



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DE LA
CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES**

**DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA Y CONSERVACIÓN DE LA
NATURALEZA**

**EFFECTO BIOCIDA DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Peumus boldus* Mol. Y *Quillaja
saponaria* Mol. SOBRE DOS HONGOS DE PUDRICIÓN DE LA MADERA Y LA
TERMITA SUBTERRÁNEA**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniera Forestal

PAULA DANIELA CORREA GALLEGUILLOS

Profesores Guía: Dra. Amanda Huerta Fuentes, Ingeniero Forestal
Dr. Ricardo Silva Soto, Ingeniero Forestal

Santiago, Chile
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y DE LA CONSERVACIÓN DE LA
NATURALEZA
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA Y CONSERVACIÓN DE LA NATURALEZA

**EFFECTO BIOCIDA DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Peumus boldus* Mol. Y *Quillaja*
saponaria Mol. SOBRE DOS HONGOS DE PUDRICIÓN DE LA MADERA Y LA
TERMITA SUBTERRÁNEA**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniera Forestal

PAULA DANIELA CORREA GALLEGUILLOS

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Dra. Amanda Huerta Fuentes
Prof. Guía Dr. Ricardo Silva Soto
Prof. Consejero MSc. René Carmona Cerda
Prof. Consejero Sr. Julio Torres Cuadros

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Agentes de daño.....	2
1.2 Especies vegetales evaluadas.....	3
2. MATERIAL Y MÉTODO	6
2.1 Material.....	6
2.1.1 Material vegetal.....	6
2.1.2 Material biótico	6
2.2 Método.....	6
2.2.1 Recolección y preparación del material vegetal.....	6
2.2.2 Recolección y mantención de agentes bióticos	7
2.2.3 Bioensayos	8
2.2.3.1 Hongos de pudrición.....	8
2.2.3.2 Termita subterránea	11
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
3.1 Determinación de la capacidad fungicida.....	13
3.1.1 Capacidad fungicida de extractos de hojas de <i>P. boldus</i>	13
3.1.1.1 Efecto fungicida sobre <i>Gloeophyllum trabeum</i>	13
3.1.1.2 Efecto fungicida sobre <i>Trametes versicolor</i>	14
3.1.2 Capacidad fungicida de extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i>	15
3.1.2.1 Efecto fungicida sobre <i>Gloeophyllum trabeum</i>	15
3.1.2.2 Efecto fungicida sobre <i>Trametes versicolor</i>	17
3.2 Determinación de la capacidad insecticida.....	19
3.2.1 Porcentaje de Mortalidad Promedio.....	19
3.2.1.1 Prueba de Exposición Indirecta.....	19
3.2.1.2 Prueba de Exposición Directa	24
3.2.2 Concentración letal (CL ₅₀).....	31
3.2.2.1 Extractos de hojas de <i>P. boldus</i>	31
3.2.2.2 Extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i>	35
3.2.3 Tiempo letal (TL ₅₀).....	39

3.2.3.1 Extractos de hojas de <i>P. boldus</i>	39
3.2.3.2 Extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i>	40
4. CONCLUSIONES	43
5. BIBLIOGRAFÍA	44
APÉNDICES	48
I. Análisis estadístico 1	48
II. Análisis estadístico 2.....	49
III. Análisis estadístico 3	50
IV. Análisis estadístico 4.....	51
V. Análisis estadístico 5	52
VI. Análisis estadístico 6.....	54
VII. Análisis estadístico 7.....	56
VIII. Análisis estadístico 8	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones (sólidos totales en % p/v) según especie y disolvente para los ensayos de efecto biocida.	7
Cuadro 2. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de hojas de <i>P. boldus</i> posterior al ataque de <i>G. trabeum</i>	13
Cuadro 3. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de hojas de <i>P. boldus</i> posterior al ataque de <i>T. versicolor</i>	15
Cuadro 4. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de <i>Q. saponaria</i> posterior al ataque de <i>G. trabeum</i>	16
Cuadro 5. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de <i>Q. saponaria</i> posterior al ataque de <i>T. versicolor</i>	17
Cuadro 6. Mortalidad (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>P. boldus</i> en prueba de exposición indirecta, al día 14 de evaluación con extracto acuoso y etanólico.	19
Cuadro 7. Mortalidad (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>Q. saponaria</i> en prueba de exposición indirecta, al día 15 de evaluación con extracto acuoso y al día 13 de evaluación con extracto etanólico.	22
Cuadro 8. Mortalidad (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>P. boldus</i> en prueba de exposición directa, al día 11 de evaluación con extracto acuoso y al día 14 de evaluación con extracto etanólico.	24
Cuadro 9. Mortalidad (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>Q. saponaria</i> en prueba de exposición directa, al día 14 de evaluación con extracto acuoso y al día 10 de evaluación con extracto etanólico.	28
Cuadro 10. Efectividad insecticida sobre <i>R. flavipes</i> de los extractos de hojas de <i>P. boldus</i> según prueba de exposición directa e indirecta, en función de la CL ₅₀	31
Cuadro 11. Efectividad insecticida sobre <i>R. flavipes</i> de los extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i> según prueba de exposición directa e indirecta, en función de la CL ₅₀	35
Cuadro 12. Eficacia insecticida de los extractos de hojas de <i>P. boldus</i> según prueba de exposición y disolvente, en función al TL ₅₀ sobre <i>R. flavipes</i>	39
Cuadro 13. Eficacia insecticida de los extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i> según prueba de exposición y disolvente, en función del TL ₅₀ sobre <i>R. flavipes</i>	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evidencia visual de decaimiento por acción de <i>G. trabeum</i> sobre probetas de pino radiata en tratamiento con extracto de hojas de <i>P. boldus</i>	14
Figura 2. Evidencia visual de decaimiento por ataque de <i>G. trabeum</i> sobre probetas de pino radiata bajo tratamiento con extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i>	17
Figura 3. Probetas con extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i> bajo ataque fúngico (<i>T. versicolor</i>) al final del ensayo.....	18
Figura 4. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de la exposición indirecta a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de <i>P. boldus</i> en tres concentraciones.....	21
Figura 5. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de la exposición indirecta a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de <i>Q. saponaria</i> en tres concentraciones.....	23
Figura 6. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de la exposición directa a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de <i>P. boldus</i> en tres concentraciones.....	27
Figura 7. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de <i>R. flavipes</i> por efecto de la exposición directa a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de <i>Q. saponaria</i> en tres concentraciones.....	30
Figura 8. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL ₅₀ para la mortalidad de <i>R. flavipes</i> , por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>P. boldus</i> , según pruebas de exposición indirecta al día 15 en extracto acuoso (A) y etanólico (B).....	33
Figura 9. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL ₅₀ para la mortalidad de <i>R. flavipes</i> , por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>P. boldus</i> , según pruebas de exposición directa al día 11 (A) en extracto acuoso y al día 10 (B) en extracto etanólico.....	34
Figura 10. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL ₅₀ para la mortalidad de <i>R. flavipes</i> , por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>Q. saponaria</i> , según pruebas de exposición indirecta al día 16 (A) en extracto acuoso y al día 14 (B) en extracto etanólico.....	37
Figura 11. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL ₅₀ para la mortalidad de <i>R. flavipes</i> , por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>Q. saponaria</i> , según pruebas de exposición directa al día 15 (A) en extracto acuoso y al día 11 (B) en extracto etanólico.....	38
Figura 12. Representación gráfica del análisis Probit, mediante el TL ₅₀ para la mortalidad de <i>R. flavipes</i> , por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de <i>P. boldus</i> en prueba de exposición directa (A) y prueba de exposición indirecta (B), a una concentración de 1% p/v.3.2.3.2 Extractos de hojas de <i>Q. saponaria</i>	40

Figura 13. Representación gráfica del análisis Probit, mediante el TL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria* en prueba de exposición directa (A) y prueba de exposición indirecta (B) a una concentración de 1% p/v.....42

Efecto biocida de extractos de hojas de *Peumus boldus* Mol. y *Quillaja saponaria* Mol. sobre dos hongos de pudrición de la madera y la termita subterránea

RESUMEN

La mayor destrucción de la madera en servicio proviene de la biodegradación causada por hongos e insectos cuando este material se encuentra en condiciones favorables para la acción y desarrollo de los referidos organismos. El presente estudio evaluó la capacidad fungicida de extractos acuosos de hojas de *Peumus boldus* Molina y de *Quillaja saponaria* Molina por separado sobre dos hongos de pudrición de la madera, *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill (pudrición café) y *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát (pudrición blanca). Además, se evaluó la capacidad insecticida de extractos acuosos y etanólicos de hojas de las mismas especies vegetales sobre *Reticulitermes flavipes* Kollar. Se evaluaron tres concentraciones de extractos de hojas de boldo, las acuosas fueron 1, 2 y 3% p/v y las etanólicas, 1, 2 y 4% p/v. En el caso de quillay, las acuosas fueron 1, 3 y 6% p/v y las etanólicas, 1, 2 y 4% p/v. Para los bioensayos de hongos, el procedimiento y la evaluación de los resultados se encuentran basados en la norma ASTM D1413-07 (2008), considerando 10 probetas de *Pinus radiata* D. Don por tratamiento para cada bioensayo. Se hizo un análisis unifactorial (concentración) para cada extracto por separado y pruebas de Tukey ($p \leq 0,05$) al surgir diferencias estadísticamente significativas. El extracto acuoso de hojas de *P. boldus* presentó mayor efecto fungicida sobre *T. versicolor* que sobre *G. trabeum*, disminuyendo la pérdida de peso desde 26,98% (testigo) a 19,3% con la concentración 3% p/v. En el caso del extracto acuoso de hojas de *Q. saponaria*, el mejor resultado también se obtuvo sobre *T. versicolor*, disminuyendo la pérdida de peso desde 26,98% (testigo) a 10,22% con la máxima concentración (6% p/v) siendo este último resultado, el más promisorio para este bioensayo. En el caso de la capacidad insecticida, se evaluó la mortalidad en unidades experimentales de 10 obreras, con 5 repeticiones por tratamiento y para cada extracto de manera independiente mediante la humectación de papel filtro con el extracto correspondiente, además de realizar pruebas de exposición directas e indirectas. Se hizo el mismo análisis de varianza aplicado al bioensayo de hongos. El extracto acuoso de hojas de *P. boldus* logró mayor mortalidad que el etanólico en ambas pruebas. En el caso de los extractos de *Q. saponaria*, el extracto etanólico provocó mayor mortalidad que el acuoso en la prueba de exposición directa, mientras que en la indirecta fue más efectivo el extracto acuoso. La menor CL_{50} de extracto de hojas de *P. boldus* fue 1,01% p/v y se logró a los 12 días en la prueba de exposición directa. El TL_{50} menor fue de 11,51 días en la prueba de exposición directa y se obtuvo con el extracto acuoso a 1% p/v. En el caso de la CL_{50} de extractos de hojas de *Q. saponaria*, la menor CL_{50} fue 1% p/v y se logró con el extracto etanólico en la prueba de exposición directa. El TL_{50} menor fue de 10,96 días y se logró con el extracto etanólico a 1% p/v. Los resultados obtenidos sugieren alternativas de desarrollo para biofungicidas a base de hojas de *Q. saponaria* y de insecticidas botánicos a base de extractos de hojas de *P. boldus* y *Q. saponaria*.

Palabras clave: Biofungicidas, insecticidas botánicos, *Peumus boldus*, *Quillaja saponaria*, *Reticulitermes flavipes*, pérdida de peso, concentración letal, tiempo letal.

ABSTRACT

Most destruction of wood in service comes of the biodegradation caused by fungi and insects when this material is in favorable conditions for the action and development of those organisms. The aim of the present study was to evaluate the fungicide capacity with aqueous extracts of *Peumus boldus* Molina and *Quillaja saponaria* Molina leaves separated of two fungi of wood rot, *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill (Brown rot) and *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát (White rot). The insecticide capacity of aqueous and ethanolic extracts of leaves of the same vegetables species over *Reticulitermes flavipes* Kollar was evaluated too. Three concentrations of boldo were tested, the aqueous was 1, 2 and 3% w/v and the ethanolics, 1, 2 and 4% w/v. To the fungal bioassays, procedure and evaluation of results they are based on the norm ASTM D1413-07 (2008), considering 10 test blocks of *Pinus radiata* D. Don by treatment for each bioassay. An univariate analysis was done (concentration) separately for each extract and Tukey test ($p \leq 0.05$) the statistically significant differences arise. The aqueous extract of *P. boldus* leaves had more fungicide effect on *T. versicolor* than *G. trabeum*, decreasing the weight loss from 26.98% (control treatment) to 19.3% with the concentration 3% w/v. In the case of the aqueous extract of *Q. saponaria* leaves, the best result also was obtained over *T. versicolor*, decreasing the weight loss from 26.98% (control treatment) to 10.22% with the maximum concentration (6% w/v), being the last result the most encourage for this bioassay. In the case of the insecticide capacity, the mortality was evaluated in experimental units in 10 workers, with 5 repetitions by treatment and for each extract independently by wetting of filter paper with the corresponding extract, besides testing direct and indirect exposure. The same analysis of variance applied to bioassay fungus was applied. The aqueous extract of *P. boldus* leaves achieved a higher mortality than ethanolic extract in both tests. For extracts of *Q. saponaria*, ethanolic extracts reached a higher mortality than aqueous extract in the testing direct exposure, while the indirect was more effective the aqueous extract. Lower LC_{50} (mean lethal concentration) of extracts of *P. boldus* leaves was 1.01% p/v and reach on 12 d in the testing direct exposure. Lower LT_{50} (mean lethal time) was 11.15 d in the direct exposure test and it reached with the aqueous extract with 1% w/v. For LC_{50} of extracts of *Q. saponaria* leaves, lower was 1% w/v and it was obtained with the ethanolic extract in the testing direct exposure. Lower LT_{50} was 10.96 d and it was achieved with ethanolic extract with 1% w/v. All the results obtained on this study suggest several options to biofungicides from the *Q. saponaria* leaves and botanical insecticide done from extracts of *P. boldus* and *Q. saponaria* leaves.

Keywords: biofungicides, botanical insecticide, *Peumus boldus*, *Quillaja saponaria*, *Reticulitermes flavipes*, weight loss, lethal concentration, lethal time

1. INTRODUCCIÓN

Los bosques representan cerca del 27% del área terrestre en el mundo, siendo la madera el producto comercial predominante y de gran valor e importancia en la economía mundial. Ésta tiene variados usos dependiendo de la demanda existente, tales como material estructural, combustible o materia prima para la industria. Como material estructural la madera tiene una gran resistencia por unidad de peso. Es una fuente de energía conveniente y una de las más económicas fuentes de celulosa y sus derivados para la industria química (González, 2012).

La madera se compone principalmente de celulosa (40-50% del peso seco), hemicelulosa (25-40%) y lignina (20-35%), con muy bajos niveles de azúcares disponibles que pueden ser atacados por protozoos, bacterias y hongos de diferentes grupos taxonómicos. En latifoliadas generalmente se encuentran taninos, mientras que en coníferas, compuestos fenólicos como terpenos, estilbenos, flavonoides y topolones (Deacon, 2009).

La mayor destrucción de la madera en servicio proviene de la biodegradación causada por hongos e insectos cuando este material se encuentra en condiciones favorables para la acción y desarrollo de los referidos organismos. Los insectos, en especial las termitas subterráneas, forman parte de los mayores agentes de daño a la madera, constituyendo plagas en diversos países del mundo, causando cuantiosas pérdidas económicas (Karsulovic y Bozo, 2006).

Los hongos, al establecerse en la madera, sea en el estado de rollizo, astilla o madera en servicio, desarrollan hifas de pequeño tamaño que permiten la rápida colonización en las paredes y lúmenes celulares, produciendo una transformación bioquímica que posteriormente es perceptible al ojo humano (Kirk y Cullen, 1998).

Los hongos de pudrición de la madera pueden ser agrupados según el color con que queda la madera después de un ataque extensivo, lo que se relaciona con el componente químico de la madera que preferentemente degradan, en dos categorías: hongos de pudrición blanca y hongos de pudrición café (González, 2012).

Gloeophyllum trabeum (Pers.) Murrill (Gloeophyllales, Gloeophyllaceae) es un hongo de pudrición café que por mucho tiempo fue considerado dentro del orden Polyporales, pero actualmente pertenece al orden Gloeophyllales. Según United States Department of Agriculture (USDA) (2015), posee sinonimias tales como *Lenzites trabea* y *Trametes trabea*. Se señala que pertenece a la clase Basidiomycetes, por lo que su ciclo reproductivo es sexual.

Estos hongos se caracterizan por degradar principalmente los carbohidratos de la madera y sólo modifican la lignina hasta cierto punto. En las primeras etapas de la biodegradación se realiza una depolimerización de carbohidratos rápida, causando una pérdida acelerada de la resistencia de la madera (Contreras *et al.*, 2010). Según Durán *et al.* (2002), este grupo de hongos representa sólo el 7% de los basidiomycetes causantes de pudrición en la madera.

Los hongos de pudrición café, como *G. trabeum*, son los más destructivos, debido a que pueden causar rápidamente fallas estructurales. Según González (2012), estos hongos remueven selectivamente celulosa y hemicelulosa de la madera. La madera degradada por ellos pierde rápidamente sus propiedades de solidez y experimentan roturas drásticas. En estados avanzados la madera es reducida a un residuo de trozos amorfos, blandos, castaños, cúbicos, compuestos mayormente de lignina ligeramente modificada. Winandy y Morrel (1993), evaluaron la resistencia mecánica de madera de *Pseudotsuga menziesii* frente a *G. trabeum* y *Postia placenta* (Fr.) M.J. Larsen & Lombard, obteniendo pérdidas de peso entre 1 y 18%, con disminuciones de la resistencia entre el 50 y 70% (Herrera *et al.*, 2011).

Trametes versicolor (L.: Fr.) Pilát (Polyporales, Polyporaceae) es un hongo de pudrición blanca. Posee sinonimias tales como *Coriolus versicolor* y *Polyporus versicolor* (USDA, 2015). Es un basidiomycete que produce tres enzimas ligninolíticas y posee una capacidad de degradación más potente de la lignina que *G. trabeum*, hidrocarburos aromáticos policíclicos, una mezcla de bifenilos policlorados y un número de colorantes sintéticos (Amado *et. al.*, 2007). Es importante mencionar que la pérdida de resistencia causada por este hongo es proporcional a la reducción de peso (Peredo e Inzunza, 1985). Según González (2012), este tipo de hongo ataca en igual proporción a la lignina y celulosa.

1.1 Agentes de daño

Los hongos de pudrición blanca, como *T. versicolor*, producen pérdidas de peso de entre un 5 y 14% con respecto al peso de la madera sana, lo cual afecta, por ejemplo, directamente al rendimiento e incrementa la cantidad de finos durante el proceso Kraft para la obtención de celulosa (Kirk y Cullen, 1998).

