extracto clorofórmico no se aleja considerablemente de los datos porcentuales alcanzados por el extracto metanólico.

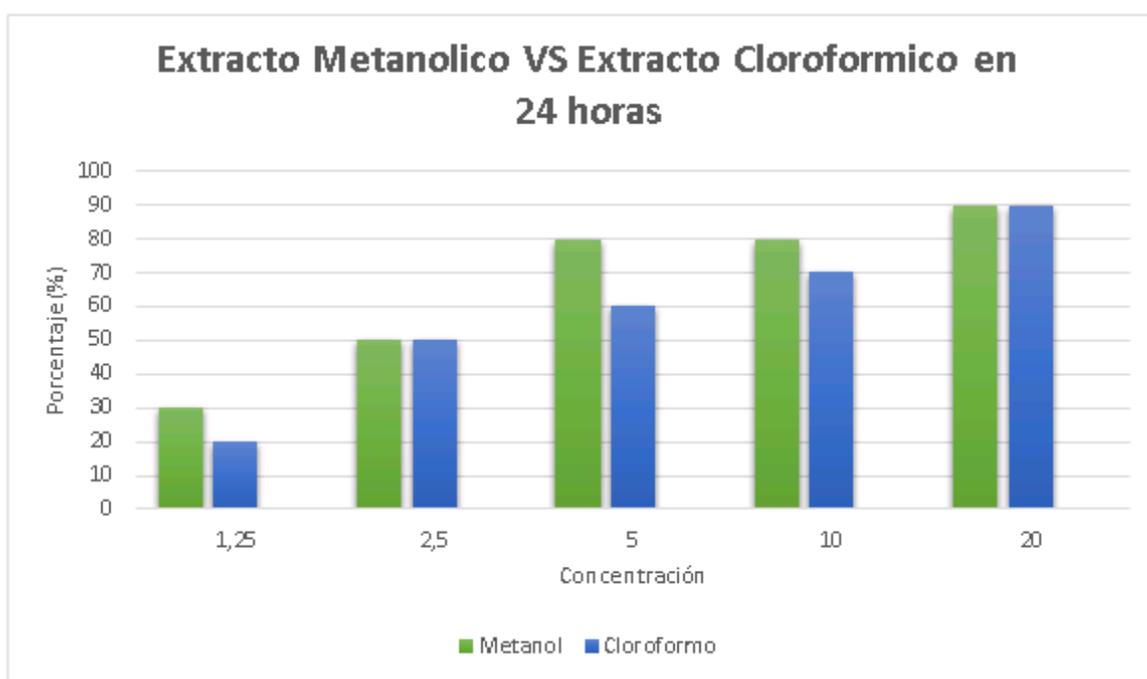


Figura 26: Comparación del extracto metanólico y el extracto clorofórmico en ensayos de mortalidad a las 24 horas.

En la figura 27, se observa que la capacidad insecticida del extracto metanólico a las 48 horas, en las concentraciones 1,25, 2,5 y 20% no aumentaron considerablemente comparadas con el extracto clorofórmico. Por otra parte, las concentraciones del 5% y el 10% presentaron el mismo porcentaje de mortalidad, estos resultados pueden estar asociados a la influencia de los factores ajenos al ensayo.