Este tipo de hongo tiene un sistema de enzimas celulasas y ligninasas que permite degradar todos los componentes de las paredes celulares de la madera. Algunos, sin embargo, remueven lignina más rápido. La madera degradada por estos hongos tiende a perder gradualmente sus propiedades de solidez y retienen su estructura fibrosa aún en estados avanzados. La madera deteriorada se vuelve esponjosa, filamentosa o laminada, y usualmente está manchada y descolorida en relación a la madera sana (Webster, 1986).

Según el Centro de Transferencia Tecnológica de la Madera (CTT) y la Corporación Chilena de la Madera (CORMA) (2008), la termita subterránea (aquella que entra a las construcciones de madera vía el suelo), desde el punto de vista económico, es la plaga más severa, en términos del posible daño estructural que causa a la madera en el país.

En Chile, *Reticulitermes flavipes* Kollar (Isoptera, Rhinotermitidae) se distribuye entre las regiones de Valparaíso y Libertador Bernardo O'Higgins, y tiene su origen en E.E.U.U. Esta especie en particular es responsable, en una proporción significativa, del daño causado a construcciones en madera (CTT y CORMA, 2008).

Las termitas se caracterizan por presentar metamorfosis incompleta: sus estados son huevo, ninfa y finalmente adulto. Una vez que se encuentran en estado de madurez sexual (desarrollan un par de alas) emigran desde el nido en período estival; después de intensas lluvias se observan grandes enjambres de estos insectos alados que buscan parejas para colonizar otros lugares (pareja que será de por vida). En la etapa del cortejo se conocen dos procesos especiales, uno es la autonomía (pierden sus alas) y el otro es "tándems" (unión de las antenas del macho al abdomen de la hembra). Posteriormente la pareja construye el copulario, donde se amputan parcial o totalmente las antenas. Luego de todas estas etapas comienza la verdadera copulación y la primera puesta de huevos, donde se originará una nueva casta (Ramírez y Lanfranco, 2001).

El período de vuelo ocurre durante la segunda quincena de agosto hasta fines de septiembre en los días de mayor calor y a media tarde en las regiones de Valparaíso y Metropolitana. Está asociada principalmente al área urbana, aunque también produce daños en frutales (cítricos, paltos). Los mayores daños se encuentran asociados a madera usada en marcos de puertas y ventanas, pisos, zócalos, etcétera (Ripa y Luppichini, 2004).

Los daños más evidentes causados por la termita subterránea que se han manifestado en la Región Metropolitana corresponden a viviendas de estratos económicos bajos (viviendas sociales, autoconstrucción y áreas de urbanización deficientes), donde la situación se torna en la mayoría de los casos dramática, ya que los insectos causan la destrucción prácticamente total de las viviendas, o a lo menos las torna inhabitables (Karsulovic y Bozo, 2006).

El uso continuo e indiscriminado de sustancias químicas para el control de plagas es el responsable de la resistencia a insecticidas por parte de los insectos, sin por ello restar importancia a su impacto sobre la reducción de parasitoides (Bourguet *et al.*, 2000), predadores naturales y polinizadores, entre los otros tantos integrantes del ecosistema que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos (Boutin y Freemark, 1995).

Boutin y Freemark (1995) indican que las plantas producen más de 100.000 sustancias de bajo peso molecular, conocidas también como metabolitos secundarios. Estos son, normalmente, no-esenciales para el proceso metabólico básico de la planta. Entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, algunos tipos de azúcares, esteroides y diversos tipos de ácidos. Tienen como ventaja ser naturales y biodegradables, por lo que su impacto al medio ambiente es sustancialmente menor que el de los biocidas químicos.

1.2 Especies vegetales evaluadas

El boldo (*Peumus boldus* Molina) perteneciente al orden Laurales, familia Monimiaceae, es un árbol siempreverde endémico de Chile. Se distribuye entre la Región de Coquimbo y la Región de Los Lagos (30° a 40° latitud Sur), presentando una mayor abundancia en la zona mediterránea. En esa zona se mezcla con otros exponentes del bosque esclerófilo, tales como litre (*Lithraea caustica*), quillay (*Quillaja saponaria*) y peumo (*Cryptocarya alba*), aunque tiende a formar bosques puros (Aedo *et al.*, 2005).

Este árbol es usado tradicionalmente para leña y carbón, tiene frecuentemente un hábito arbustivo, debido a su capacidad de rebrotar frente a la corta e incendios. El principal interés radica en sus hojas, cosechadas en verano para su comercialización y exportación. Las hojas deshidratadas son utilizadas en la preparación de infusiones, a las que se les atribuyen propiedades estimulantes de la digestión, coleréticas y para afecciones hepáticas (Aedo *et al.*, 2005).

De acuerdo a Aguilar-Medel *et al.* (2012), los principales compuestos activos de *P. boldus* son sus aceites esenciales y alcaloides, los cuales se encuentran en distintas concentraciones en el follaje y madera dependiendo de la época del año. Existe evidencia que las hojas molidas (polvo), los extractos y el aceite esencial de este árbol poseen atributos insecticidas contra *Xanthogaleruca luteola* Müller (Macuada, 2013), *Sitophilus zeamais* Mots. (Aguilar-Medel *et al.* 2012; Pizarro, 2007), *Acanthoscelides obtectus* Say (Aguilar-Medel, 2012) y larvas de *Spodoptera littoralis* Boisd., *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Zapata *et al.*, 2006) y *Helicoverpa zea* Boddie (Silva, 2010), junto con efecto fungicida contra *Penicillium* spp (Aguilar-Medel *et al.*, 2012), *Fusarium* spp (Bittner *et al.* 2009; Bravo *et al.* 2000), *Aspergillus niger* y *A. flavus* (Aguilar-Medel *et al.*, 2012).

Según Sfeir (1990), el alcaloide principal del boldo es la boldina, la cual está presente en mayor proporción en la corteza (3,73%), seguido del fuste y ramas (0,09 y 0,2%, respectivamente), y de las hojas (0,03%). Por otro lado, Carvalho *et al.* (2008) señalan que las hojas de boldo contienen entre un 0,4 y 0,5% de alcaloides de clase benzoquinolínicos, siendo la boldina el principal, representando entre el 12 a 19% del contenido total de alcaloides. Por último, Silva *et al.* (2003) indican que las hojas trituradas de *P. boldus* tienen actividad insecticida contra plagas de productos almacenados.

El quillay (*Quillaja saponaria* Molina) perteneciente al orden Rosales, familia Rosaceae, es un árbol endémico de Chile que se distribuye desde la provincia de Limarí, Región de Coquimbo, hasta la provincia de Malleco, Región de la Araucanía, entre los 30° 30' y los 38° latitud sur (INFOR *et al.*, 2000). Está presente desde el litoral hasta la Cordillera de los Andes, desde los 15 hasta los 1.600 m.s.n.m. Es una especie muy utilizada como árbol urbano en la zona central de Chile, también en Europa y E.E.U.U. (Alvarado *et al.*, 2012).

Según INFOR *et al.* (2000) y Alvarado *et al.* (2012), este árbol crece junto a otras especies forestales tales como litre, peumo, maitén (*Maytenus boaria*), boldo y otras. En el valle central se asocia con espino (*Acacia caven*), litre, trevo (*Trevoa trinervis*), huingán (*Schinus molle*), boldo y otras más. Por último, en el sur aparece formando un bosque abierto asociado a boldo.

Quillay es considerada una de las especies más interesantes que crecen en la zona semiárida de Chile, por el aprovechamiento de su corteza de la que se extrae saponina de múltiples usos (INFOR *et al.*, 2000). Por otra parte, Ibaca (2001) señala que sus partes útiles son las flores, hojas y corteza en medicina popular.

Sfeir (1990), señala que la saponina al igual que la boldina en boldo, se encuentra en todos los componentes aéreos de la planta: corteza (11,6%), ramas con corteza (10%), madera (8,8%) y hojas (6,1%).

Zapata *et al.* (2006) señalan que extractos de esta especie ricos en saponinas han resultado efectivos para controlar enfermedades de plantas y larvas de dípteros. Apablaza *et al.* (2002) han experimentado con estos extractos sobre oídios de cucurbitáceas (*Erysiphe cichoracearum* y *Sphaerotheca fuliginea*) en plantas como pepino de ensalada (*Cucumis sativus* L.) y zapallo de guarda (*Cucurbita máxima* Duch.), indicando que quillay es una planta con actividad antifúngica. Por otro lado, Pelah *et al.* (2002) señalan que este árbol posee actividad insecticida en larvas de las especies *Aedes aegypti* y *Culex pipiens*.

Dicho lo anterior, se tiene como objetivo general evaluar el efecto biocida de extractos de hojas de *Peumus boldus* y *Quillaja saponaria* sobre dos hongos de pudrición de la madera y la termita subterránea.

Como objetivos específicos se plantea determinar el efecto fungicida de los extractos sobre los hongos de pudrición de la madera *Gloeophyllum trabeum* (pudrición café) y *Trametes versicolor* (pudrición blanca) en probetas de *Pinus radiata* D. Don y, por otra parte, evaluar la capacidad insecticida de estos extractos sobre *Reticulitermes flavipes*.

2. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Material

2.1.1 Material vegetal

El material vegetal utilizado en este estudio correspondió a hojas de *Peumus boldus* y *Quillaja saponaria* colectadas en el Campus Antumapu de la Universidad de Chile (UTM 19 H 348534.85 m E 6284417.02 m S), entre los meses de junio y agosto de 2014 (Vogel *et al.*, 1997; 1999).

2.1.2 Material biótico

El material animal empleado en este estudio correspondió a individuos de *Reticulitermes flavipes* colectados en la comuna de Santiago Centro entre los meses de junio y septiembre de 2014, mientras que el material fúngico fue micelio, obtenido a partir de placas Petri, de los hongos *Gloeophyllum trabeum* y *Trametes versicolor*, proporcionados por la Micoteca del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación, del Departamento de Ingeniería en Maderas y sus Biomateriales, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, Santiago.

2.2 Método

2.2.1 Recolección y preparación del material vegetal

La recolección del material vegetal se realizó dentro del Campus Antumapu de la Universidad de Chile. Se tomaron hojas al azar de distintos lugares de la copa (1 kg aproximado por especie), y de al menos tres ejemplares distintos de cada especie vegetal para evitar cualquier efecto indeseado en la muestra y que haya sido provocado por algún agente nocivo (fertilizante, fungicida, insecticida químico, etc.).

La obtención de los extractos se llevó a cabo en el Laboratorio de Biodeterioro y Preservación. Las hojas de *P. boldus* y *Q. saponaria* fueron secadas en una estufa de aire forzado (Memmert® 854) a 37°C hasta que se obtuvo un peso constante. Luego, se trituraron en un mortero de forma manual. Cabe destacar que cada extracto fue independiente entre especies, es decir, hubo un extracto de boldo y otro de quillay. El material obtenido (polvo) se mezcló con dos tipos de disolventes, agua destilada y etanol (96°), en cantidades variables de modo de obtener una solución con la mayor concentración posible. Las soluciones obtenidas se agitaron mecánicamente a 120 rpm por un período de 18 horas. Durante la primera hora las soluciones se calentaron a 37°C y el resto del tiempo se mantuvieron a temperatura ambiente. Posteriormente fueron llevadas a una centrífuga a 1.500 rpm por un periodo de 15 minutos para filtrar la parte más líquida (sobrenadante). Una vez terminada esta etapa, se filtró nuevamente la parte líquida de la solución para obtener el extracto

base. Las filtraciones se efectuaron empleando un embudo Büchner, matraz Kitasato, papel filtro N°19,0CM (ADVANTEC MFS ®) y una bomba de vacío. La concentración del extracto base se calculó llevando a sequedad una fracción de la solución, y por diferencia de peso se determinaron los sólidos solubles. Finalmente, cuando se obtuvo la concentración a la que se encontraba la solución, se prepararon los extractos mediante dilución para las distintas concentraciones que se utilizaron en los tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentraciones (sólidos totales en % p/v) según especie y disolvente para los ensayos de efecto biocida.

Especie	Disolvente	Sólidos totales (% p/v)		
Boldo	Agua	1	2	3
	Etanol	1	2	4
Quillay	Agua	1	3	6
	Etanol	1	2	4

Preliminarmente se ensayaron distintas concentraciones, seleccionándose tres de ellas bajo el criterio de rango de mortalidad, entre un 25 y 75%, para poder aplicar el análisis Probit (Robertson *et al.*, 1984).

2.2.2 Recolección y mantención de agentes bióticos

Los hongos que se utilizaron para este estudio fueron facilitados por la Micoteca del Laboratorio de Biodeterioro y Preservación como se mencionó anteriormente. Las placas madres de las cuales se tomaron las muestras para los cultivos de este ensayo se mantuvieron refrigeradas a una temperatura de 5°C y una humedad relativa aproximada al 70%.

En el caso de las termitas, se colectaron ejemplares de éstas las que se trasladaron al Laboratorio de Entomología Forestal, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, en Santiago. Las colonias se mantuvieron durante el tiempo de duración del estudio en contenedores de vidrio con tierra en su base y madera como alimento, en oscuridad y llevando un registro de temperatura y humedad. La temperatura se mantuvo cercana a los 23°C +/- 2°C y la humedad ambiental entre 35-45%, adicionando periódicamente agua destilada para mantener la humedad en el rango preestablecido.

2.2.3 Bioensayos

2.2.3.1 Hongos de pudrición

Para este bioensayo se utilizó sólo disolvente acuoso para la elaboración de los extractos. Esto se debe a que el etanol es un disolvente de alta volatilidad que no permitiría una buena fijación del extracto en las probetas, por lo que no tendría efecto permanente sobre el hongo (Silva, 2015)¹.

Este bioensayo se realizó sobre la base de la norma ASTM D1413-07 (2008) en el Laboratorio de Biodeterioro y Preservación.

Se impregnaron probetas cúbicas (bloques) de madera de *Pinus radiata*, de 19 mm de arista (6,9 cm³ cada probeta) con tres concentraciones de extractos (quillay y boldo) en un disolvente (agua), realizándose diez réplicas para cada concentración y para cada especie de hongo (120 probetas). Cabe mencionar que los materiales, tales como instrumental, frascos, probetas, placas alimentadoras (*feeder strips*), medio de cultivo y extractos fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 30 minutos antes de montar los bioensayos. Además, se usaron 20 probetas adicionales que fueron las probetas testigos, 10 para cada hongo de prueba.

Inicialmente, las probetas fueron secadas en una estufa a 105°C por aproximadamente 24 horas hasta peso constante. Luego se pesaron para obtener el peso seco, que para efectos de cálculos del bioensayo corresponde a T₁.

Luego, las probetas fueron sometidas a un proceso de impregnación con el extracto hasta obtener incrementos de peso entre un 80 y 100% del peso inicial. Para esto, primeramente se colocaron en un desecador conectado a una bomba de vacío (Gast Manufacturing Inc. Modelo DOA-P504-BN, EE.UU.) durante 30 minutos para extraer el agua remanente. Luego se abrió el acceso de la cámara que contenía el extracto, el que fue introducido por presión (2,0 kg/cm²) a las probetas, durante aproximadamente 30 minutos. Posterior a esto, se dejaron reposar en una sala estéril durante dos días para que eliminaran el exceso de extracto y, transcurrido este tiempo, se pesaron ya con el extracto impregnado; este peso se denominó T₂.

Se calculó la retención del extracto en la probeta como gramos de soluto introducida por centímetro cúbico de madera, utilizando la siguiente relación:

$$\text{Retención [g/cm}^3\text{]} = (\text{GC/V}) \times 100$$

¹ Comunicación personal con el Ingeniero Forestal Ricardo Silva Soto. Fecha de consulta: 23 de diciembre de 2015

Donde “G” es la diferencia de peso de T_2-T_1 , la cual indica los gramos de solución absorbida por la probeta, “C” son los gramos de extracto en 100 g de la solución y “V” es el volumen de la probeta en cm^3 .

Realizado lo anterior, se procedió a dejar las probetas en condiciones ambientales en el Laboratorio de Biodeterioro y Preservación por un período de 48 a 72 horas. Pasado este tiempo, se incorporaron en los frascos de vidrio en los cuales se montó el bioensayo.

Paralelamente a lo anterior, se prepararon los frascos de una capacidad de 1000 ml con un suelo que consistió en una mezcla de tierra de hoja y tierra de vivero en proporción 3:7, respectivamente, ocupando un volumen cercano a un tercio del frasco. Este suelo tenía una capacidad de retención de agua del 40%, con un pH entre 5,0 y 8,0 y un peso superior a $90\text{g}/120\text{ cm}^3$. Los frascos, con el suelo ya preparado e introducido en ellos, fueron esterilizados a 121°C durante 30 minutos en la autoclave.

El medio de cultivo para los hongos correspondió a agar-malta al 3% p/v, es decir, una proporción de 3 g de agar-agar y 3 g de extracto de malta, diluidos en 100 ml de agua destilada. Primero, el agar-agar se disolvió en 1.400 ml de agua caliente contenida en un vaso de precipitado empleando un mechero Bunsen. A continuación, y manteniendo la disolución en constante agitación se agregó el extracto de malta. Esta disolución fue trasladada a la sala de inoculación y se vertió en placas Petri, donde se dejó enfriar hasta que el medio solidificara. Una vez listas las placas con el medio, éstas fueron esterilizadas en la autoclave a 121°C durante media hora. Transcurrido este tiempo, se trasladaron nuevamente a la sala de inoculación para proceder a la inoculación de los hongos.

A partir de las placas madre que contenían los hongos, se cortaron cuadrados de aproximadamente 1 cm de lado conteniendo el micelio, ubicándose en el centro de las placas con el medio de cultivo previamente preparado. Cumplida esta etapa, las placas se sellaron con papel “parafilm” y se llevaron a la cámara de cultivo a 27°C por aproximadamente 10 días. Una vez que los hongos colonizaron el medio de cultivo en aproximadamente un 95%, se introdujeron las placas alimentadoras (*Feeder Strips*). Estas últimas, al igual que las probetas de ensayo (*Test Blocks*), correspondieron a madera de pino radiata, y su función es servir de medio de contacto y propagación del hongo a la probeta. Las placas alimentadoras se ubicaron dentro de las placas Petri con el hongo crecido y fueron llevadas a la cámara de incubación, esperándose el tiempo necesario para que fueran colonizadas por el hongo.

El último paso del montaje del bioensayo fue la introducción de las placas alimentadoras y de las probetas en los frascos. Esto se realizó colocando las placas alimentadoras en contacto directo con el suelo contenido en los frascos (humedad previamente explicada), y sobre ellas las probetas de ensayo. Ubicadas las probetas sobre las placas alimentadoras se cerraron los frascos con sus tapas, sin apretarlas, esto con el fin de permitir la entrada de oxígeno. La duración del bioensayo, es decir, el tiempo de permanencia de los frascos en la cámara de incubación fue de 12 semanas, sin ninguna intervención o medición durante este periodo, tal como estipula la norma empleada mencionada previamente.

Al final del período del bioensayo, las probetas fueron retiradas de los frascos de cultivo y se cepillaron cuidadosamente para remover el micelio. Realizado lo anterior, se procedió a pesar las probetas inmediatamente (T_3). Luego se pusieron los bloques sobre bandejas en la estufa a 105°C hasta que alcanzaron un peso constante (aproximadamente durante 24 h). Finalmente, las probetas se pesaron nuevamente y se obtuvo T_4 .

Para determinar la pérdida de peso de las probetas se empleó la siguiente relación:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = (100 \times (T_3 - T_4) / T_3)$$

Donde " T_3 " es el peso de la probeta más el remanente de extracto después de su exposición al ataque del hongo y de haber cepillado el micelio, y " T_4 " es el peso de la probeta seguido de la exposición al hongo y del acondicionamiento final.

Para evaluar el efecto fungicida se utilizó el método descrito en la norma ASTM D: 1413-07 (2008), el cual aborda tres aspectos:

- **Umbral de retención:** Determinación de la mínima concentración de extracto que es efectivo en la prevención significativa de la pérdida de peso, bajo condiciones particulares de la prueba, para un hongo dado. Esta concentración de preservante, en términos de kilogramos por metro cúbico (kg/m^3) o libras por pie cúbico (lb/ft^3) de madera, es denominada "umbral de retención". El umbral es determinado por la inspección visual y por la estimación del punto en el cual la pérdida de peso causada por decaimiento no ocurre.

- **Evidencia visual de decaimiento:** Examen de los bloques después de que hayan sido acondicionados y pesados hasta el fin del ensayo. Distorsión, contracción y ablandamiento de los bloques podría considerarse como evidencia de deterioro. Las anomalías se hacen más notorias generalmente en los bloques con las retenciones inferiores de preservante, pero se vuelven progresivamente menos evidentes con retenciones más altas, hasta que ya no son evidentes. La inspección visual no se debe confiar en el decaimiento, ya que a veces no es fácilmente visto, especialmente cerca del umbral de retención.

- **Uso de porcentajes de pérdida de peso:** Cuando las pérdidas de peso en las probetas muestran un aumento, y éste es progresivo como las disminuciones del extracto, además de cualquier pérdida operacional, es efectivo. El valor de umbral es entonces considerado para ser la retención media en la cual esta transición en la pérdida de peso es indicada. Un leve deterioro superficial que no es progresivo puede ser mostrado por los bloques en que las retenciones están un poco por encima del umbral. En tales casos no se consideran pérdidas de decaimiento, sino que conducen a la determinación del umbral a ocurrir hasta que haya un aumento definitivo de las pérdidas de peso por encima de aquellos relativamente bajos que resultan de la descomposición superficial.

El diseño experimental empleado correspondió a un ensayo unifactorial completamente aleatorizado, donde la variable de entrada (factor) fue la concentración de extracto (tres niveles), y

la variable respuesta fue el porcentaje de pérdida de peso de las probetas. Este modelo fue aplicado en forma independiente para cada hongo y extracto de especie vegetal, por lo que los análisis se hicieron por separado comparando las pérdidas de peso de los testigos con aquellas obtenidas de la aplicación de las diferentes concentraciones de extracto en cada tratamiento. Cabe destacar que los hongos empleados corresponden a dos de los listados como utilizables en la norma ya referida.

2.2.3.2 Termita subterránea

Este bioensayo consistió en exponer a las termitas a los extractos de hojas de boldo y quillay por separado, los cuales se ensayaron en las tres concentraciones ya indicadas previamente en el Cuadro 1, y dos disolventes, con cinco réplicas para cada prueba. La aplicación del extracto para ambas pruebas fue por inmersión y posterior aireación durante 30 minutos.

Para evaluar el efecto insecticida se utilizó el método descrito por Blaske y Hertel (2001):

1. **Prueba de exposición indirecta:** Durante la prueba de exposición indirecta, el disco de papel filtro de 2 cm de diámetro con el extracto aplicado se adjuntó a la tapa de la placa Petri, por lo que a lo largo del experimento los individuos de *R. flavipes* no tuvieron contacto directo con él. En la parte inferior de la placa Petri se adjuntó un disco de papel filtro no tratado (sólo humedecido con agua destilada) de 5 cm de diámetro para proveer de alimentación y suministro de agua a los individuos de *R. flavipes* que se introdujeron. Los extractos fueron ensayados en tres concentraciones de la solución madre.

Se evaluaron tres tratamientos de control o testigo: control con disco de papel filtro humedecido con agua, control con disco de papel filtro humectado con etanol y control de inanición con 3 g de arena humedecida con agua destilada en la parte inferior de la cápsula Petri en lugar del disco de papel filtro. Se realizaron cinco réplicas para las unidades de tratamiento y de control. Este experimento se llevó a cabo en alrededor de 15 d, calculando la mortalidad por día.

2. **Prueba de exposición directa:** Se colocó en la parte inferior de la placa Petri un disco de papel filtro de 3 cm de diámetro con extracto y humedecido con agua destilada, y se introdujeron 10 obreras de *R. flavipes*. Los extractos fueron ensayados en tres concentraciones de la solución madre.

Al igual que en la prueba de exposición indirecta, se evaluaron tres tratamientos control o testigo: control con disco de papel filtro humedecido con agua, control con disco de papel filtro tratado con etanol y control de inanición con 3 g de arena humedecida con agua destilada en la parte inferior de la cápsula Petri en lugar del disco de papel filtro. Se realizaron cinco réplicas para las unidades de tratamiento y de control. Este experimento fue llevado a cabo en alrededor de 12 d calculando la mortalidad por día.

Se calcularon los porcentajes de mortalidad promedio y sus respectivos errores típicos (ET). Éstos se normalizaron mediante grados Bliss ($\arccoseno\sqrt{X}$ (Nº de obreras muertas/100)) para cumplir los

supuestos de homocedasticidad y normalidad de las pruebas paramétricas. Se hicieron análisis de varianza (ANDEVA) de un factor (concentración) para los extractos etanólico y acuoso por separado considerando la especie vegetal, y pruebas de Tukey para comparaciones múltiples de medias cuando se encontraron diferencias significativas, utilizando el programa SPSS Statistics 22.0 (2014). Los porcentajes de mortalidad total se corrigieron con la fórmula de Abbott (1925) $MC = [(X-Y)/(100-Y)]*100$ para no sobredimensionar el efecto real de cada tratamiento, eliminando la mortalidad natural (Silva *et al.*, 2003), donde MC es la mortalidad corregida, X la mortalidad del tratamiento e Y la mortalidad del testigo.

Además, los resultados se ajustaron mediante funciones matemáticas para identificar la regresión con mejor ajuste y determinar la concentración (CL_{50}) y el tiempo (TL_{50}) letales medios para eliminar al 50% de la población, mediante análisis Probit. El ajuste de este modelo se verificó con pruebas de χ^2 (Chi²).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de la capacidad fungicida

3.1.1 Capacidad fungicida de extractos de hojas de *P. boldus*

3.1.1.1 Efecto fungicida sobre *Gloeophyllum trabeum*

El análisis unifactorial para la pérdida de peso en los diferentes tratamientos (concentraciones), incluido el testigo, no indicó diferencias estadísticamente significativas ($F_{3, 16} = 0,554$; $p \leq 0,05$). Sin embargo, numéricamente se puede observar que la concentración máxima del extracto (3% p/v) tuvo un leve efecto fungicida sobre *G. trabeum* alcanzando una pérdida de peso promedio de 19,04%, mientras que el tratamiento testigo presentó una pérdida de peso promedio de 22,25%. Las concentraciones 1 y 2% p/v permitieron una pérdida de peso promedio similar entre ellas, por lo que se puede inferir que éstas no tienen mayor diferencia en su efecto fungicida. Además, la pérdida de peso promedio de la concentración más baja sólo varía en un 1% con respecto a la testigo, por lo que se puede concluir que aquella concentración tiene un efecto fungicida casi nulo (Cuadro 2, Apéndice I).

Cuadro 2. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de hojas de *P. boldus* posterior al ataque de *G. trabeum*

Concentración (% p/v)	Pérdida de peso promedio (%)
Testigo	22,25
1	21,25
2	21,05
3	19,04

No existen estudios anteriores que hayan evaluado el efecto fungicida de los extractos de hojas de *P. boldus* sobre *G. trabeum*. Sin embargo, Bittner *et al.* (2009), realizaron ensayos de actividad biológica para evaluar la capacidad fungistática de aceites esenciales de diversas especies del bosque nativo de Chile durante 21 d (días), entre ellas el boldo. Las especies fúngicas sobre las cuales se evaluó este efecto fueron *Rhizoctonia solani*, *Pythium irregulare*, *Ceratocystis pilifera*, *Phragmidium violaceum* y *Fusarium oxysporum*. Las concentraciones empleadas fueron diluciones del aceite esencial al 30, 50 y 100%, con las cuales se impregnaron discos de papel filtro en cápsulas Petri; la actividad fungistática se evaluó a través de la medición del halo del hongo del testigo y, posteriormente, comparada con los resultados obtenidos en los ensayos que fueron sometidos a algún tratamiento (concentración). Los resultados obtenidos indican que los aceites esenciales de boldo fueron poco efectivos sobre *P. irregulare* inhibiendo su crecimiento sólo un 19%, mientras que el más alto fue sobre *P. violaceum* inhibiendo su crecimiento en un 45%.

Por otra parte, Vargas y Encinas (2003) evaluaron la actividad fungicida de los extractos de corteza de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* sobre *G. trabeum*. La actividad antifúngica de los extractos, en disolventes como etanol, tolueno, benceno, acetona y metanol, a concentraciones de 10, 5, 2, 1, 0,5

y 0,2% p/v, fue efectiva hasta en su concentración más baja, provocando más de un 70% de inhibición de crecimiento con el disolvente acetona.

Considerando las dos experiencias expuestas, se puede decir que los resultados obtenidos en el presente estudio indican que las concentraciones utilizadas no han sido las ideales debido a que son muy bajas; o bien, *P. boldus* no tiene potencial fungicida sobre *G. trabeum*.

Existe evidencia visual de ataque fúngico por la separación entre anillos de crecimiento, lo cual indica que el hongo penetró por los radios leñosos. Además, se observa separación fibrilar en las caras de la probeta (Figura 1).

El umbral de retención, estimado a partir de la línea de tendencia derivada de los datos obtenidos en el ensayo, fue de 9,9% p/v, lo cual indica que ésta sería la concentración a la cual se detiene la pérdida de peso por acción fúngica.



Figura 1. Evidencia visual de decaimiento por acción de *G. trabeum* sobre probetas de pino radiata en tratamiento con extracto de hojas de *P. boldus*.

3.1.1.2 Efecto fungicida sobre *Trametes versicolor*

El análisis unifactorial para la pérdida de peso de los tratamientos y su testigo no mostró diferencias estadísticamente significativas ($F_{3, 16} = 0,946$; $p \leq 0,05$). Sin embargo, numéricamente se puede observar que la concentración máxima del extracto (3% p/v) tuvo un efecto fungicida levemente mayor sobre *T. versicolor* que sobre *G. trabeum*, alcanzando una pérdida de peso promedio de 19,3%, mientras que el tratamiento testigo presentó una pérdida de peso promedio de 26,98% (Cuadro 3, Apéndice II).

Se observó una tendencia de relación directa entre la concentración y la pérdida de peso para todos los tratamientos, con un aumento poco significativo como respuesta a una mayor concentración del extracto (Cuadro 3).

Cuadro 3. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de hojas de *P. boldus* posterior al ataque de *T. versicolor*.

Concentración (% p/v)	Pérdida de peso promedio (%)
Testigo	26,98
1	24,56
2	22,38
3	19,3

No se registran estudios anteriores que hayan evaluado el efecto fungicida de los extractos de hojas de *P. boldus* sobre *T. versicolor*. Sin embargo, Vargas y Encinas (2003) evaluaron la actividad fungicida de los extractos de corteza de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* sobre *T. versicolor*. La actividad antifúngica de los extractos, en disolventes como etanol, tolueno, benceno, acetona y metanol, a concentraciones de 10, 5, 2, 1, 0,5 y 0,2% p/v, fue efectiva hasta en su concentración más baja, provocando más de un 65% de inhibición de crecimiento con el benceno como disolvente.

Probablemente los resultados del presente ensayo no fueron los esperados, debido a las bajas concentraciones utilizadas. Para efecto de ensayos posteriores, se propone considerar la utilización de concentraciones superiores que pueden ser obtenidas mediante la diferenciación de hojas nuevas y maduras.

Con respecto a la evidencia visual de decaimiento, las probetas sometidas al ataque de *T. versicolor* presentaron patrones similares de degradación a las atacadas por *G. trabeum* (Figura 1).

El umbral de retención, estimado a partir de la línea de tendencia resultante de la gráfica de los datos obtenidos en el ensayo, indicó que para una concentración mayor al 100% p/v recién se lograría que la pérdida de peso consecuencia del ataque fúngico fuera nula, ya que con el 100% p/v, la pérdida de peso promedio sería de 3,28%. Este resultado implica que, dado que es imposible concentrar este extracto a un valor superior al 100% p/v, debería trabajarse con un extracto base de mayor concentración (mayor cantidad de sólidos solubles) que el conseguido en este estudio, lo que posiblemente podría lograrse modificando el método de extracción en estudios posteriores.

3.1.2 Capacidad fungicida de extractos de hojas de *Q. saponaria*

3.1.2.1 Efecto fungicida sobre *Gloephyllum trabeum*

El análisis unifactorial para la pérdida de peso obtenida en los diferentes tratamientos, incluido el testigo, no indicó diferencias estadísticamente significativas ($F_{3, 16} = 0,615$; $p \leq 0,05$). Sin embargo, en el Cuadro 4 se puede observar que la concentración máxima del extracto (6% p/v) tuvo cierto efecto fungicida sobre *G. trabeum*, ya que produjo una disminución en la pérdida de peso promedio (18,71%) si se compara con la del testigo (22,25%). A pesar de que la concentración intermedia (3% p/v) es la mitad de la más alta, la diferencia entre las pérdidas de peso promedio no es significativa, variando aproximadamente en un 1% (Cuadro 4, Apéndice III).

Se apreció una relación directa entre la concentración y la pérdida de peso promedio para todos los tratamientos, a pesar que estadísticamente no se registró una diferencia significativa.

Cuadro 4. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de *Q. saponaria* posterior al ataque de *G. trabeum*.

Concentración (% p/v)	Pérdida de peso promedio (%)
Testigo	22,25
1	21,19
3	19,57
6	18,71

No se encuentran estudios anteriores que hayan evaluado el efecto fungicida de hojas de *Q. saponaria* sobre *G. trabeum*. Sin embargo, Sandoval (2006) evaluó el efecto fungicida y fungistático de polvos obtenidos de hojas y corteza de *Q. saponaria* sobre *Botrytis cinerea* en concentraciones de 500, 1.000, 2.000 y 4.000 ppm con Agar Papa Dextrosa (APD). Los resultados obtenidos indicaron que *Q. saponaria* presentaba actividad fungistática sobre *B. cinerea*, pero no fungicida. A partir de la concentración de 1.000 ppm, en el caso de los polvos de hojas de quillay, se logró un efecto fungistático importante, mientras que para los polvos de corteza de quillay, las cuatro concentraciones evaluadas tuvieron un alto efecto inhibitorio sobre el crecimiento del hongo. Aun así, Sandoval (2006) considera que este efecto fue relativamente bajo (17%) en comparación a los resultados de otros autores, quienes obtuvieron valores cercanos al 25% o superiores para otros hongos tales como *Aspergillus flavus* (Montes *et al.*, 1997) y *Fusarium moniliforme* (Bravo *et al.*, 2000).

Bajo este criterio, *Q. saponaria* no podría considerarse una especie con potencial fungicida importante sobre *G. trabeum*. Por lo anterior se considera que, al igual que en el caso de boldo, las concentraciones de extracto de hojas de quillay utilizadas en este ensayo fueron bajas, razón por la cual se recomienda que, para estudios posteriores que busquen lograr el efecto fungicida de quillay sobre *Gloeophyllum trabeum* u otro hongo, se utilicen concentraciones más altas que las empleadas en el presente estudio, sin descartar análisis químicos que permitan detectar los componentes del extracto de mayor efecto fungicida, tema que no constituye el objetivo del presente trabajo.

Con respecto a la evidencia visual de decaimiento por efecto del ataque fúngico, se puede observar en la Figura 2 que el mecanismo de penetración del hongo fue a través de los radios leñosos, provocando la separación fibrilar y entre los anillos de crecimiento. La consistencia de la probeta dejó en evidencia la facilidad para quitar partes de ella sin mayor esfuerzo.

El umbral de retención, estimado a partir de la línea de tendencia resultante de la gráfica de los datos obtenidos en el ensayo indicó que para una concentración infinita o mayor al 100% p/v recién se lograría que la pérdida de peso consecuencia del ataque fúngico fuera nula, ya que con el 100% p/v, la pérdida de peso promedio sería de 10,58%. Este resultado implica que, dado que es imposible concentrar este extracto a un valor superior al 100% p/v, debería trabajarse con un extracto base de mayor concentración (mayor cantidad de sólidos solubles) que el conseguido en este estudio, lo que posiblemente podría lograrse modificando el método de extracción en estudios posteriores.



Figura 2. Evidencia visual de decaimiento por ataque de *G. trabeum* sobre probetas de pino radiata bajo tratamiento con extractos de hojas de *Q. saponaria*.

3.1.2.2 Efecto fungicida sobre *Trametes versicolor*

El análisis unifactorial para la pérdida de peso obtenida en los diferentes tratamientos, incluido el testigo, no indicó diferencias estadísticamente significativas ($F_{3, 16} = 2,093$; $p \leq 0,05$). Sin embargo, la concentración máxima del extracto (6% p/v) disminuyó la pérdida de peso promedio a un 10,22% en comparación con la del testigo (26,98%). Este resultado es el más relevante en términos de disminución en la pérdida de peso promedio en comparación con los anteriores, por lo que podría considerarse el más promisorio. En base a lo anterior, es importante mencionar que, para estudios posteriores de esta índole, la concentración a utilizar debiese ser superior a las utilizadas en el presente estudio (Cuadro 5, Apéndice IV).

Se observó una relación directa entre la concentración y la pérdida de peso promedio para todos los tratamientos, a pesar de que estadísticamente no se registró una diferencia significativa.