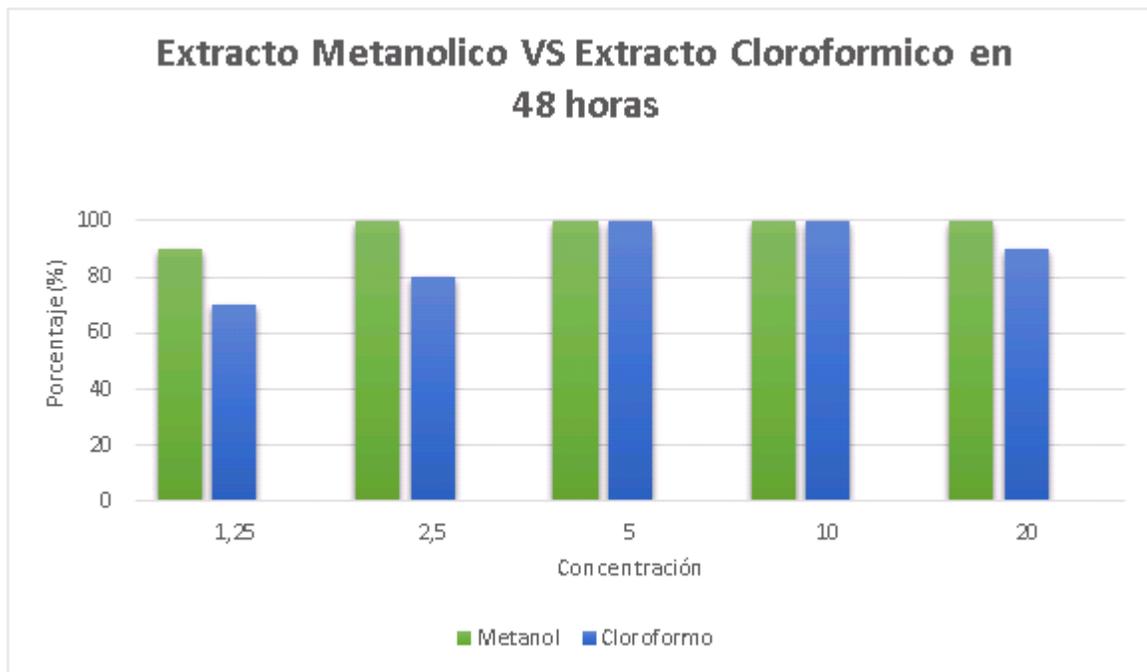


Figura 27: Comparación del extracto metanólico y el extracto clorofórmico en ensayos de mortalidad a las 48 horas.

9. DISCUSIÓN

Las alternativas biológicas de manejo de plagas, están orientadas a disminuir el daño a la salud de las personas y a la salud ambiental. Las estadísticas muestran que los agroquímicos tipo neocotinoide como el fipronil han ocasionado daños irreparables a insectos polinizadores y al agricultor. Una alternativa amigable para el ambiente, es el uso de extractos vegetales y sus metabolitos en el control de insectos plaga. Esta característica biocontroladora que se le está atribuyendo a los extractos es de gran importancia debido a los componentes fitoquímicos que se pueden extraer de estos y en especial los múltiples usos que se les pueden dar. En el caso de esta investigación, se valoraron los posibles usos de repelencia y mortalidad del extracto de *Matricaria chamomilla* utilizando tallo, hojas y flores en conjunto.

En los bioensayos de repelencia, los controles realizados con los solventes no presentaron ningún efecto de repelencia sobre la muestra estudiada, del mismo modo, el extracto metanólico de manzanilla al 20% no produjo efecto repelente sobre los insectos. A diferencia de los controles y el extracto metanólico; donde el 100% de los insectos se ubican en la cámara central del olfatómetro, el extracto clorofórmico empleado, tuvo la capacidad de generar repelencia en el 30% de los insectos, los cuales migraron a la cámara que carecía de solución repelente en su interior. En este sentido, el estudio realizado por Castillo y colaboradores en 2012⁵⁷, en el cual utilizaron seis concentraciones de extracto etanólico de *Capsicum chinense*, se encontró que los seis tratamientos elaborados del extracto resultaron efectivos para repelencia en los adultos de *Bemisia tabaco*, siendo las concentraciones de 40 y 50% las más efectivas. El índice de repelencia calculado a las 48 horas (**tabla 4**), ilustra cuán efectivo puede llegar a ser el extracto en contacto con la población a analizar. En el presente experimento, un resultado de 0,82 para el extracto clorofórmico al 20%, nos indica que el extracto posee leves propiedades de repelencia frente a *Tecia solanivora*, por consiguiente,

el extracto no podría ser considerado un buen repelente para este Lepidóptero, ya que no evitaría la colonización por parte de la plaga. Adicionalmente, en el estudio de Castillo y colaboradores⁵⁷, en el año 2012 todos sus tratamientos obtuvieron un índice de repelencia menor a 1, siendo las concentraciones de 40% y 50% las que obtuvieron el índice de repelencia (0,11) más cercano a cero, presentando mayor actividad repelente, frente a las demás concentraciones estudiadas, incluso, en comparación con los extractos de *Matricaria chamomilla*.

El índice de repelencia indica que el extracto clorofórmico al 20% de *Matricaria chamomilla* es el único que presenta diferencia con respecto a los ensayos control y al extracto metanólico, los cuales no poseen efecto alguno sobre el insecto (*Tecia solanivora*). Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Tomczyk y Suszko en 2011⁵⁹, quienes probaron el extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* en una población de ácaros y obtuvieron datos estadísticamente significativos de repelencia, propiedad que le atribuyen a los terpenoides presentes en esta planta y confirman con los datos reportados en la literatura sobre sus efectos conocidos de repelente e incluso acaricida.