Cuadro 5. Pérdida de peso promedio (%) de las probetas tratadas con extracto acuoso de *Q. saponaria* posterior al ataque de *T. versicolor*.

Concentración (% p/v)	Pérdida de peso promedio (%)
Testigo	26,98
1	21,58
3	17,59
6	10,22

No existen estudios anteriores que hayan evaluado la capacidad fungicida de hojas de *Q. saponaria* sobre *Trametes versicolor*. Sin embargo, Ribera *et al.* (2008) experimentaron con extractos acuosos y etanólicos de brotes *in vitro* de *Q. saponaria* sobre *B. cinerea* obteniendo resultados interesantes, ya que ambos extractos provocaron una reducción en la germinación conoidal y en el crecimiento

micelial del hongo, siendo más efectivo el extracto etanólico. Las concentraciones utilizadas fueron 0,5, 1 y 1,5% p/v. Los resultados obtenidos por el autor anteriormente mencionado, podrían explicarse por la concentración de aceites esenciales y otras sustancias que poseen los brotes de quillay en comparación con las hojas de este.

Apablaza *et al.* (2002) evaluaron el efecto fungicida de las saponinas de quillay contenidas en extractos naturales en diferentes proporciones sobre *Erysiphe cichoracearum* y *Sphaerotheca fuliginea*. Las dosis con las que trabajaron fueron 784,761, 392 y 380 ppm de saponinas obteniendo resultados significativos con la concentración más alta, logrando reducir la aparición de los hongos en un 38%, mientras que, para la concentración de 761 ppm, tal reducción disminuyó a sólo un 16%, sin presentar diferencias significativas con el testigo. En el caso de los ensayos de ataque de los hongos sobre el zapallo de la guarda (*Cucurbita maxima*), se probó con concentraciones de 1200, 400 y 32 ppm de saponinas, y todos los tratamientos lograron controlar los hongos.

En la Figura 3 se puede apreciar que el ataque de *T. versicolor* fue considerable, ya que cubrió la totalidad de las probetas. La evidencia visual de deterioro de estas probetas fue más notoria que la expuesta en la Figura 1, pero el mecanismo de ataque (colonización inicial a través de los radios leñosos) fue muy similar presentando los mismos patrones de degradación.

El umbral de retención, estimado a partir de la línea de tendencia resultante de la gráfica de los datos obtenidos en el ensayo fue de 12% p/v, lo cual indica que ésta sería la concentración a la cual se detiene la pérdida de peso por acción fúngica. Esta conclusión es de carácter técnico y no considera aspectos económicos, pues estos no constituyen objetivos del estudio.



Figura 3. Probetas con extractos de hojas de *Q. saponaria* bajo ataque fúngico (*T. versicolor*) al final del ensayo.

3.2 Determinación de la capacidad insecticida

3.2.1 Porcentaje de Mortalidad Promedio

3.2.1.1 Prueba de Exposición Indirecta

a. Extractos de hojas de *P. boldus*. El análisis unifactorial entre las mortalidades producto de los tratamientos y sus testigos, tanto con el extracto acuoso ($F_{4, 20} = 6,755$; $p \leq 0,05$) como con el etanólico ($F_{4, 20} = 8,847$; $p \leq 0,05$), indican que tales resultados de mortalidad se debieron al efecto insecticida de los extractos (Cuadro 6, Apéndice V).

Los tratamientos con el extracto acuoso mostraron tendencias similares a aquellos con el extracto etanólico, aunque con los primeros se alcanzó una mortalidad mayor a una menor concentración (Cuadro 6). Lo anterior permite inferir que para la elaboración del extracto acuoso, la cantidad de masa vegetal necesaria sería menor que para la del etanólico.

Además, se verificó una relación directa entre la concentración y la mortalidad en ambos tratamientos, con un aumento significativo como respuesta a una mayor concentración del extracto.

Cuadro 6. Mortalidad (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *P. boldus* en prueba de exposición indirecta, al día 14 de evaluación con extracto acuoso y etanólico.

Concentración (% p/v)	Extracto acuoso	Extracto etanólico
4	-	66 (59) \pm 4,7 b
3	70 (82) \pm 4,6 b	-
2	54 (68) \pm 3,4 ab	56 (47) \pm 3,8 ab
1	47 (60) \pm 6,2 a	48 (38) \pm 2,6 a
Testigo inanición	39 \pm 5,3 a	41 \pm 3,2 a
Testigo agua	34 \pm 6,8 a	-
Testigo etanol	-	41 \pm 3,8 a

Entre paréntesis, mortalidad corregida por Abbott (1925). Letras diferentes en columna indican diferencias significativas entre concentraciones mediante prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

No se documentan estudios precedentes que evalúen el efecto insecticida de *P. boldus* sobre *R. flavipes*, aunque existen algunos trabajos en relación a este insecto en los cuales se han empleado extractos de otras especies vegetales.

Rubio (2014) evaluó el efecto insecticida de frutos verdes de *Melia azedarach* sobre *R. flavipes* bajo el mismo método utilizado en el presente estudio. Sus resultados indicaron que el extracto etanólico en su mayor concentración (15,3% p/v) provocó un 86% de mortalidad, mientras que con el extracto acuoso a la misma concentración se logró una mortalidad de 78%. En su concentración más baja (3,4% p/v), el extracto etanólico logró alcanzar una mortalidad del 62%, mientras que con el acuoso esta fue de 50%.

Los resultados del presente estudio difieren de los obtenidos por Rubio (2014), probablemente debido a la resistencia que tiene la termita frente a ciertas sustancias químicas propias de cada especie vegetal. Además, el extracto más efectivo en el caso del autor antes mencionado fue el etanólico, mientras que en este ensayo fue el acuoso. Esto puede deberse a la interacción entre las sustancias químicas presentes en diferentes partes (fuste, hojas, corteza, ramas o frutos) de las especies vegetales y los disolventes utilizados.

Cabe mencionar que *P. boldus*, en esta prueba, sigue presentando características insecticidas y puede ser considerado un potencial bioinsecticida.

Con respecto a las mortalidades de obreras de *R. flavipes* se puede apreciar en la Figura 4, que a pesar de que se produjo una respuesta más rápida con el extracto etanólico (B) que con el acuoso (A), la mortalidad final alcanzada por este último fue mayor. A partir del día 5 de evaluación, el extracto acuoso en todas sus concentraciones presentó linealidad en sus mortalidades, mientras que las del etanólico tuvieron un aumento progresivo, pero más lento, destacándose principalmente el efecto que tuvo la máxima concentración (4% p/v).

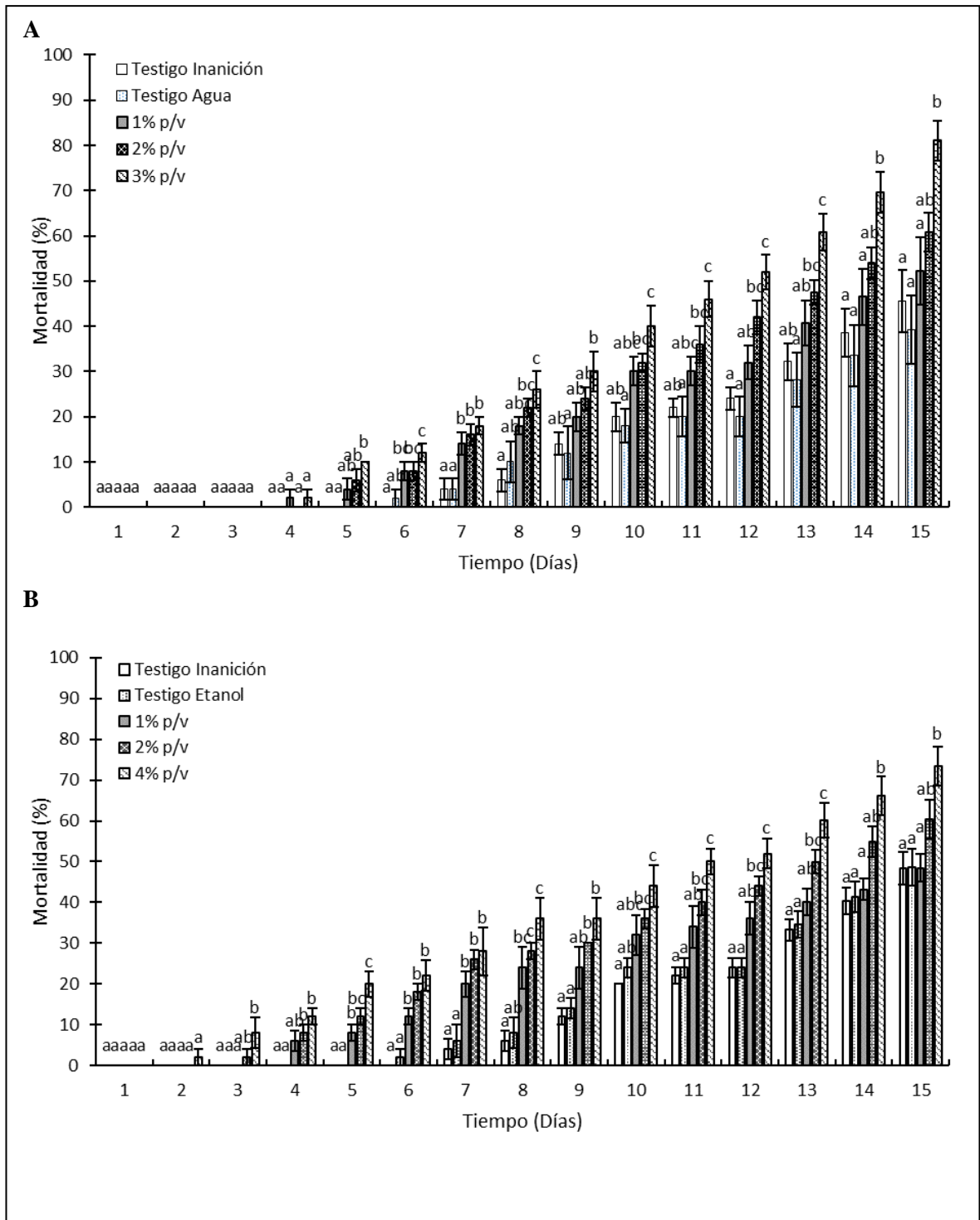


Figura 4. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de la exposición indirecta a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de *P. boldus* en tres concentraciones. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones por día, según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

b. Extractos de hojas de *Q. saponaria*. El análisis unifactorial entre las mortalidades producto de los tratamientos y sus testigos, tanto con el extracto acuoso ($F_{4, 20} = 4,02$; $p \leq 0,05$) como con el etanólico ($F_{4, 20} = 7,26$; $p \leq 0,05$), indican que tales resultados se debieron al efecto insecticida de los extractos (Cuadro 7, Apéndice VI).

Cuadro 7. Mortalidad (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria* en prueba de exposición indirecta, al día 15 de evaluación con extracto acuoso y al día 13 de evaluación con extracto etanólico.

Concentración (% p/v)	Extracto acuoso	Extracto etanólico
6	69 (61) \pm 4,6 b	-
4	-	58 (48) \pm 4,5 b
3	50 (44) \pm 4,1 ab	-
2	-	52 (46) \pm 2,4 b
1	46 (39) \pm 4,6 ab	46 (39) \pm 5,7 ab
Testigo inanición	39 \pm 6,9 ab	33 \pm 2,6 a
Testigo agua	46 \pm 7,6 a	-
Testigo etanol	-	34,5 \pm 3,3 a

Entre paréntesis, mortalidad corregida por Abbott (1925). Letras diferentes en columna indican diferencias significativas entre concentraciones mediante prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

No existen estudios previos que hayan evaluado la capacidad insecticida de *Q. saponaria* sobre *R. flavipes* bajo pruebas de exposición indirecta. Sin embargo, considerando el criterio de Páez *et al.* (1991) y Lagunes-Tejeda y Vásquez-Navarro (1994), el cual indica que el polvo o extracto vegetal que logre una mortalidad igual o superior al 40% es promisorio, los extractos de hojas de quillay presentarían capacidad insecticida y cumplirían con este criterio.

Con respecto a las mortalidades, el extracto acuoso muestra un aumento significativo en su concentración más alta a partir del día 7, mientras que las dos más bajas mantienen un efecto similar hasta el día 12 de evaluación, punto a partir del cual la concentración intermedia (3% p/v) aumenta significativamente la mortalidad (Figura 5A).

En el caso del extracto etanólico, el tratamiento a una concentración del 4% p/v se diferencia significativamente de los otros tratamientos, y de manera constante a partir del día 8 de evaluación, mientras que los otros dos tratamientos presentaron mortalidades similares hasta el día 10 de evaluación, momento en el cual el tratamiento al 2% p/v se diferenció estadísticamente de aquel al 1% p/v (Figura 5B).

Según Sfeir (1990), la mayor proporción de saponina se encuentra en la corteza (11,6%) y la menor, en las hojas (6,1%), por lo que se puede inferir que este triterpeno tan característico del quillay, no es precisamente el que tendría un efecto insecticida, sino que sería posiblemente otro metabolito presente en esta especie.

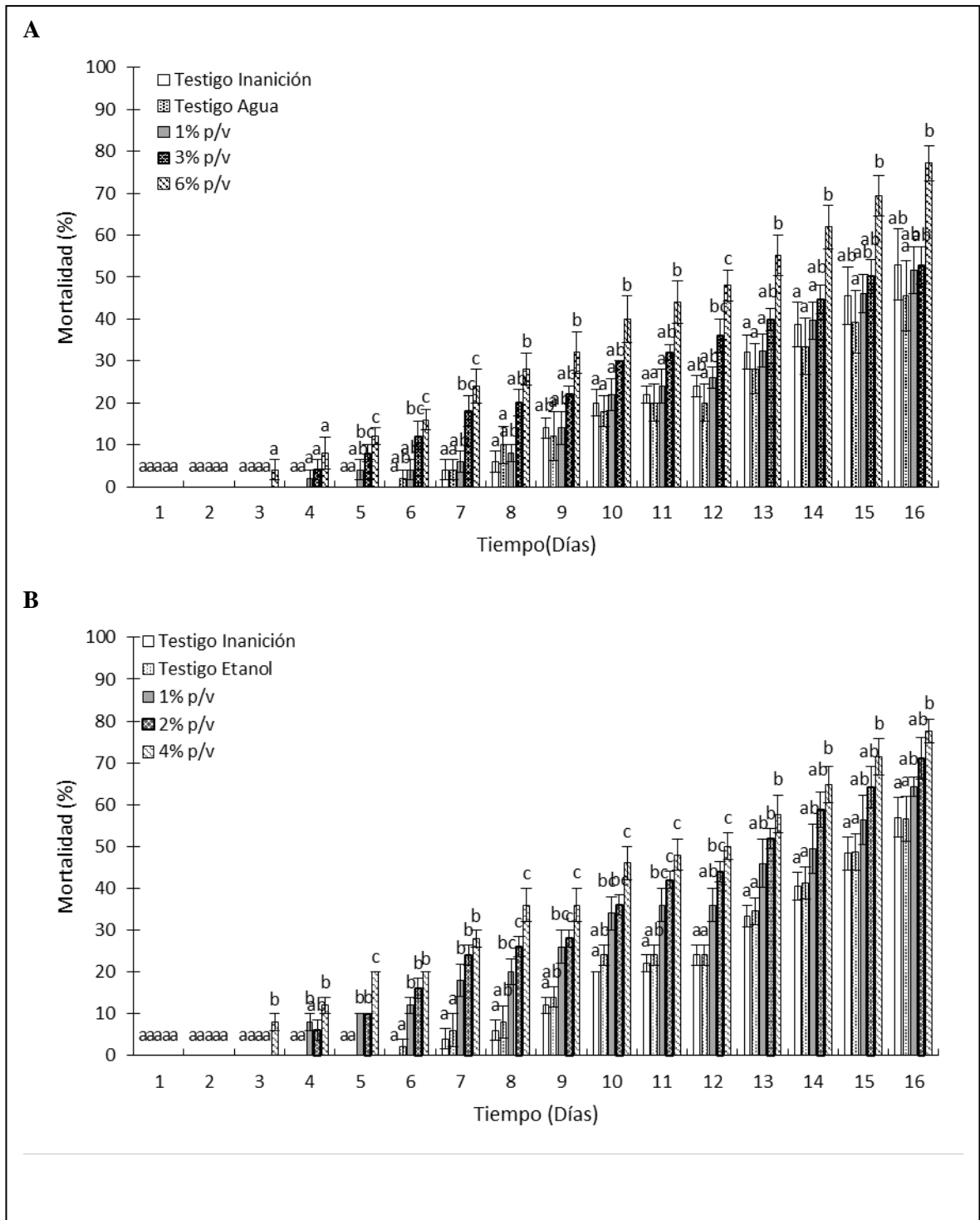


Figura 5. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de la exposición indirecta a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de *Q. saponaria* en tres concentraciones. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones por día, según pruebas de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2.1.2 Prueba de Exposición Directa

a. Extractos de hojas de *P. boldus*. El análisis unifactorial entre mortalidades producto de los tratamientos y sus testigos detectó diferencias estadísticamente significativas tanto con el extracto acuoso ($F_{4, 20} = 33,456$; $p \leq 0,05$) como con el etanólico ($F_{4, 20} = 18,691$; $p \leq 0,05$), indicando que los resultados de mortalidad se debieron al efecto del extracto insecticida (Cuadro 8, Apéndice VII).

Se observó una relación directa entre la concentración y la mortalidad para ambos tratamientos, con un aumento significativo de esta última como respuesta a una mayor concentración del extracto.

Cuadro 8. Mortalidad (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *P. boldus* en prueba de exposición directa, al día 11 de evaluación con extracto acuoso y al día 14 de evaluación con extracto etanólico.

Concentración (% p/v)	Extracto acuoso	Extracto etanólico
4	-	72 (67) \pm 2 d
3	82 (76) \pm 3,7 c	-
2	62 (51) \pm 7,4 b	58 (50) \pm 3,7 c
1	52 (38) \pm 5,1 b	42 (31) \pm 2 b
Testigo inanición	22 \pm 2 a	16 \pm 2,5 a
Testigo agua	22 \pm 2 a	-
Testigo etanol	-	16 \pm 2,5 a

Entre paréntesis, mortalidad corregida por Abbott (1925). Letras diferentes en columna indican diferencias significativas entre concentraciones mediante prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

No se registran estudios anteriores que hayan evaluado el efecto insecticida de los extractos de hojas de *P. boldus* sobre *R. flavipes*. Sin embargo, diversos autores han demostrado el efecto insecticida de *P. boldus*, ya sea como polvos o extractos de otras partes del árbol.

Pizarro (2007) señala que, en ensayos de exposición directa de polvos de *P. boldus* sobre adultos de *Sitophilus zeamais*, a concentraciones de 1 y 2% p/p, obtuvo mortalidades de 80,8 y 97,5%, respectivamente. Esto respalda los resultados de mortalidad obtenidos en el presente estudio con ambos disolventes. A pesar de que el extracto acuoso produjo mayor mortalidad que el extracto etanólico (Cuadro 8), ambos pueden considerarse prometedores para el control de insectos de acuerdo al criterio de Páez *et al.* (1990) y Lagunes-Tejeda y Vásquez-Navarro (1994).

En el caso de la exposición a aceites esenciales de *P. boldus* sobre *S. zeamais*, con las concentraciones 2 y 4% v/v se lograron mortalidades superiores al 40% a las 24, 48 y 72 h, mientras que con la concentración de 1% v/v, solo a las 72 h se logró una mortalidad superior al 40% (Pizarro, 2007).

Por otra parte, Silva (2010) señala que el polvo de *P. boldus* incorporado a la dieta artificial de *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea*, en concentraciones de 8% p/p, produjo una mortalidad de 65% y 67,5% respectivamente. En el caso de *H. zea*, no hubo diferencias significativas entre la mortalidad provocada por las concentraciones de 4 y 8% p/p, aunque la de 8% p/p fue

significativamente diferente del resto de las concentraciones evaluadas. En el estudio también se ensayaron concentraciones $\leq 2\%$ p/p, las cuales no provocaron una mortalidad mayor al 40%.

Zapata *et al.* (2006) indican que las hojas de *P. boldus* en la dieta de *Spodoptera littoralis*, en concentraciones de 1% p/p, provocaron una mortalidad cercana al 25% a 12 d del inicio de su ensayo, mientras que con concentraciones de 4% p/p la mortalidad alcanzada fue cercana al 60% en la misma cantidad de días. En el presente estudio, la mortalidad obtenida en este tiempo, a una concentración del 3% p/v con el extracto acuoso, es superior al 95%, mientras que con el extracto etanólico y a la misma concentración, la mortalidad supera el 70%. En el caso de la concentración más baja utilizada en el presente estudio (1% p/v), las mortalidades con el extracto acuoso y etanólico a los 12 d son cercanas al 50 y 45%, respectivamente (Figura 6).

Rubio (2014) experimentó con extractos acuosos y etanólicos de frutos verdes de *Melia azedarach* sobre *R. flavipes*, obteniendo la mayor mortalidad con la concentración de 15,3% p/v. Para el extracto acuoso la mortalidad fue de 96%, mientras que para el etanólico alcanzó el 100% en un total de 12 d de evaluación. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que los extractos acuosos y etanólicos, en concentraciones de 3 y 4% p/v respectivamente, podrían ser más efectivos que los de *M. azedarach*, considerando que a tales concentraciones las mortalidades se encuentran cercanas al 100% (Figura 6A) y 80% (Figura 6B), respectivamente. De lo anteriormente expuesto se puede inferir que los extractos acuosos y etanólicos de hojas de *P. boldus* poseen mayor efecto insecticida que los de *M. azedarach*, esto porque con concentraciones cuatro a cinco veces menores del extracto de *P. boldus* se logran mortalidades similares a las obtenidas con los extractos de *M. azedarach*.

Macuada (2013) evaluó el efecto insecticida de extractos de hojas nuevas y maduras de *Peumus boldus* sobre larvas de *Xanthogaleruca luteola*. En el caso de los extractos de hojas nuevas, obtuvo mortalidades superiores al 85% con la concentración mayor (3,4% p/v) al día 12 de evaluación, y mortalidades mayores al 45% a partir de la concentración más baja (0,7% p/v) desde el día 8. Por otra parte, con las hojas maduras, el extracto etanólico alcanzó una mortalidad promedio superior al 50% a partir de la concentración más baja (1,8% p/v) en el día 7. Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten inferir que la diferenciación entre hojas nuevas y maduras, permitiría lograr mortalidades superiores a las obtenidas. De esta forma, el efecto insecticida de *P. boldus* sobre *R. flavipes* podría ser potencialmente mayor al obtenido.

Con respecto al tiempo de respuesta del efecto insecticida de los extractos utilizados en este estudio, se puede decir que las primeras mortalidades de obreras de *R. flavipes* para el tratamiento testigo de inanición se registraron al día 5 de evaluación, observándose un lento aumento de la mortalidad, alcanzando al día 12 un porcentaje levemente superior al 40%, sin lograr el 100% al término del ensayo (Figura 6). Por otra parte, Pizarro (2007) señala que una concentración de 1% v/v de aceites esenciales de *P. boldus*, en contacto con *S. zeamais*, provocó una mortalidad mayor al 40% recién a partir del segundo día, mientras que el presente trabajo, tal porcentaje de mortalidad para la concentración de 1% p/v se obtuvo a partir del día 9 con el extracto acuoso, y a partir del día 10 con el extracto etanólico.

En la Figura 6 se observan las mortalidades obtenidas en los 12 d de evaluación para la prueba de exposición directa (A). La mayor mortalidad observada con la mayor concentración del extracto

acuoso (3% p/v) fue 100%, mientras que con la concentración más elevada del extracto etanólico (4% p/v) fue 82%.

En los tratamientos con extracto etanólico se observa una tendencia significativa de diferenciación de mortalidad a partir del día 9 de evaluación, la que alcanzó el mayor nivel con la concentración de 4% p/v (Figura 6B).

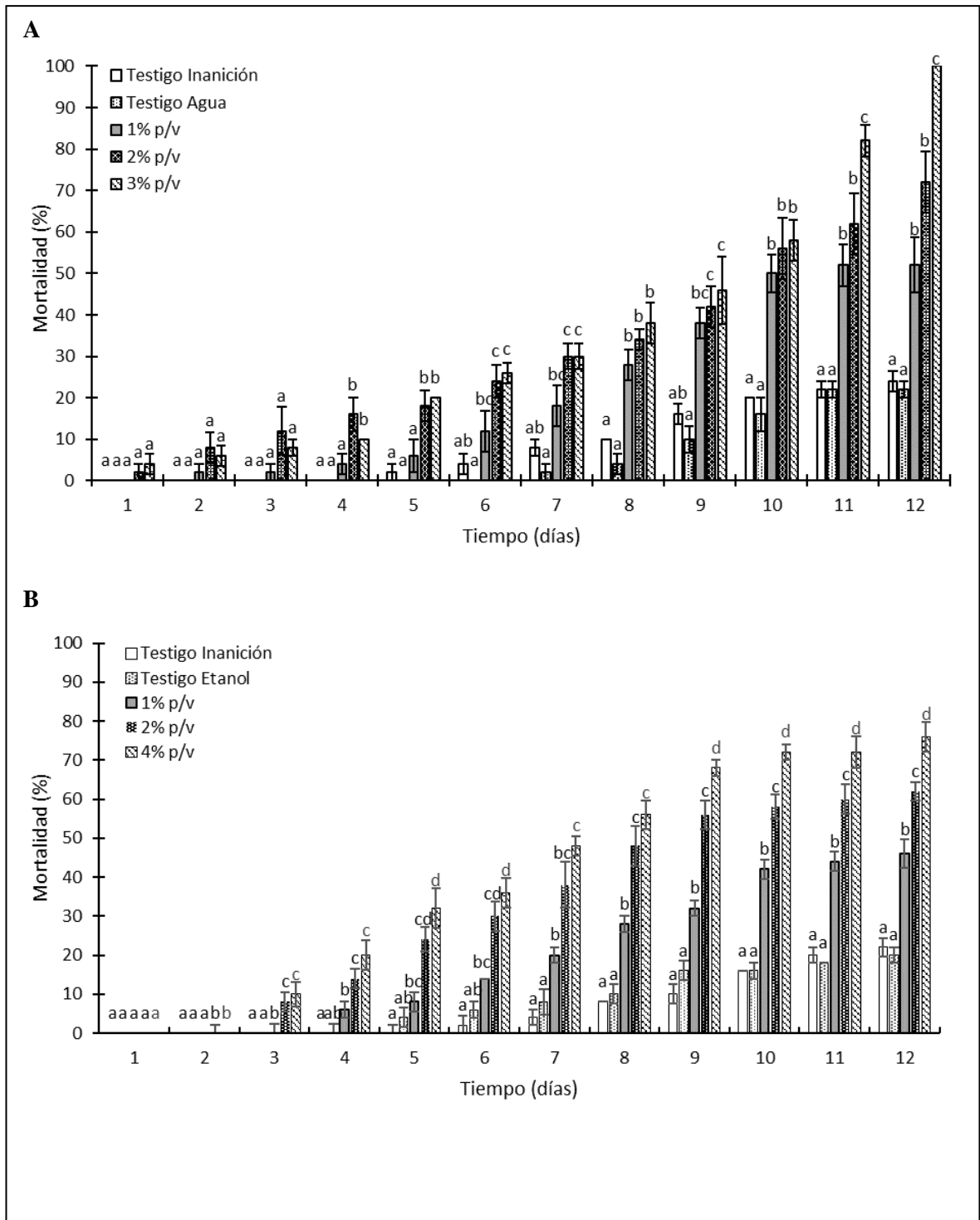


Figura 6. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de la exposición directa a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de *P. boldus* en tres concentraciones. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones por día, según pruebas de Tukey ($p \leq 0,05$).

b. Extractos de hojas de *Q. saponaria*. El análisis unifactorial para la mortalidad obtenida en los diferentes tratamientos, incluidos los testigos, detectó diferencias significativas tanto con el extracto acuoso ($F_{4, 20} = 8,71$; $p \leq 0,05$) como con el etanólico ($F_{4, 20} = 39,78$; $p \leq 0,05$), indicando que los resultados de mortalidad se debieron al efecto insecticida del extracto (Cuadro 9, Apéndice VIII).

Al igual que los casos anteriores, se detectó una relación directa entre la concentración y la mortalidad en ambos tratamientos, con un aumento significativo de esta última como respuesta a una mayor concentración del extracto.

Cuadro 9. Mortalidad (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria* en prueba de exposición directa, al día 14 de evaluación con extracto acuoso y al día 10 de evaluación con extracto etanólico.

Concentración (% p/v)	Extracto acuoso	Extracto etanólico
6	64 (58) \pm 2,5 b	-
4	-	68 (61) \pm 2 c
3	59 (52) \pm 3,9 b	-
2	-	56 (46) \pm 6,8 b
1	47 (39) \pm 5,1 ab	46 (34) \pm 2,5 b
Testigo inanición	37 \pm 4,8 a	20 \pm 0 a
Testigo agua	38 \pm 4,6 a	-
Testigo etanol	-	18 \pm 2 a

Entre paréntesis, mortalidad corregida por Abbott (1925). Letras diferentes en columna indican diferencias significativas entre concentraciones mediante prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

No existen estudios anteriores que hayan evaluado el efecto insecticida de los extractos de hojas de *Q. saponaria* sobre *R. flavipes*. Sin embargo, Pelah *et al.* (2002) han demostrado el efecto larvicida de la saponina comercial de corteza de *Q. saponaria* disuelta en agua sobre huevos y larvas de *Aedes aegypti* y *Culex pipiens*, obteniendo una mortalidad del 100% después del primer y quinto día de evaluación con las concentraciones de 800 y 1000 mg/L, respectivamente.

Zapata *et al.* (2006) indican que la corteza triturada de *Q. saponaria* incluida en la dieta artificial de larvas neonatas de *Spodoptera littoralis*, en concentraciones de 1 y 4% p/p, provocaron un efecto insecticida a partir de la segunda semana de vida alcanzando un 15% de mortalidad. En el caso de las larvas de tercer estadio las concentraciones de 1, 2 y 4% p/p sólo provocaron un efecto antialimentario menor, sin manifestarse una mayor mortalidad.

Silva *et al.* (2005), realizaron ensayos para encontrar plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado, dentro de las cuales se encontraba *Q. saponaria*. Polvos de esta especie aplicados a una concentración de 1% p/p permitieron alcanzar una mortalidad sólo del 2,9%, por lo que no fue considerada apta para seguir en evaluación.

Comparando los resultados de los estudios expuestos de Pelah *et al.* (2002) y Zapata *et al.* (2006) con los del presente trabajo, se puede decir que *Q. saponaria* presenta un mayor efecto insecticida sobre obreras de *R. flavipes* con extractos acuosos y etanólicos de hojas que con polvos de corteza

sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Culex pipiens* (en el caso de Pelah *et al.*, 2002) y larvas de *S. littoralis* (en el caso de Zapata *et al.*, 2006).

El ensayo realizado en el presente estudio indica que los extractos de hojas de *Q. saponaria* presentan un efecto insecticida sobre obreras de *R. flavipes*. Considerando además los estudios expuestos de otros autores que evaluaron el efecto larvicida de esta especie vegetal, se puede considerar que logra también mortalidades considerables sobre obreras de *R. flavipes*.

Con respecto a las mortalidades obtenidas (Figura 7), se puede observar que la mayor mortalidad está asociada a la concentración más elevada del extracto acuoso (6% p/v), la que fue 99,8%, mientras que para la mayor concentración del extracto etanólico (4% p/v) fue 98%.

En los tratamientos con extracto etanólico se observó una tendencia significativa de diferenciación de mortalidad a partir del día 10 de evaluación, la que alcanzó el mayor nivel con la concentración de 4% p/v (Figura 7B). Por su parte, los tratamientos con extracto acuoso presentaron una tendencia significativa de diferenciación de mortalidad a partir del día 3 de evaluación (Figura 7A).

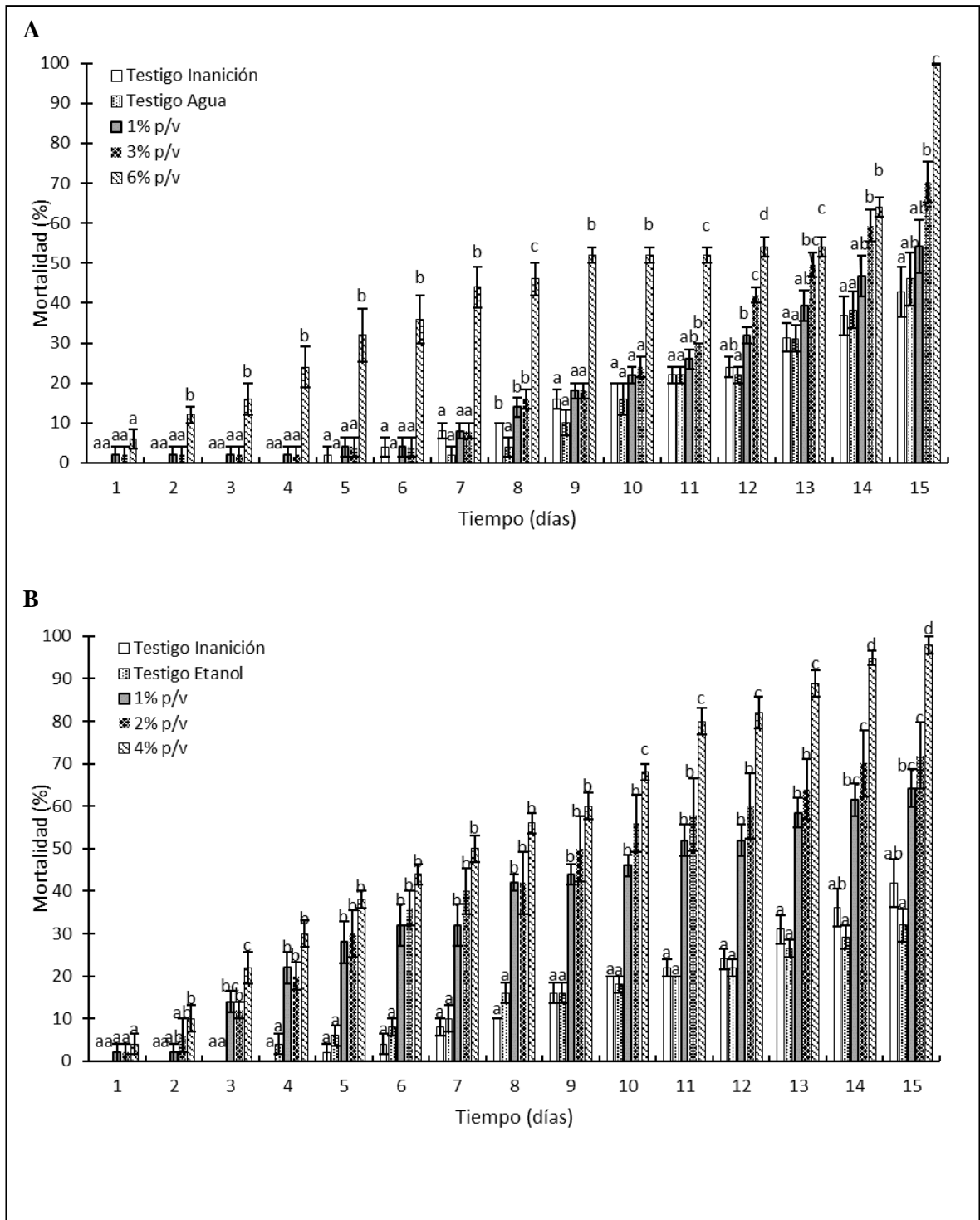


Figura 7. Mortalidad acumulada (% \pm EE) de *R. flavipes* por efecto de la exposición directa a discos de papel filtro tratados con extracto acuoso (A) y etanólico (B) de hojas de *Q. saponaria* en tres concentraciones. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones por día, según prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2.2 Concentración letal (CL₅₀)

3.2.2.1 Extractos de hojas de *P. boldus*

Según el análisis Probit, las mortalidades obtenidas con el extracto acuoso al 3% p/v fueron mayores que las obtenidas con el extracto etanólico al 4% p/v. Lo anterior, aparte de indicar la mayor eficacia del extracto acuoso, implica que, por necesitarse menor concentración de este extracto, las necesidades de masa de material vegetal (hojas en este caso) también serán menores.

Con respecto a la CL₅₀ de la exposición indirecta para el extracto acuoso, al día 15 de evaluación, es más efectiva que la del extracto etanólico al mismo período, ya que el primero solo requiere una concentración de 1,01% p/v, mientras que el segundo, una de 1,1% p/v.

Por otro lado, se evidencia que la mejor CL₅₀ de la exposición directa es la del extracto acuoso, por requerir una concentración de 1,01% p/v en contraposición con la del etanólico (1,29% p/v). A pesar de que el extracto acuoso requiere de esta menor concentración para lograr el efecto insecticida del 50% de los individuos al día 12, mientras que el etanólico lo logra al día 10, se considera más efectivo porque se requerirá menor masa vegetal para su elaboración.

Cuadro 10. Efectividad insecticida sobre *R. flavipes* de los extractos de hojas de *P. boldus* según prueba de exposición directa e indirecta, en función de la CL₅₀.