Gómez y Poveda en 2009⁶⁰, evaluaron con ensayos en campo la efectividad repelente del extracto de ajo, pimienta y la combinación de ambos frente a *Tecia solanivora*. Los extractos en su composición única no ejercieron algún tipo de repelencia hacia el Lepidóptero. Sin embargo, su combinación logró generar menor cantidad de plantas infestadas, lo que los autores traducen a que dicha combinación posee propiedades repelentes. Además, los extractos de manzanilla metanólico y cloroformico aparentemente no afectaron la oviposición, puesto que en el presente trabajo se obtuvieron los huevos para continuar con la cría in vitro de los adultos expuestos a los extractos en los ensayos de repelencia.

También con relación al ensayo de repelencia, se ha determinado que existe atracción de la polilla por la planta huésped, debido a la interacción que tienen ciertas sustancias químicas con los órganos receptores del insecto para dichos

compuestos. Esto es confirmado por Bosa y colaboradores en 2011¹⁰, quienes identifican que la papa puede secretar compuestos volátiles como feromonas y kairomonas que pueden de una u otra forma influir en el comportamiento de los insectos. Por una parte, se cree que las flores emiten compuestos atrayentes para insectos polinizadores e insectos plaga, por otro lado, estos compuestos volátiles de la flor se pueden asociar con la repelencia mediante el bloqueo de quimiorreceptores, afectando la percepción química que utilizan las polillas para orientarse sobre esta estructura de la planta, ya que, durante su ciclo de vida, las flores no son de preferencia para el insecto. Teniendo en cuenta esto, y los resultados obtenidos, es posible que el extracto metanólico de manzanilla, no afecte de algún modo los órganos receptores de *Tecia solanivora*, y por lo tanto no genera ningún tipo de repelencia en el insecto. En relación a esto, el extracto de cloroformo tiene algún tipo de metabolito repelente, pero que requiere de concentraciones más elevadas, para potenciar su efecto.

En cuanto a los ensayos de mortalidad, se observa en la **tabla 5** cómo los 2 extractos trabajados y sus diferentes concentraciones presentan porcentaje de mortalidad en larvas de *Tecia solanivora*, siendo el extracto metanólico el que presenta mayor efectividad. Así mismo en el estudio de Bilal y colaboradores en el 2009⁹, obtienen porcentajes de mortalidad en larvas de *Aedes albopictus* con los 5 extractos utilizados. Todos los extractos de este estudio fueron realizados con Éter como solvente, siendo el más efectivo el extracto de *C. Sinensis* con altos porcentajes (82%) de mortalidad, seguido del extracto de manzanilla con el 70% de mortalidad. Para el caso de nuestra investigación se utilizaron dos solventes Metanol y Cloroformo con los cuales se obtuvieron porcentajes de mortalidad muy similares.

En estudios realizados por Pérez y colaboradores en el año 2017³⁶, quienes evaluaron la actividad insecticida de extractos liquénicos de *Phycia* sp en larvas de *Tecia solanivora*, encontraron que los extractos estudiados no presentaron el mismo comportamiento para las concentraciones evaluadas, pero se pudo

confirmar que hubo actividad insecticida para las larvas de *Tecia solanivora*. Así mismo, en los ensayos realizados en el presente trabajo, la actividad insecticida no se evidenció de la misma manera en todos los extractos evaluados. Sin embargo, no se generaron diferencias significativas en cada uno de ellos y se pudo demostrar capacidad insecticida por encima del 20% para el extracto clorofórmico y del 30% para el extracto metanólico.

Aguirre y colaboradores en 2018⁶², logran obtener extractos etanólicos de diferente especies de la familia Asteraceae, los cuales presentan porcentajes de mortalidad en larvas de *Aedes aegypti* mayores al 50% en concentraciones de 500 y 1000%. Posteriormente, realizaron una marcha fitoquímica para la obtención de los diferentes metabolitos secundarios que pueden estar implicados en esta propiedad. Los resultados evidenciaron, que el extracto metanólico de *Matricaria chamomilla* (Asteraceae) en concentraciones de 5, 10 y 20 % obtuvieron mejor rendimiento que el extracto clorofórmico al presentar porcentajes de mortalidad mayores al 50%. Aunque el presente trabajo no realizó la marcha fitoquímica, los investigadores recomiendan que, a futuro, se realice el tamizaje fitoquímico para establecer los posibles metabolitos que estarían produciendo la actividad larvicida en este extracto.