Pruebas de exposición	Disolvente	Evaluación (días)	Pendiente ± EE	CL ₅₀ (% p/v)	χ^2 *
Indirecta	Agua	13	17,41 ± 6,09	1,85	4,23
		14	19,93 ± 7,35	1,30	1,88
		15	24,79 ± 9,92	1,01	2,91
	Etanol	13	14,58 ± 0,12	1,99	4,08
		14	16,50 ± 0,22	1,50	4,78
		15	18,00 ± 0,47	1,10	5,13
Directa	Agua	10	9,37 ± 1,74	1,19	0,63
		11	25,92 ± 9,17	1,01	5,38
		12	42,09 ± 10,57	1,01	5,5
	Etanol	8	32,97 ± 1,32	1,71	5,97
		9	26,85 ± 3,01	1,38	5,4
		10	25,23 ± 1,71	1,29	5,93

*El estimador χ^2 calculado fue menor que el valor tabulado (gl = 2; p ≤ 0,05) = 5,9915, por lo que el modelo Probit se ajustó a los resultados experimentales (EE: Error estándar).

Con respecto a las pendientes en los resultados de exposición indirecta, la del extracto acuoso es mayor que la del etanólico. Esto quiere decir que las concentraciones del extracto acuoso provocaron mortalidades más variables dependiendo de la concentración utilizada que las del etanólico (Cuadro 10).

En la Figura 8 se observa que las mortalidades de obreras de *R. flavipes* alcanzadas por el extracto acuoso (A), al día 15 de evaluación, son mayores que las del extracto etanólico (B) a una concentración levemente menor y en el mismo período de evaluación (15 d).

En el caso de las pendientes obtenidas para las pruebas de exposición directa, estas presentan variaciones notables, ya que para el extracto acuoso el valor que toma entre los días de evaluación presenta un rango amplio, mientras que las del extracto etanólico son mayores, pero sin mayor variación. Esto explica la variación de las mortalidades provocadas por el extracto (acuoso o etanólico) con las potenciales CL₅₀ expuestas en el Cuadro 10.

En la Figura 9 se observa que al día 11 el extracto acuoso provoca una mayor mortalidad de obreras de *R. flavipes* (superior al 80%), a una menor concentración que el extracto etanólico al día 10 (cercana al 70%) a una concentración mayor.

Rubio (2014) indica que la CL₅₀ de extractos de frutos verdes de *M. azedarach* sobre *R. flavipes*, en pruebas de exposición directa al día 6 de evaluación, fue de 2,64% p/v, y que, además, los tratamientos con extracto etanólico presentaron una CL₅₀ menor que los acuosos.

Macuada (2013) señala que la CL₅₀ del extracto de hojas nuevas y maduras de *P. boldus* sobre *X. luteola* se encuentra entre 0,90 a 1,20% p/v los días 7 y 9 de evaluación para los extractos etanólicos, siendo estos más efectivos que los acuosos.

En el presente estudio, la CL₅₀ fue menor para los extractos acuosos, tanto para la prueba de exposición directa como indirecta. Probablemente esto se deba a que, a diferencia de Macuada (2013), no se hizo diferencia entre hojas nuevas y maduras de *P. boldus* las que pueden presentar concentraciones diferentes de sus componentes químicos según su etapa de desarrollo. Además, Sfeir (1990) indica la concentración de boldina (principal componente del boldo) varía de acuerdo al lugar geográfico en donde se colecten. En su estudio, colectó en el predio Juan Pastor León (Pantanillos) y en la misma localidad del presente estudio (Antumapu, Santiago), y los resultados obtenidos indican que la mayor concentración de este alcaloide es mayor en la primera localidad.

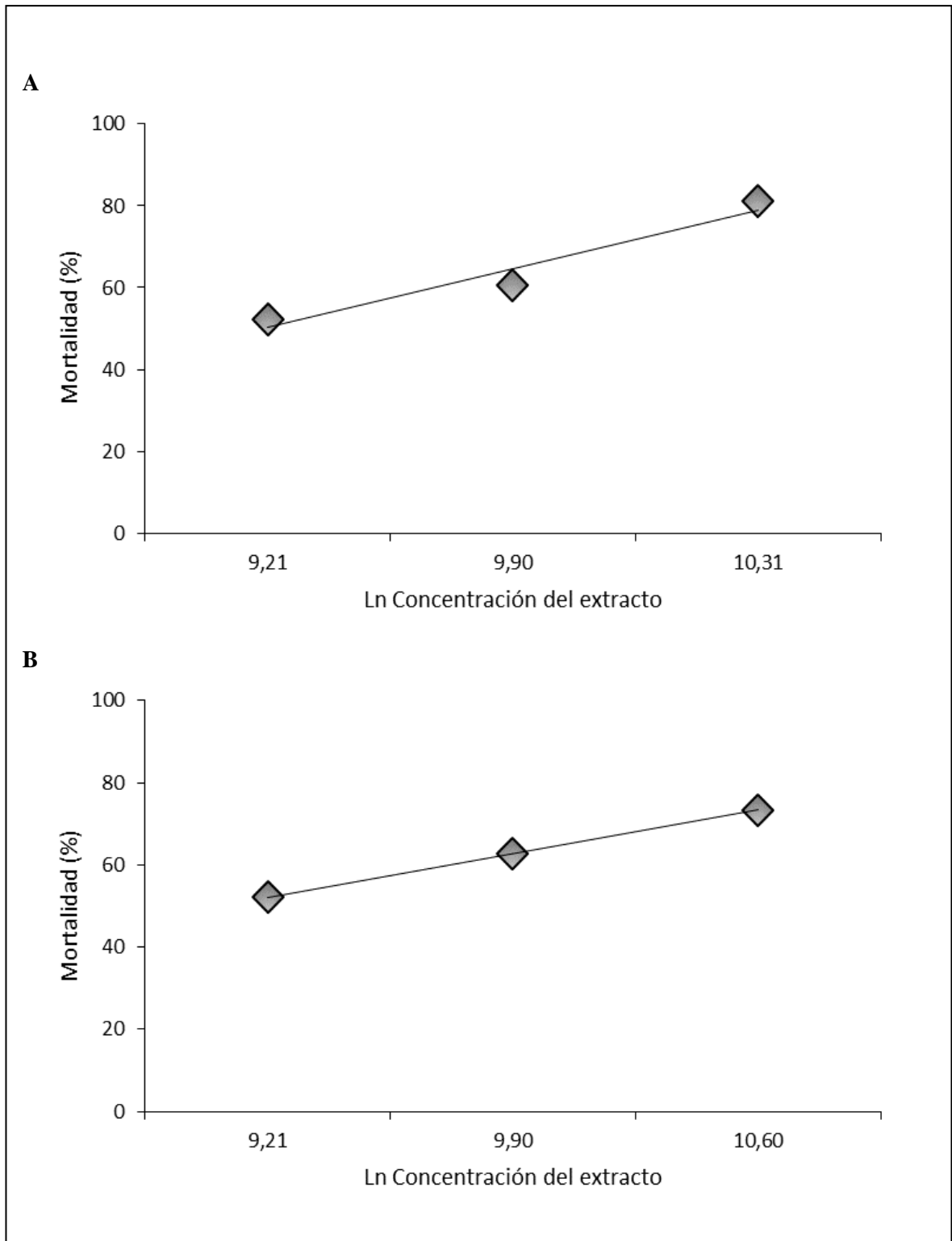


Figura 8. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de *P. boldus*, según pruebas de exposición indirecta al día 15 en extracto acuoso (A) y etanólico (B).

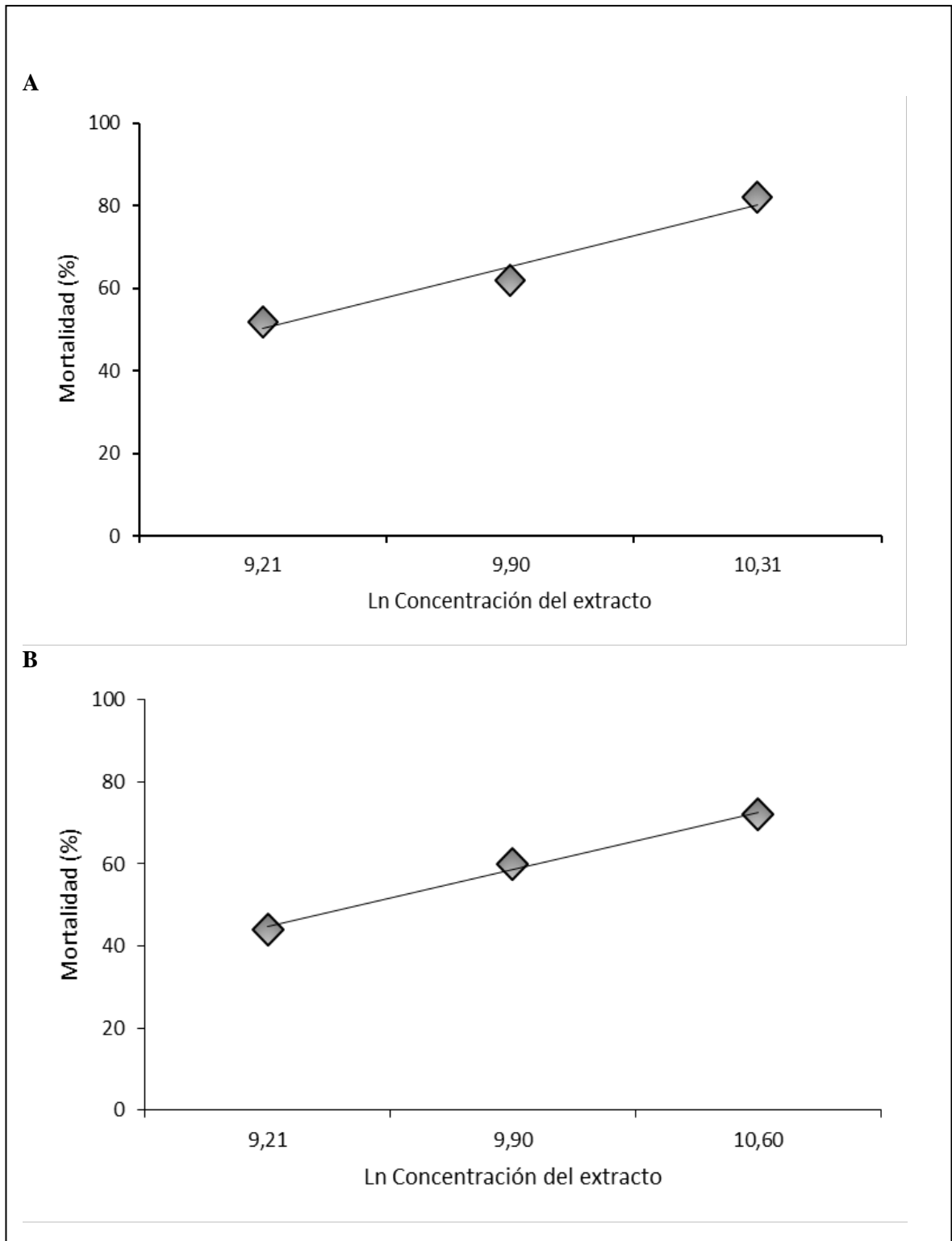


Figura 9. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de *P. boldus*, según pruebas de exposición directa al día 11 (A) en extracto acuoso y al día 10 (B) en extracto etanólico.

3.2.2.2 Extractos de hojas de *Q. saponaria*

Con respecto a la CL₅₀ de la exposición indirecta, la del extracto acuoso es menor que la del extracto etanólico, ya que el primero solo requiere una concentración de 1,16% p/v, mientras que el segundo una de 1,24% p/v.

Por otro lado, se observa que la CL₅₀ de la exposición directa más efectiva es la del extracto etanólico. A pesar que la CL₅₀ de ambos extractos es casi idéntica (1% p/v), el tiempo en el que el extracto etanólico logra el 50% de mortalidad de obreras de *R. flavipes* es menor que el del acuoso (Cuadro 11).

Cuadro 11. Efectividad insecticida sobre *R. flavipes* de los extractos de hojas de *Q. saponaria* según prueba de exposición directa e indirecta, en función de la CL₅₀.

Pruebas de exposición	Disolvente	Evaluación (días)	Pendiente ± EE	CL ₅₀ (% p/v)	χ ² *
Indirecta	Agua	14	11,75 ± 5,50	2,90	5,63
		15	12,21 ± 6,48	1,71	5,65
		16	13,03 ± 9,20	1,16	5,58
	Etanol	12	10,10 ± 0,83	3,87	2,28
		13	8,49 ± 0,09	1,61	4,71
		14	11,06 ± 1,35	1,24	2,07
Directa	Agua	13	24,45 ± 11,86	1,87	2,36
		14	22,18 ± 8,22	1,35	2,83
		15	24,06 ± 11,46	1,02	5,94
	Etanol	9	9,85 ± 4,99	2,00	2,55
		10	13,99 ± 5,56	1,42	4,28
		11	16,11 ± 12,10	1,00	5,91

*El estimador χ² calculado fue menor que el valor tabulado (gl = 2; p ≤ 0,05) = 5,9915, por lo que el modelo Probit se ajustó a los resultados experimentales (EE: Error estándar).

Las pendientes en los resultados de exposición indirecta presentan variaciones similares en la mortalidad, pero las del extracto acuoso son mayores que las del etanólico (Cuadro 11, Figura 10).

En la Figura 10 se observa que las mortalidades de obreras de *R. flavipes* alcanzadas por el extracto acuoso (A) al día 16 de evaluación son mayores que la del extracto etanólico (B), a una concentración levemente menor al día 14 de evaluación.

En el caso de las pendientes en los resultados de exposición directa, se evidencian variaciones similares, pero con el extracto etanólico se logró una mayor mortalidad a una concentración y tiempo menores a los del extracto acuoso. Esto indica que las CL₅₀ expuestas en el Cuadro 11 provocan mortalidades similares, variando el tiempo de respuesta.

En la Figura 11 se observa que el extracto etanólico (A) provoca una mayor mortalidad de obreras de *R. flavipes* (superior al 80%), a una menor concentración al día 11, que la del extracto acuoso (B) (cercana al 70%), a una concentración levemente mayor al día 15.

Constenla (2015) evaluó la capacidad insecticida de extractos de hojas nuevas de *Schinus molle* sobre *R. flavipes* bajo el mismo método aplicado en el presente estudio, obteniendo que la CL₅₀ menor se produjo en la prueba de exposición directa con el extracto etanólico, que requirió una CL₅₀ de 1,44% p/v el día 6 de evaluación, en contraste con 5,14% p/v que requirió el extracto acuoso en el mismo día. Considerando lo anterior, el presente estudio reveló que la CL₅₀ menor es la obtenida en la prueba de exposición directa con el extracto etanólico, al igual que Constenla (2015), siendo de 1% p/v el día 11 de evaluación. Estos resultados indican que la CL₅₀ más eficaz sería la obtenida con el extracto etanólico de hojas nuevas de *S. molle*, ya que con ella se logró una mortalidad del 50% de obreras de *R. flavipes* en un tiempo menor y a una concentración levemente superior en comparación con el extracto etanólico de hojas de boldo obtenido en el presente estudio.

Para el caso de la prueba de exposición indirecta, la CL₅₀ menor fue la obtenida con el extracto acuoso, que requirió de una CL₅₀ de 1,16% p/v, en comparación con el extracto etanólico que requirió una CL₅₀ de 1,24% p/v. Constenla (2014) indica que, para esta prueba, la concentración que produjo el 50% de mortalidad de obreras de *R. flavipes* fue de 2,94% p/v y se logró al día 11 de evaluación con el extracto etanólico, en contraste con el extracto acuoso que demandó una CL₅₀ de 4,33% p/v en el mismo período.

Estos resultados revelan que los extractos de hojas de *Q. saponaria* tienen un mayor efecto tóxico sobre *R. flavipes* en ambas pruebas (exposición directa e indirecta), a pesar de que se logran en extractos con disolventes distintos. Las CL₅₀ del presente estudio son notablemente menores que las obtenidas por Constenla (2014), por lo que *Q. saponaria* se puede considerar como potencial bioinsecticida y con mayor capacidad insecticida que los extractos de hojas nuevas de *S. molle*.

Dado que con *Q. saponaria* se requieren concentraciones menores para obtener las CL₅₀ en comparación con las necesarias en el caso de *S. molle*, la biomasa requerida para la elaboración de los extractos del primero sería menor que la requerida para la de los extractos del segundo, cumpliendo con el propósito de ser sostenible en el tiempo sin contribuir al sobreuso de la especie forestal con este producto no maderero.

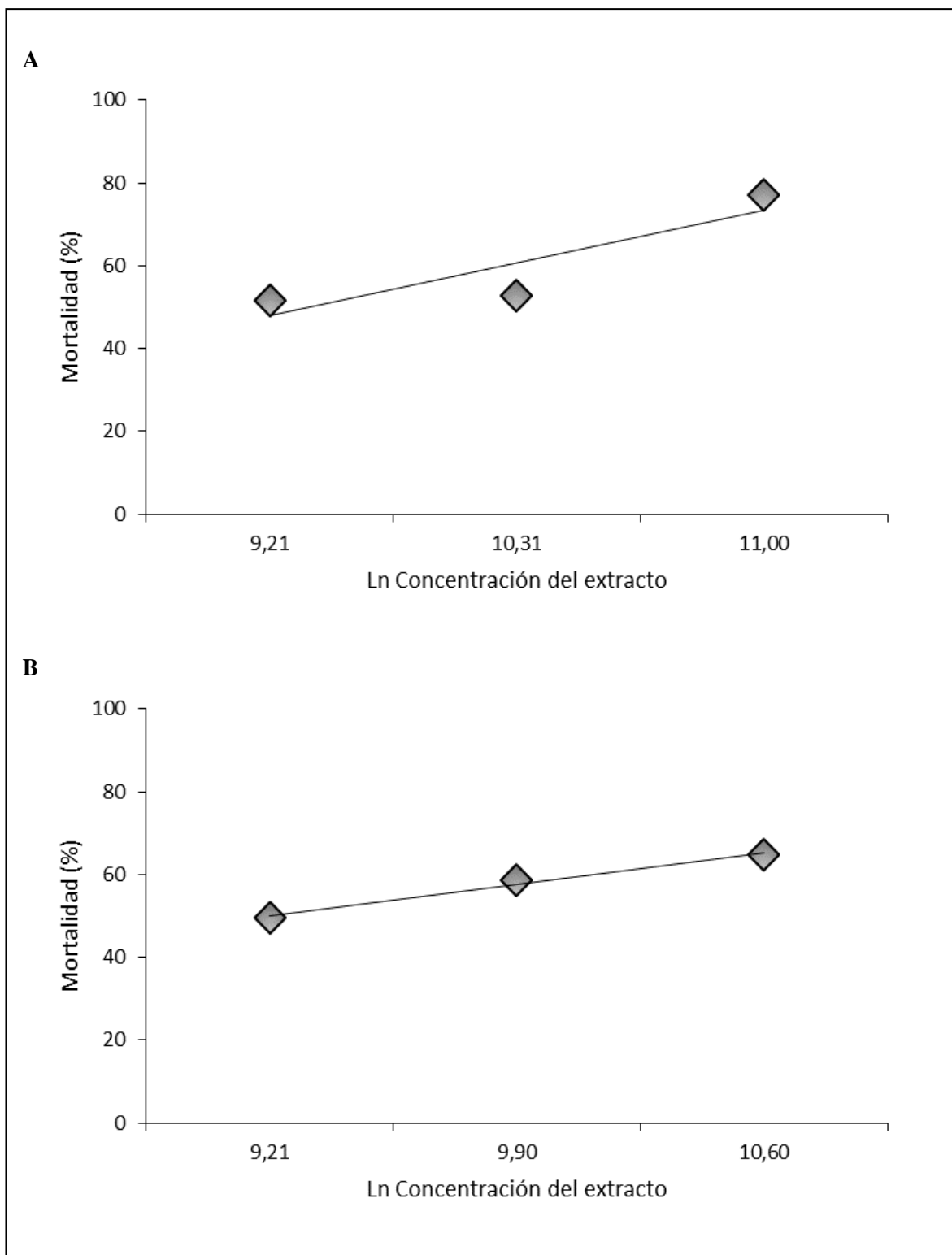


Figura 10. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria*, según pruebas de exposición indirecta al día 16 (A) en extracto acuoso y al día 14 (B) en extracto etanólico.

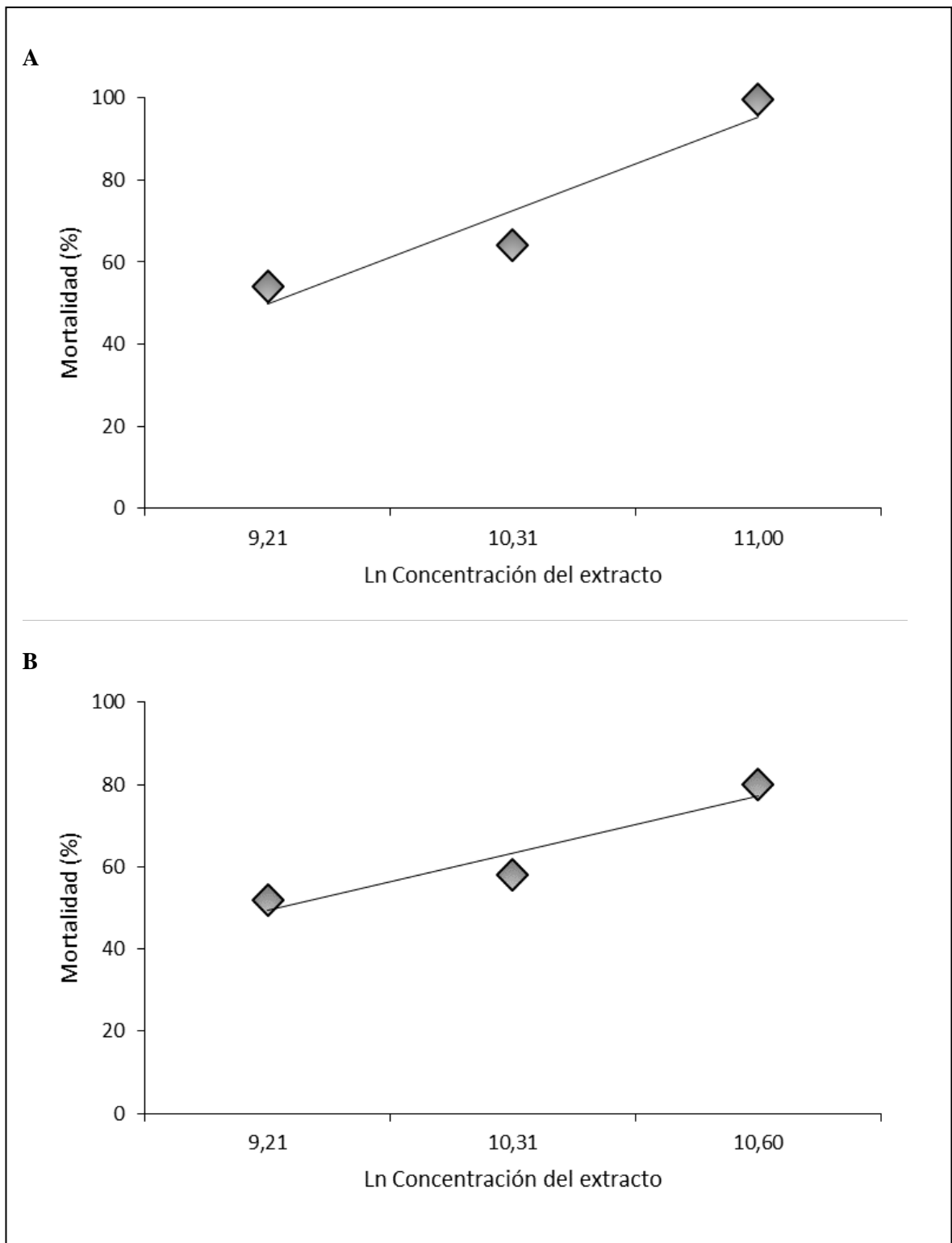


Figura 11. Representación gráfica del análisis Probit mediante el parámetro CL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria*, según pruebas de exposición directa al día 15 (A) en extracto acuoso y al día 11 (B) en extracto etanólico.

3.2.3 Tiempo letal (TL₅₀)

3.2.3.1 Extractos de hojas de *P. boldus*

Los resultados obtenidos mediante el análisis Probit indicaron que al 1% p/v, el tiempo letal (TL₅₀) fue menor (11,51 d) con el extracto acuoso en la prueba de exposición directa. El TL₅₀ mayor fue 15,71 d y se obtuvo con el extracto acuoso en la prueba de exposición indirecta (Cuadro 12).

Cuadro 12. Eficacia insecticida de los extractos de hojas de *P. boldus* según prueba de exposición y disolvente, en función al TL₅₀ sobre *R. flavipes*.

Pruebas de exposición	Disolvente	Concentración (% p/v)	Pendiente ± EE	TL ₅₀ (d)	χ ² *
Indirecta	Agua	1	11,48 ± 0,23	15,71	22,94
	Etanol	1	9,02 ± 0,14	14,96	11,69
Directa	Agua	1	14,36 ± 0,52	11,51	19,84
	Etanol	1	8,73 ± 0,25	11,66	6,49

*El estimador χ² calculado fue menor que el valor χ² tabulado (gl = 14; p ≤ 0,05) = 23,7, por lo que el modelo Probit se ajustó a los resultados experimentales.

Los TL₅₀ de los extractos en la prueba de exposición directa fueron muy similares, mientras que los de la prueba de exposición indirecta presentaron una mayor diferencia. Evidentemente, el TL₅₀ menor se logró en las pruebas de exposición directa, debido a que las obreras de *R. flavipes* se encuentran en contacto directo con el extracto, a diferencia de la prueba de exposición indirecta, en la cual el extracto podría estar actuando mediante sustancias volátiles u otro mecanismo que no afecte tan directamente al insecto o que haga perder efectividad al extracto (Cuadro 12).

Con respecto a los TL₅₀ en las pruebas de exposición directa, las pendientes fueron similares a partir del día 10 de evaluación con ambos extractos, mientras que en las pruebas de exposición indirecta, la pendiente del extracto acuoso fue levemente mayor a la del etanólico, aunque las mortalidades son muy similares (Figura 12).

Macuada (2013) obtuvo que el TL₅₀ del extracto etanólico de hojas nuevas de *P. boldus* sobre larvas de *X. luteola* fue 4,16 d a una concentración de 3,4% p/v, mientras que el mayor fue de 9,12 d con el extracto acuoso de hojas maduras de *P. boldus* a una concentración de 2,9% p/v. Los TL₅₀ obtenidos en el presente estudio son mayores que los determinados por este autor, lo que muy probablemente se deba a la menor concentración empleada en el presente trabajo, un 1% p/v. Parece evidente que tal concentración es demasiado baja, por lo que se sugiere que para estudios posteriores se ensaye con concentraciones similares a las empleadas por Macuada (2013) las cuales se obtuvieron con hojas nuevas.

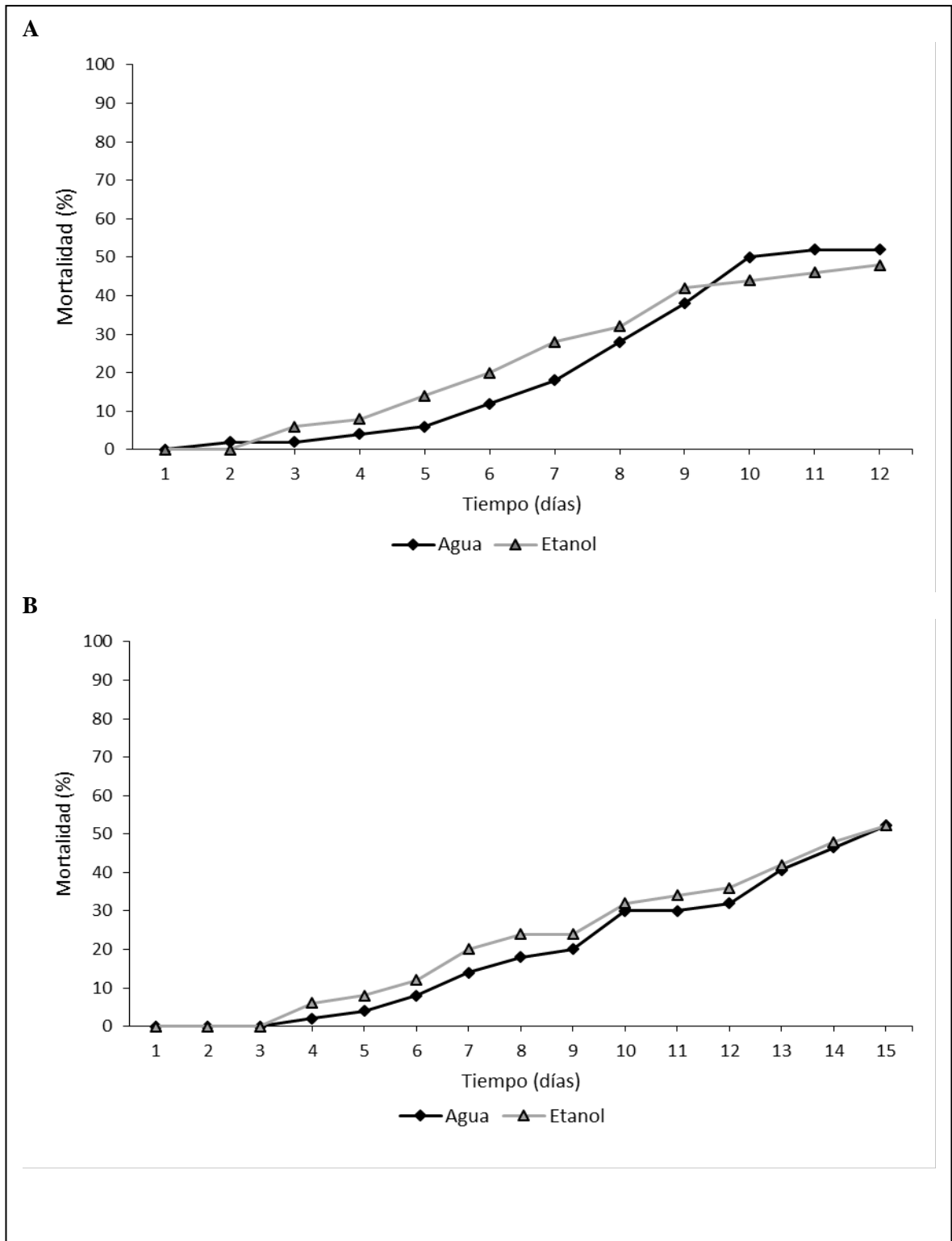


Figura 12. Representación gráfica del análisis Probit, mediante el TL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *P. boldus* en prueba de exposición directa (A) y prueba de exposición indirecta (B), a una concentración de 1% p/v.

3.2.3.2 Extractos de hojas de *Q. saponaria*

Los resultados obtenidos mediante el análisis Probit indicaron que al 1% p/v, el tiempo letal menor (TL₅₀) se produjo con el extracto etanólico en prueba de exposición directa (10,96 d). El TL₅₀ mayor fue 17,74 d y se obtuvo con el extracto acuoso al 1% p/v en la prueba de exposición indirecta (Cuadro 13).

Cuadro 13. Eficacia insecticida de los extractos de hojas de *Q. saponaria* según prueba de exposición y disolvente, en función del TL₅₀ sobre *R. flavipes*.

Pruebas de exposición	Disolvente	Concentración (% p/v)	Pendiente ± EE	TL ₅₀ (d)	χ ² *
Indirecta	Agua	1	12,41 ± 0,23	17,74	10,91
	Etanol	1	10,74 ± 0,18	14,05	4,43
Directa	Agua	1	11,65 ± 0,35	16,4	12,78
	Etanol	1	1,19 ± 0,23	10,96	16,24

*El estimador χ² calculado fue menor que el valor χ² tabulado (gl = 14; p ≤ 0,05) = 23,7, por lo que el modelo Probit se ajustó a los resultados experimentales.

Los TL₅₀ de los extractos en la prueba de exposición directa fueron menores que los de la indirecta, lo que probablemente se deba a que en este tipo de prueba las obreras de *R. flavipes* están en contacto directo con el extracto en el disco de papel filtro.

Constenla (2015) experimentó con extractos de hojas nuevas de *Schinus molle* sobre obreras de *R. flavipes*. El menor TL₅₀ lo obtuvo con el extracto etanólico en la prueba de exposición directa a una concentración de 2,9% p/v y a los 5,39 d, en contraste con los 8,80 d que demoró el extracto acuoso al 3% p/v. En el caso de la prueba de exposición indirecta, el TL₅₀ menor también se logró con el extracto etanólico, a una concentración de 2,9% p/v y a los 11,61 d, mientras que el acuoso lo hizo al 3,3% p/v en 12,30 d.

Considerando los resultados de Constenla (2015), se puede decir que en ambas pruebas, los extractos de hojas nuevas de *S. molle* fueron más efectivos que los de *Q. saponaria*. Esto podría deberse a las concentraciones utilizadas en este estudio, por lo que se recomienda que para estudios futuros se realice una separación de hojas nuevas y maduras, ya que la proporción de aceites esenciales y sustancias químicas presentes en el follaje de las especies vegetales varían según la edad de las hojas.

El TL₅₀ se ve reflejado en la Figura 13, donde se observa que en la prueba de exposición indirecta (B) hubo escasas diferencias de mortalidad entre el extracto acuoso y etanólico, mientras que en la prueba de exposición directa (A), la diferencia es más notoria a partir del día 2 de evaluación.

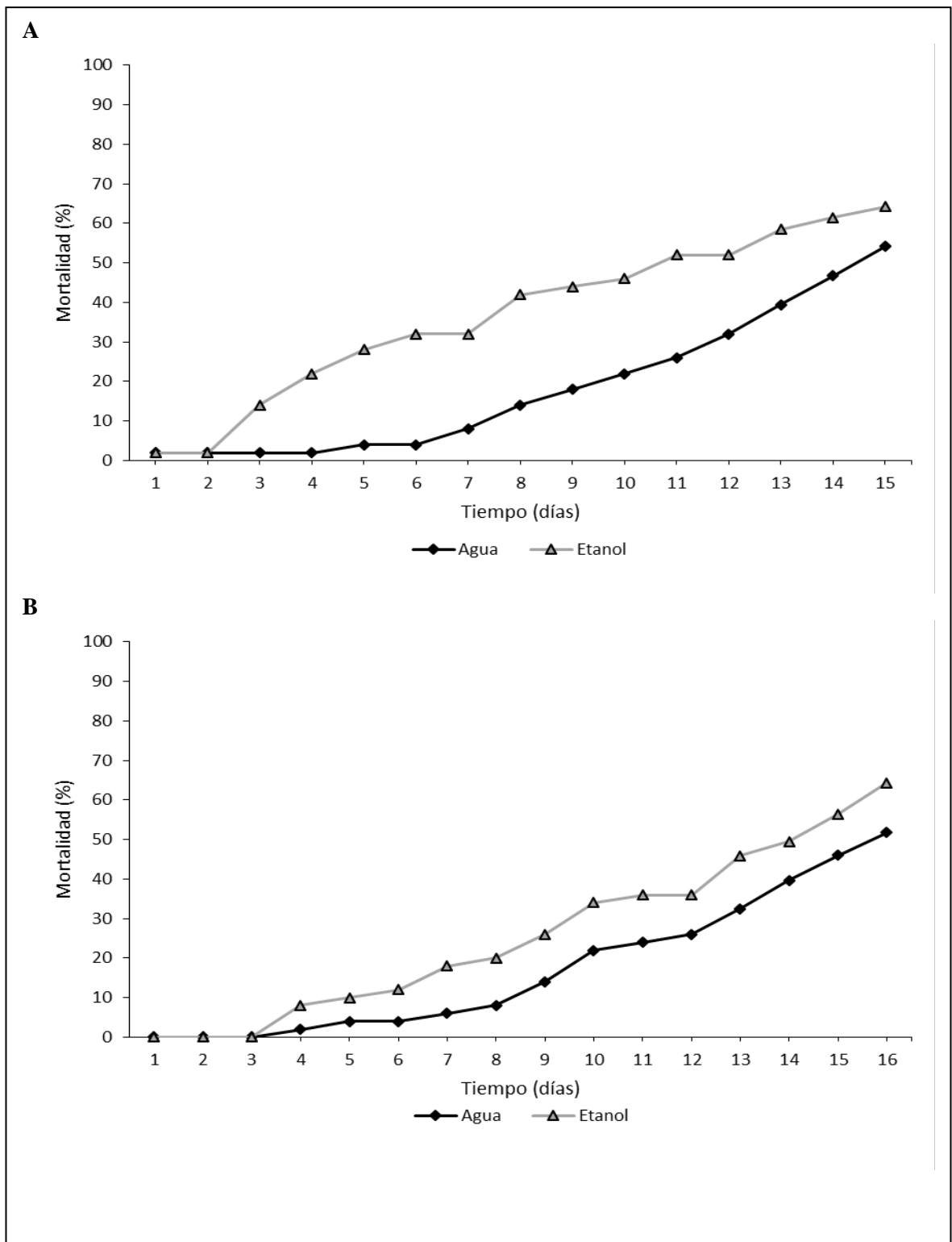


Figura 13. Representación gráfica del análisis Probit, mediante el TL_{50} para la mortalidad de *R. flavipes*, por efecto de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *Q. saponaria* en prueba de exposición directa (A) y prueba de exposición indirecta (B) a una concentración de 1% p/v.