En este sentido, y según la revisión literaria sobre manzanilla, realizada por Ompal y colaboradores en el año 2011⁶¹, los compuestos químicos más importantes y cuya presencia es más frecuente son aquellos pertenecientes a los grupos de los flavonoides, sesquiterpenos, poliacetilenos y cumarinas, además de estos pueden estar presentes otros metabolitos secundarios. Lo anterior es confirmado en el año 2018 por Aguirre y colaboradores⁶³ al informar que las plantas de la familia Asteraceae tienen metabolitos químicos (cumarinas, flavonoides, terpenos, alcaloides y esteroides) los cuales son utilizados como potenciales larvicidas. Adicionalmente, ellos sostienen que la síntesis de estos metabolitos se ve afectada por el género y la especie de Asteracea y la obtención está determinada por el solvente usado para el extracto. De modo que los extractos empleados en

el presente trabajo tienen algunos metabolitos de los que mencionan los investigadores citados por los resultados obtenidos en la actividad larvicida que se ve evidenciada sobre *Tecia solanivora*.

Especies de la familia Asteraceae, tienen la capacidad de sintetizar monoterpenos de tipo piretrinas que tienen función de insecticida natural sin generar riesgo a los mamíferos. Así lo reportan Vitto y Petenatti en el año 2015⁶³, quienes mencionan que la modificación química de este producto natural da lugar a la elaboración de compuestos sintéticos con mayor actividad insecticida. De allí la importancia de poder identificar los metabolitos que está generando esta actividad insecticida, con el objetivo de poder saber si la planta en estudio posee monoterpenos de tipo piretrina o algún otro metabolito que le confiera esta capacidad insecticida.

Los aceites esenciales, se han propuesto como una alternativa para el manejo biológico de *Tecia solanivora*, en el estudio de Ramírez y colaboradores del año 2010³⁵ utilizaron los aceites esenciales de muestras vegetales pertenecientes a la familia Lamiaceae, con los cuales buscaban comprobar su actividad insecticida en los estadios de huevo, larva y adulto, donde finalmente solo el estadio de huevo se vio seriamente afectado por el aceite esencial. Los estadios larval y adulto no sufrieron daños de relevancia. Por el contrario, los extractos vegetales al tener metabolitos más estables en su composición tienen la capacidad de generar mortalidad del 100% de las larvas neonatas a las 48 horas, en casi la totalidad de los ensayos realizados, teniendo en cuenta que el estadio larval posee una composición morfológica relativamente más resistente a la de los huevos, es posible que el extracto también posea propiedades ovicidas para *Tecia solanivora*, actividad que también debe ser determinada a futuro.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran, que la implementación de los extractos vegetales son una alternativa a futuro como posibles controladores de plagas a nivel agrónomo.

10. CONCLUSIONES

1. Se realizó la obtención del extracto de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) utilizando metanol y cloroformo, que según su polaridad son capaces de extraer diferentes metabolitos presentes en la especie vegetal y que le confieren características repelentes e insecticidas
2. En los bioensayos de repelencia realizados, los extractos demostraron capacidad repelente del 30% lo que demuestra su bajo potencial para controlar el insecto plaga, esto se demuestra en el porcentaje de tubérculos dañados. Por esta razón, se podría concluir que su uso, por sí solo, no representa un mecanismo de biocontrol adecuado.
3. Los ensayos de mortalidad aplicando el extracto metanólico y clorofórmico permitieron demostrar que en su composición poseen metabolitos que le atribuyen propiedades larvicidas contra *Tecia solanivora*.
4. Los resultados obtenidos permiten inferir que, la actividad insecticida de los extractos evaluados pueden ser una alternativa biológica para controlar la infestación de *Tecia solanivora*. Para ello, es necesario complementar el estudio, con bioensayos en campo, así como evaluar que no produzca efectos tóxicos para insectos benéficos ni para el agricultor utilizando las pruebas biológicas que recomiendan para cualquier producto con actividad plaguicida.

RECOMENDACIONES

Se recomienda instaurar nuevos estudios en campo que permitan poder confirmar la actividad insecticida del extracto y poder evaluar que no produzca efectos tóxicos para insectos benéficos ni para el agricultor.

Además, se sugiere realizar el tamizaje fitoquímico mediante técnicas de separación de soluciones, con el objetivo de poder identificar aquellos metabolitos que están presentes en el extracto y así poder atribuirle la característica insecticida al metabolito correspondiente.

REFERENCIAS

1. Benfenati E, et al. Predicting acute contact toxicity of pesticides in honeybees (*Apis mellifera*) through a k-nearest neighbor model. Chemosphere [Internet]. 2017 [Citado 16 de octubre de 2017]. 438:444. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516312930>
2. ICA. Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*) Medidas para la temporada invernal. Bogotá D.C. Colombia. 2011
3. Carrasco-Letelier L, Mendoza-Spina Y, Branchiccela M. Acute contact toxicity test of insecticides (Cipermetrina 25, Lorsban 48E, Thionex 35) on honeybees in the southwestern zone of Uruguay [Internet]. Elsevier. 2018 [citado 31 de Enero de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22440636>
4. Huamán Z, Schmiediche P. The potato genetic resources held in trust by the International Potato Center (CIP) in Perú [Internet]. Springer link. 2018 [citado 3 de Febrero de 2018]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02358158>
5. Buitrago C, Gómez M. Uso aparente de plaguicidas en Colombia durante los años 2004 – 2007. [Internet]. 13th ed. Colombia: RepCar; 2018 [citado 14 de Febrero de 2018]. Disponible en: <http://cep.unep.org/repcar/informacion-de-paises/colombia-1/COL%20importacion%20y%20exportacion%202004-2007.pdf>
6. Zekovic Z, Pekic B, Lepojevic Z, Petrovic P. Chromatography in Our Investigations of Camomile (*Matricaria chamomilla* L.). 1994 [Internet]. Chromatographia; 39,9: 587-588 [citado 14 de Febrero de 2018]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02268284>
7. Pollet A, et al. Predicción de daños de la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: Gelechiidae) en el Ecuador [Internet]: Bol. San. Veg. Plagas. 2003 [citado 2 Mayo de 2018]. 29: 233-242. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%2FBSVP-29-02-233-242.pdf

8. Ríos Y, Otero A, Muñoz D, Echeverry M, Robledo S, Yepes M. Actividad citotóxica y leishmanicida in vitro del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) [Internet]. *Revistas.unal.edu.co*. 2008 [cited 30 March 2018]. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/15254>
9. Bilal H, Sahar S, Din S. Bio-Pesticides: New Tool for the Control of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Culicidae: Diptera) in Pakistan. *Pubmed* [Internet]. 2017 [citado 21 de febrero de 2018];11(2):278-285. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29062852>.
10. Bosa C, Clavijo A, Karlsson M, Cotes A, Witzgall P. Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum* [Internet]. *Revista Colombiana De Entomología*. 2011[Citado 2 Mayo de 2018]. 37(1): 1-7. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-04882011000100001
11. Espinel C. et al. Experimental mixtures of *Phthorimaea operculella granulovirus* isolates provide high biological efficacy on both *Phthorimaea operculella* and *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Elsevier* [Internet]. 2012 [Citado 21 de Febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201112001188>
12. Kasiotis KM. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: reported death incidents in honeybees. - *PubMed - NCBI* [Internet]. 2018 [citado 21 de Febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24747255>
13. Arena M, Sgolastra F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. - *PubMed - NCBI* [Internet]. *Ncbi.nlm.nih.gov*. 2018 [citado 21 de Febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24435220>
14. Villamil CJ, Martínez J, Pinzón E. Actividad biológica de hongos entomopatógenos sobre *Premnotrypes vorax* Hustache (Coleoptera: Curculionidae) [Internet]. *Colombia*; 2015 [citado 28 Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v33n1/v33n1a04.pdf>

15. Jimenez C, Pantoja A, Leonel H. Riesgos en la salud de agricultores por uso y manejo de plaguicidas, microcuenca “La Pila” [Internet]. 3rd ed. Pasto; 2016 [citado 21 Febrero 2017].f Disponible en:
<http://www.entomoljournal.com/archives/?year=2017&vol=5&issue=5&part=H&ArticleId=2376>
16. Minagricultura. El cultivo de la papa, *Solanum tuberosum* Alimento de gran valor nutritivo, clave en la seguridad alimentaria mundial [Internet]. 2013. [citado 30 julio de 2018]. Disponible en:
https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/insumos_factores_de_produccion_sep_2013.pdf
17. Manual Técnico de Buenas Prácticas Cultivo de Papa bajo Agrícolas [internet]. [citado 30 julio de 2018]. Disponible en:
<https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/MANUAL%20PAPA%200.pdf>
18. López D, Pantoja J. Acreditación con denominación de origen para la papa pastusa como ventaja competitiva para la comercialización internacional [internet]. 2017. [citado 31 julio de 2018]. disponible en:
<https://www.redsociojuridica.org/red/wp-content/uploads/2017/05/Denominacion-de-origen-de-la-papa-pastusa.pdf>
19. Fedepapa. Órgano informativo de la Federación Colombiana de Productores de Papa [internet]. 2017. Edición 43. [citado 31 julio de 2018]. Disponible en :
<http://fedepapa.com/wp-content/uploads/2017/01/REVISTA-43-OK.pdf>
20. Rodriguez, . Corchuelo, G. Population density and its effect on potato yield (*Solanum tuberosum* L. cv. Parda pastusa) [internet]. 2004. [citado 31 julio de 2018]. Disponible en : <http://bdigital.unal.edu.co/21392/1/17764-56897-1-PB.pdf>
21. Cámara de comercio de Bogotá. Manual papa [internet]. 2015. [citado 31 julio de 2018]. Disponible en:
<https://www.ccb.org.co/content/download/13727/175111/Papa.pdf>
22. Rodríguez D, Rico M. Efecto de Diferentes Niveles y Épocas de Defoliación Sobre el Rendimiento de la Papa (*Solanum tuberosum* cv. Parda Pastusa)