4. CONCLUSIONES

Con respecto a los bioensayos con hongos, el mejor resultado se obtiene con el extracto de hojas de *Q. saponaria* sobre *T. versicolor*, a pesar de que estadísticamente no se detectaron diferencias significativas. Por lo tanto, se consideró que el extracto de hojas de quillay es un potencial biofungicida para estas especies fúngicas.

Las concentraciones utilizadas en el presente estudio se consideraron insuficientes para los bioensayos con hongos, ya que el efecto fungicida de *P. boldus* y *Q. saponaria* está comprobado sobre otros hongos, pero a concentraciones superiores o con otros disolventes. Además, estadísticamente no se detectaron diferencias significativas entre las pérdidas de peso promedio consecuencia de los tratamientos aplicados, por lo que la utilización de concentraciones con mayor diferencia entre sí podría ser eventualmente una mejor opción para evaluar el verdadero efecto fungicida de estas especies vegetales.

Con respecto a los bioensayos con termitas, el extracto acuoso de hojas de *P. boldus* logró mayor mortalidad que el etanólico en ambas pruebas (exposición directa e indirecta). En el caso de los extractos de *Q. saponaria*, el extracto etanólico provocó mayor mortalidad que el acuoso en la prueba de exposición directa, mientras que en la indirecta, fue más efectivo el extracto acuoso.

La CL₅₀ del extracto de hojas de *P. boldus*, para ambas pruebas, fue menor con el extracto acuoso, mientras que para el extracto de hojas de *Q. saponaria*, en la prueba de exposición directa, la CL₅₀ fue menor con el extracto etanólico, y en la indirecta, con el extracto acuoso.

El TL₅₀ obtenido con el extracto acuoso de hojas de *P. boldus* fue menor en la prueba de exposición directa, mientras que en la indirecta se logró con el extracto etanólico. Por lo tanto, el extracto acuoso de hojas de *P. boldus* fue más eficaz que el etanólico en la prueba de exposición directa, a diferencia de la otra prueba en la que el etanólico entregó el menor TL₅₀.

El TL₅₀ obtenido con el extracto etanólico de *Q. saponaria*, en ambas pruebas, fue menor que el logrado con el extracto acuoso. A pesar de que la evaluación del efecto insecticida del extracto de *Q. saponaria* entregó como resultado que el extracto etanólico era mejor (mayor mortalidad) que el acuoso en la prueba de exposición directa, y que en la prueba de exposición indirecta el resultado fue inverso, el TL₅₀ sólo representa la evaluación de una concentración dada. Dicho lo anterior, se concluye que el extracto etanólico de hojas de quillay fue más efectivo que el acuoso en términos de TL₅₀.

Para el caso de los bioensayos con termitas, si bien las concentraciones de los diferentes extractos empleadas tuvieron un evidente efecto insecticida sobre *R. flavipes*, se recomienda ensayar con extractos diferenciando hojas nuevas de maduras, ya que la concentración de aceites esenciales y otras sustancias químicas varía según la edad de estas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W.A. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2008. *Annual book of standart* (Designation D: 1413-07). Standard Test Method for Wood Preservatives by Laboratory Soil-Block Cultures.
- Aedo, D., Doll, U. y López, P. 2005. Caracterización morfológica de tres procedencias de boldo (*Peumus boldus*) en una plantación joven de 6 años. *Bosque* 26(3): 45-54.
- Agrios, G.N. 1995. *Fitopatología*. 2ª ed. México, Uthea. 838p.
- Aguilar- Medel, S., Lagunes, A., Pizarro, D., Rodríguez, J., Santillán-Ortega, C., Silva, G., Tapia, M., Urbina, A. y Robles-Bermúdez, A. 2012. Actividad insecticida del polvo de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(4):420-430.
- Alvarado, A., Baldini, A. y Guajardo, F. 2012. *Guía de reconocimiento "Árboles urbanos de Chile"*. Editorial Maval. Santiago, Chile. 368p.
- Amado, F., Ferreira, R., Mora, A. and Rebelo, A. 2007. *Trametes versicolor* growth and laccase induction with by-products of pulp and paper industry. *Electronic Journal Biotechnology* 10(3): 444-451.
- Apablaza, G., Díaz, M., San Martín, R. y Moya, E. 2002. Control de oidio de las cucurbitáceas con saponinas presentes en extractos de quillay (*Quillaja saponaria*). *Ciencia e Investigación Agraria* 29: 83-90.
- Bittner, M., Aguilera, M., Hernández, V., Arbert, C., Becerra, J. and Casanueva, M. 2009. Fungistatic Activity Of Essential Oils Extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (Chilean Monimiaceae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69(1):30-37.
- Blaske, U. V. and Hertel, H. 2001. Repellent and toxic effect of plant extracts on subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Economic Entomology* 94(3): 1200-1208.
- Bourguet, D., Genissel, A. and Raymond M. 2000. Insecticide resistance and dominance levels. *J. Econ. Entomol.* 93(6): 1588-1595.
- Boutin, C, and Freemark K. 1995. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: a review with special reference to North America. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 52 (2): 67-91.
- Bravo, L., Bermúdez, K. y Montes, R. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo integrado de plagas (Costa Rica)* (57): 29-34.

Carvalho, J., Ruiz, A.L., Souza, V. y Taffarello, D. 2008. Farmacología e Toxicología de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. Rev. Brasileira de Farmacognosia 18 (2): 295-300.

Constenla C., S.S. 2015. Efecto repelente e insecticida de extractos de hojas de *Schinus molle* L. sobre *reticulitermes flavipes* Kollar (Isoptera: Rhinotermitidae). Memoria de Ingeniero Forestal. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 41p.

Contreras, D., Freer, J., Pozo, C. and Rodríguez, J. 2010. Effects of humic and oxalic acid in Wood biodegradation by *Gloeophyllum trabeum*. Journal of the Chilean Chemical Society 55(4): 436-439.

CTT (Centro de Transferencia Tecnológica de la Madera) y CORMA (Corporación Chilena de la Madera). 2008. Manual de Buenas Prácticas para la Construcción en Madera. Santiago, Chile. 226p.

Deacon, J.W. 2009. Fungal Biology. 4th Edition Blackwell Publishing, UK. 385p.

Durán, J., Garay, D. y Moreno, P. 2002. Durabilidad natural e inducida en tableros de partículas de Pino caribe con urea formaldehído. Forestal Venez. 46(2): 105-111.

González, G. 2012. Patologías Bióticas de la Madera de los Bosques Templados de Chile a la Selva Amazónica de Misiones. Santiago, Chile, 53p.

Herrera, P., Jamet, A., Ortiz, M., Ortiz, R., Pereira, A., Rehbein, K. y Vindigni, G. 2011. Influencia del deterioro incipiente producido por el hongo de pudrición parda *Serpula lavrymans*, sobre la propiedad mecánica de compresión paralela a la fibra en madera de *Pinus radiata* D. Don. Cuaderno Iberoamericano de la Construcción 1(1): 7-10.

Ibaca, B., R.C. 2001. Monografía de árboles y arbustos chilenos con propiedades medicinales y aromáticas. Memoria de Ingeniero Forestal. Concepción, Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Forestales. 259p.

INFOR (Instituto Forestal), INDAP (Instituto de Desarrollo Agropecuario) y FIA (Fundación para la Innovación Agraria), 2000. Monografía de Quillay (*Quillaja saponaria*). 74p.

Karsulovic, T. y Bozo, A. 2006. Aunando esfuerzos para enfrentar la plaga de termitas subterráneas en la Región Metropolitana. Ambiente Forestal 1(2): 49-54.

Kirk, T.K and Cullen, D. 1998. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. pp. 273-307. En: Young, R. y Akhtar, M. (Eds.). Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry. Canadá, John Wiley & Sons, Inc.

Lagunes- Tejeda, A. y Vázquez- Navarro, M. 1994. El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, México. Centro de Entomología y Acarología. 159p.

Macuada, S., G.E. 2013. Evaluación del efecto antialimentario e insecticida de extractos de hojas de *Peumus boldus* sobre larvas de *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). Memoria de Ingeniero Forestal. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 46p.

Montes, R. y Carvajal, M., Figueroa, R. e Méndez, I. 1997. Extractos sólidos, acuosos y hexánicos de plantas para el combate de *Aspergillus flavus* Link en maíz. Revista mexicana de fitopatología 15 (1): 26-30.

Páez, A., Lagunes A., Carrillo J., Rodríguez J. 1990. Polvos vegetales y materiales inertes para el combate del gorgojo *Sitophilus zeamais* (Coleóptera: Curculionidae) en maíz almacenado. *Revista Agro-Ciencia* 1(3): 35-46.

Pelah, D., Abramovich, Z., Markus, A. y Wiesman, Z. 2002. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Journal of Ethnopharmacology* 81(3): 407-409.

Peredo M. e Inzunza L. 1985. Influencia del almacenamiento prolongado en las propiedades Físico-Mecánicas de la madera. pp. 189-202. En: Olivares B., Morales E. *Pinus radiata*. Investigación en Chile. UACH. Tomo II.

Pizarro D., D.I. 2007. Polvo, aceites esenciales y extractos de *Peumus boldus* Molina para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en laboratorio. Tesis de Magíster en Ciencias Mención Producción Vegetal. Chillán, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. 43p.

Ramírez, J. y Lanfranco, D. 2001. Descripción de la biología, daño y control de las termitas: especies existentes en Chile. *Bosque* 22(2): 77-84.

Ribera, A., Cotoras, M., Zúñiga, G.E. 2008. Effect of extracts from in vitro-grown shoots of *Quillaja saponaria* Mol. on *Botrytis cinerea* Pers. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(9):1803-1811.

Ripa, R. y Luppichini, P. 2004. Termitas de importancia económica en Chile. *Tierra Adentro* 59: 49-51.

Robertson, J.L., Smith, K.C., Savin, N.E., and Lavigne, R.J. 1984. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression. *J. Econ. Entomol.* 77(4):833-837.

Rubio D., B. F. 2014. Efecto repelente y capacidad insecticida de extractos del fruto verde de *Melia azedarach* L. sobre *Reticulitermes flavipes* Kollar (Isoptera: Rhinotermitidae). Memoria de Ingeniero Forestal. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. 46p.

Sandoval, P. 2006. Búsqueda de plantas con propiedades fungicida/fungistáticas para el control *in vitro* de *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. Memoria de Ingeniero Agrónomo. Chillán, Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. 26p.

Sfeir, J. 1990. Evaluación de la fitomasa y metabolitos de interés comercial en boldo (*Peumus boldus* Mol.), quillay (*Quillaja saponaria* Mol.) y eucaliptos (*Eucalyptus* spp.) en la VII Región. Memoria de Ingeniero Forestal. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 83p.

Silva, G., Pizarro, D., Casals, P. y Berti, M. 2003. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *R. bras. Agrociência* 9: 383-388.

Silva, G., Orrego, O., Hepp, R. y Tapia, M. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesq. Agropec. Bras.* 40(1): 11-17.

Silva, A., G.I. 2010. Actividad de polvo, extractos y aceite esencial de *Peumus boldus* Molina solos y en mezcla con *Bacillus thuringiensis* Berliner contra *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) y

Helicoverpa zea (Boddie). Tesis de Doctor en Ciencias. Montecillo, Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. 163p.

Vargas, J. y Encinas, O. 2003. Antioxidantes y biopreservantes para madera a partir de la corteza de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Mor. En: XII Congreso Forestal Mundial. Quebec, Canadá. Ministerio de Recursos Naturales, Fauna y Parques de Quebec y FAO pp. s.p.

Vogel, H., Razmilic, I. y Doll, U. 1997. Contenido de aceites esenciales y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo (*Peumus boldus* Mol.). Ciencia e investigación Agraria 24:1-6.

Vogel, H., Razmilic, I., Muñoz, P., Doll, U. and San Martín, J. 1999. Studies of genetic variation of essential oil and alkaloid content in Boldo (*Peumus boldus*). Planta Médica 65:90-91.

Webster, J. 1986. Introduction to Fungi. 2nd Ed. Reprint. Cambridge University Press. Cambridge, Inglaterra. 669p.

Winandy, J. and Morrel, J. 1993. Relationship between incipient decay, strength, and chemical composition of Douglas-fir heartwood. Wood and Fiber Science 25(3): 278-288.

USDA (United States Department of Agriculture), 2015. Fungal Database. [En línea] <<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>> [Consulta: 25 Junio 2015]

Zapata, N., Budia, F., Silva, G., Viñuela, E. y Medina, P. 2006. Actividad antialimentaria de *Maytenus boaria* Mol., *Peumus boldus* Mol. y *Quillaja saponaria* Mol. sobre *Spodoptera littoralis* (Boisd.) Bol. San. Veg. Plagas 32: 125-135.

APÉNDICES

I. Análisis estadístico 1

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la pérdida de peso promedio causada por ataque fúngico de *G. trabeum* bajo tratamientos con extracto de hojas de *P. boldus*.

		Concentraciones (% p/v)			
		Testigo	1	2	3
Pérdida de peso promedio (%)		22,25	21,25	21,05	19,04
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	3	0,004	0,001	0,554	0,0002
Dentro de los grupos	16	4,523	0,003		
Total (Corr.)	19	4,527			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo	a
1	a
2	a
3	a

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha= 0,05$).

II. Análisis estadístico 2

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la pérdida de peso promedio causada por ataque fúngico de *T. versicolor* bajo tratamientos con extracto de hojas de *P. boldus*.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo	1	2	3	
Pérdida de peso promedio (%)	26,98	24,56	22,38	19,3	
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	3	0,034	0,011	0,946	0,135
Dentro de los grupos	16	0,191	0,012		
Total (Corr.)	19	0,225			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo	a
1	a
2	a
3	a

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

III. Análisis estadístico 3

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la pérdida de peso promedio causada por ataque fúngico de *G. trabeum* bajo tratamientos con extracto de hojas de *Q. saponaria*.

		Concentraciones (% p/v)			
		Testigo	1	2	3
Pérdida de peso promedio (%)		22,25	21,19	19,57	18,71
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	3	0,007	0,002	0,615	0,039
Dentro de los grupos	16	0,064	0,004		
Total (Corr.)	19	0,071			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo	a
1	a
2	a
3	a

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

IV. Análisis estadístico 4

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la pérdida de peso promedio causada por ataque fúngico de *T. versicolor* bajo tratamientos con extracto de hojas de *Q. saponaria*.

		Concentraciones (% p/v)			
		Testigo	1	2	3
Pérdida de peso promedio (%)		26,98	21,58	17,59	10,22
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	3	0,143	0,048	2,093	0,178
Dentro de los grupos	16	4,234	0,023		
Total (Corr.)	19	4,377			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo	a
1	a
2	a
3	a

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

V. Análisis estadístico 5

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto acuoso de hojas de *P. boldus*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición indirecta.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo agua	Testigo inanición	1	2	3
Mortalidad promedio (%)	33,49	38,6	46,5	53,93	69,62
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	0,446	0,111	6,755	0,529
Dentro de los grupos	20	0,33	0,017		
Total (Corr.)	24	0,776			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo agua	a
Testigo inanición	a
1	a
2	ab
3	b

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto etanólico de hojas de *P. boldus*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición indirecta.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo etanol	Testigo inanición	1	2	4
Mortalidad promedio (%)	41,28	40,46	47,94	55,75	66,08
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	0,261	0,065	8,847	0,334
Dentro de los grupos	20	0,148	0,007		
Total (Corr.)	24	0,409			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo etanol	a
Testigo inanición	a
1	a
2	ab
4	b

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

VI. Análisis estadístico 6

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto acuoso de hojas de *Q. saponaria*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición indirecta.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo agua	Testigo inanición	1	3	6
Mortalidad promedio (%)	45,55	39,3	46,03	50,14	69,42
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	0,295	0,074	4,02	0,404
Dentro de los grupos	20	0,367	0,018		
Total (Corr.)	24	0,662			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo agua	a
Testigo inanición	ab
1	ab
3	ab
6	b

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto etanólico de hojas de *Q. saponaria*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición indirecta.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo etanol	Testigo inanición	1	2	4
Mortalidad promedio (%)	34,5	33,27	45,93	51,93	57,7
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	0,24	0,06	7,26	0,547
Dentro de los grupos	20	0,165	0,008		
Total (Corr.)	24	0,405			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo etanol	a
Testigo inanición	a
1	ab
2	b
4	b

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

VII. Análisis estadístico 7

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto acuoso de hojas de *P. boldus*, al día 11 de evaluación en prueba de exposición directa.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo agua	Testigo inanición	1	2	3
Mortalidad promedio (%)	22	22	52	62	82
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	1,618	0,405	33,456	0,02
Dentro de los grupos	20	0,242	0,012		
Total (Corr.)	24	1,86			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo agua	a
Testigo inanición	a
1	b
2	b
3	c

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto etanólico de hojas de *P. boldus*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición directa.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo etanol	Testigo inanición	1	2	4
Mortalidad promedio (%)	16	16	42	58	72
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	1,937	0,484	18,691	0,252
Dentro de los grupos	20	0,518	0,026		
Total (Corr.)	24	2,455			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo etanol	a
Testigo inanición	a
1	b
2	c
4	d

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

VIII. Análisis estadístico 8

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto acuoso de hojas de *Q. saponaria*, al día 14 de evaluación en prueba de exposición directa.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo agua	Testigo inanición	1	3	6
Mortalidad promedio (%)	38,2	36,87	46,7	59,39	64
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	0,342	0,085	8,714	0,517
Dentro de los grupos	20	0,196	0,01		
Total (Corr.)	24	0,538			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo agua	a
Testigo inanición	a
1	ab
3	b
6	b

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Análisis estadístico de un factor (concentración) de la mortalidad causada por el extracto etanólico de hojas de *Q. saponaria*, al día 10 de evaluación en prueba de exposición directa.

	Concentraciones (% p/v)				
	Testigo etanol	Testigo inanición	1	2	4
Mortalidad promedio (%)	18	20	46	56	68
Fuentes de variación	gl	SC	CM	Razón F	Probabilidad
Entre grupos	4	1,116	0,279	39,788	0,012
Dentro de los grupos	20	0,14	0,007		
Total (Corr.)	24	1,256			

Prueba de comparación de Tukey

Concentraciones (% p/v)	Resultados
Testigo etanol	a
Testigo inanición	a
1	b
2	b
4	c

Concentraciones con igual letra en la columna no tienen diferencia significativa según la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).