- [internet]. 2010. [citado 31 julio de 2018]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a06v63n01.pdf>
23. Cardona L, Castaño J. Epidemiología del tizón tardío [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] en quince introducciones de tomate silvestre [Internet]. 2016. [citado 7 de agosto de 2018]. Disponible en :
<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v19n1/v19n1a06.pdf>
24. FAO. Guía de identificación de plagas [Internet]. 2011. [citado 7 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/as407s/as407s.pdf>
25. López I, Rivera V. Evaluación de la actividad insecticida de *Schinus molle* sobre *Premnotrypes vorax* en papa [Internet]. 2017. [citado 7 de agosto de 2018]. Disponible en:
<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/31302/31012>
26. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Manejo fitosanitario del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*) medidas para la temporada invernal [Internet]. 2011. [citado 7 agosto de 2018]. disponible en:
<https://www.ica.gov.co/getattachment/b2645c33-d4b4-4d9d-84ac-197c55e7d3d0/Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-la-papa-;-.aspx>
27. Jaramillo S, Botero J. Respuesta de diferentes poblaciones de *Spongospora subterranea f. sp. subterranea* a la rotación entre dos variedades de papa (*Solanum tuberosum ssp. andigena*) [internet]. 2007. [citado 8 de agosto de 2018]. Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24412/25041>
28. Veitía N, Alvarado- Capó Y. Aplicación de la selección *in vitro* en el mejoramiento genético de la papa para la resistencia al Tizón temprano [Internet]. 2008. [citado 8 de agosto de 2018]. Disponible en:
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/329/750>
29. Nuestro municipio [Internet]. Chipaque. Alcaldía Municipal de Chipaque Cundinamarca. 2019 [citado 10 agosto de 2018]. Disponible en :
<http://www.chipaque-cundinamarca.gov.co/municipio/nuestro-municipio>
30. Gonzalez Lopez A. Aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) y su potencial de producción sustentable para uso medicinal. [Tesis pregrado].

- México. 2012. [citado 10 agosto de 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7243/ABRAHAM%20GONZALEZ%20LOPEZ.pdf?sequence=1>
31. Guiomar N. Abejas silvestres y polinización. 2005. 75; 7-8 [citado 11 de agosto de 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/5728/abejas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
32. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Informe especial: Polilla Guatemalteca o Polilla de la Papa [Internet]. Mayo 23 de 2016. [Citado 12 de agosto de 2018]. disponible en: <https://www.ica.gov.co/Noticias/Todas/2016/Informe-especial-Polilla-Guatemalteca-o-Polilla-de.aspx>
33. Villanueva D, Saldamando C. Tecia solanivora, Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae): una revisión sobre su origen, dispersión y estrategias de control biológico [internet]. 2013. [citado 11 agosto de 2018]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83529050012>
34. Camargo C. Rincón D. Localización de hospedero por larvas neonatas de Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae) [Internet]. 2010. [citado 11 de agosto de 2018]. Disponible en:
<http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/189/194>
35. Ramírez J, Gómez M. Efecto insecticida de los aceites esenciales de algunas lamiáceas sobre *Tecia solanivora* Povolny en condiciones de laboratorio [internet]. 2010. [citado 12 de agosto de 2018]. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652010000200015&lang=pt
36. Pérez P, Rojas J. Morales, A. Vizcaya, M. Lugo, C. Actividad insecticida de extractos liquénicos de *Physcia* sp. en larvas de *Tecia solanivora* [Internet]. Revista Ciencia e Ingeniería. 2017 [citado 17 Agosto 2018]; 38(3):265-270. Disponible en:
<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/cienciaeingenieria/article/viewFile/10026/9953>

37. Villanueva D, Torres J, Rivera H, Nuñez V, Arango R, Ángel F. Líneas colombianas de papa genéticamente modificadas resistentes a *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) bajo campo confinado. *Revista Colombiana de Entomología*. [Internet]. 2014 [citado 17 Agosto 2018];40(2):148-157. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v40n2/v40n2a03.pdf>
38. Villamil J. Martínez W. Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria* spp. sobre *Tecia solanivora* (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) in vitro [Internet]. *Revista de Ciencias Agrarias*. 2014 [citado 19 August 2018]; 31(1):265-270. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5104168>
39. Quiroga I, Gómez M, Villamizar L. Estabilidad de formulaciones a base de granulovirus para controlar *Tecia solanivora*(Lepidoptera: Gelechiidae) en campo [Internet]. *Revista Colombiana de Entomología*. 2011 [citado 19 Agosto 2018]; 37(2). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882011000100005
40. Montaña M, Montilla J, Perdomo V. Causas y efectos del mal manejo de los insecticidas sobre la salud del agricultor [internet]. *Revista científica juvenil*. 2009 [citado 20 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/creando/article/view/1681/1643>
41. Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes. Insecticidas y acaricidas [internet]. 2010 [citado 20 agosto 2018]. Disponible en: <https://kardauni08.files.wordpress.com/2010/09/insecticidas.pdf>
42. Stadler T, Buteler M, Weaver D. Nanoinsecticidas: Nuevas perspectivas para el control de plagas [Internet]. *Revista de la sociedad entomológica argentina*. 2010. [citado 20 agosto de 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0373-56802010000200001
43. Botello A, Rendón J, Gold G, Agraz C. Golfo de México: contaminación e impacto ambiental [Internet]. 2nd ed. Veracruz; 2005. [citado 22 de agosto de 2018]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=lang_es&id=WwuryOF1jUEC&oi=fnd&p

[g=PA177&dq=insecticidas+afecta+humanos&ots=EsogET-tKo&sig=XK-TBwAuDWsySVIxizZfYcqkw78#v=onepage&q=insecticidas%20afecta%20humanos&f=false](http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n1/a11v25n1)

44. Devine G, Eza D, Oguzuku E, Furlong M. Uso De Insecticidas: Contexto Y Consecuencias Ecológicas [Internet]. 1st ed. Lima; 2008 [citado 24 Agosto 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n1/a11v25n1>
45. Barranco M, Vergara C, Mora A. Conocimiento Actual Del Efecto De Los Insecticidas Derivados De La Nicotina (Neonicotinoides) En Las Poblaciones De Abejas Polinizadoras. [Internet]. México: Researchgate; 2015 [citado 24 Agosto 2018]. Disponible en: <https://incyt.upse.edu.ec/revistas/index.php/rctu/article/view/66/65>
46. Una pequeña dosis de plaguicidas O Una introducción a los efectos de los plaguicidas en la salud [Internet]. 2010 [citado 24 Agosto 2018]. Disponible en: <https://static1.squarespace.com/static/5a6e162f64b05f4a0d859674/t/5ab9266588251b9c242d171e/1522083430820/Chapter+7+Plaguicidas.ED2.05.03.10+%28Spanish%29.pdf>
47. Santamaria C, Gonzalez A, Astorga F. Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés [Internet]. Madrid: European Natural Additives; 2015 [citado 25 Agosto 2018]. Disponible en <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>
48. Celis A, Mendoza C. Pachón, M. Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades [internet]. 2009 [citado 30 de agosto de 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/43977341_Uso_de_Extractos_Vegetales_en_el_Manejo_Integrado_de_Plagas_Enfermedades_y_Arvenses_revision
49. Moncada G. Sánchez M. Validación preliminar de la técnica de rotaevaporación como método para concentrar aluminio, selenio y hierro en agua potable y posterior determinación por espectrofotometría de absorción atómica de llama. [Internet]. Trabajo de grado. 2013 [citado 3 de septiembre de 2018]. Disponible en:

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11847/MoncadaPinosGinethXimena2013.pdf?sequence=1>

50. Cardoso F, Da Silva P. Eficiencia de extractos vegetales como insecticida sobre *Sitophilus zeamais* en granos de maíz almacenados [internet]. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias. 2014 [citado 3 de septiembre de 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcta/v23n2/rcta10214.pdf>
51. Salazar C. Betancourth C. Evaluación de extractos de plantas para el manejo de polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) en cultivos de papa en Nariño, Colombia [Internet]. Agronomía Colombiana. 2009 [citado 3 de septiembre de 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652009000200010&lang=pt
52. Manzanilla [Internet]. Lima: Inkaplus; [citado el 31 August 2018]. Disponible en: <http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/Manzanilla.pdf>
53. González A. Aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L) y su potencial de producción sustentable para uso medicinal. Coahuila, Mexico.2012. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7243/ABR-AHAM%20GONZALEZ%20LOPEZ.pdf?sequence=1>
54. Castro D, Díaz J, Serna R, Martinez M, Urrea P, Muñoz K et al. Cultivo y producción de plantas medicinales [Internet]. 2 ed. Medellín: UCO; 2013 [citado 14 Septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.uco.edu.co/investigacion/fondoeditorial/libros/Documents/Libro%20Plantas%20Aromaticas%202013.pdf>
55. Carvalho A, Silva D, Silva T, Scarcelli E, Manhani M. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.) [Internet]. Scielo. 2014 [citado 14 Septiembre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000300007

56. Alcaldía Local de Mártires [Internet]. Alcaldía Mayor de Bogotá. [citado 22 marzo de 2019]. Disponible en: <http://www.martires.gov.co/milocalidad/la-plaza-del-samper-mendoza-patrimonio-inmaterial-cultural-y-botanico-bogota>
57. Castillo, L. Jiménez, J. Delgado, M. Actividad Biológica in vitro del extracto de *Capsicum chinense* Jacq contra *Bemisia tabaci* Genn [Internet]. Scielo. 2012. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000300008
58. Aguirre, O. Duarte, I. Alvarez, J. Jiménez, J. Actividad larvica de extractos vegetales de la familia Asteraceae y modelación matemática para su uso en el control de poblaciones de *Aedes aegypti* [Internet]. Actualidades biológicas. 2018 [Citado 22 de marzo de 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/328077705_Actividad_larvica_de_extractos_vegetales_de_la_familia_Asteraceae_y_modelacion_matematica_para_su_uso_en_el_control_de_poblaciones_de_Aedes_aegypti
59. Tomczyck, A. Suszko, M. The role of phenols in the influence of herbal extracts from *Salvia officinalis* L. and *Matricaria chamomilla* L. on two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch [Internet]. Sciendo 2011. [Citado 22 marzo de 2019]. Disponible en : <https://content.sciendo.com/view/journals/biolet/48/2/article-p193.xml>
60. Gómez, M. Poveda, K. Synergistic effects of repellents and attractants in potato tuber moth control. [Internet]. Academia 2011. [Citado 24 marzo de 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/26817468/Synergistic_effects_of_repellents_and_attractants_in_potato_tuber_moth_control
61. Ompal, S. Zakia, K. Neerlam, M. Manoj, K. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): a review. [Internet]. Pharmacognosy. 2011. [Citado 30 marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210003/>
62. Aguirre, O. Duarte I. Alvarez J. Jiménez J. Actividad larvica de extractos vegetales de la familia Asteraceae y modelación matemática para su uso en el control de poblaciones de *Aedes aegypti*. [Internet]. Scielo. 2018. [Citado 30

marzo de 2019]. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-35842018000100005

63. Vitto L. Petenatti E. Asteráceas de importancia económica y ambiental Segunda parte: Otras plantas útiles y nocivas. [Internet]. Multequina. 2015 [Citado 30 marzo de 2019]. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/428/42844132004.pdfhttps://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>

64. Torres T. Colecta, caracterización fenotípica, productividad de papas nativas (*Solanum tuberosum* ssp andígena Juz. et Buk.) de zonas andinas en el centro del país. [Tesis de pre-grado]. 2015. [Citado 24 de mayo 2019]. Disponible en:

<http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/978/TORRES%20RAMIREZ%2C%20TATIANA%20KELY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

65. Araque C, García J. Manual Integrado de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny). [Internet] CORPOICA. 1999 [Citado 24 de mayo de 2019]. Disponible en:

<http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6283/1/MIP%20de%20la%20polilla%20guatemalteca%20en%20papa.pdf>

66. Consejería de agricultura, pesca y desarrollo rural. La polilla guatemalteca de la patata *Tecia solanivora* [folleto] Sevilla, España: Junta de Andalucía; 2017. Disponible en:

https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/LA%20POLILLA%20GUATEMALTECA_0.pdf

67. Natural museum of natural history. Matricaria chamomilla. [Internet]. 2005. [Citado 24 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://eol.org/pages/820061>

68. Agrobiologicos Safer. ALISIN. Medellín: [Ficha técnica-Internet]; 2019 [Citado el 24 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://safer.com.co/wp-content/uploads/2018/08/F.T-Alisin.pdf>

69. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Productos registrados bioinsumos. [Internet]. 2018. [Citado 24 de mayo de 2019]. Disponible en:

<https://www.ica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dcc8132/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>