UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

Proyecto de investigación previo a la obtención de título de Ingeniero Agrónomo.

Título del Proyecto de Investigación:

Evaluación de tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) en condiciones de laboratorio

Autor:

Espinoza Zambrano Gema Monserrate.

Directora de tesis:

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2020

DECLARACION DE AUDITORIA Y SESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Gema Monserrate Espinoza Zambrano,** declaro que el trabajo aquí descrito es de mi auditoria; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacerse uso de los derechos correspondiente a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

_____

Gema Monserrate Espinoza Zambrano

CERTIFICACIÓN DE CULMINACION DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La suscrita, Dra. **Mayra Carolina Vélez Ruiz**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Gema Monserrate Espinoza Zambrano,** realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado "**Evaluación de tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero del maíz** (*Spodoptera frugiperda*), **en condiciones de laboratorio**", previo a la obtención del título de **Ingeniera Agrónoma,** bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

_____

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz

DIRECTORA DE TESIS

TRIBUNAL DE TESIS

UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

PROYECTO DE INVESTIGACION

Título:

"Evaluación de tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*), en condiciones de laboratorio"

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma.

Aprobado por:

_____

Ing. Ramiro Gaibor Fernández
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

_____	_____
Ing. Cesar Bermeo Toledo	Dr. Daniel Vera Avilés
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS	MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2020

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios, por darme la oportunidad de haber estado durante cinco años en el estudio de esta carrera, por todos esos momentos que me han ayudado a crecer en lo personal y profesional.

A mis padres y hermana que con su trabajo, entusiasmo y amor fueron parte de ese plan divino para que yo pueda cumplir con un logro más en mi vida, y por toda la confianza depositada que hoy se traduce en un logro más para la familia.

A mis profesores por haberme guiado en mis estudios y ser pieza fundamental en todos los conocimientos adquiridos. En especial al Ing. Jorge Mendoza por su ayuda y colaboración en la elaboración de esta investigación, Ing. Ramiro Gaibor Fernández y a la Dra. Mayra Vélez Ruiz por el apoyo y guía en la elaboración de este trabajo.

A los compañeros que estuvieron presentes en diferentes situaciones, y que de alguna manera fueron pieza clave en todo este camino recorrido.

Y por último y no menos importante a la carrera de Agronomía que me enseñó a trabajar la tierra, a conocerla y saber cuan importantes es para nosotros.

A todos ustedes gracias infinitas.

Gema Espinoza

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por ser el ser dador de vida, a mis padres: la Sra. Aracely Zambrano y el Sr. Yonny Espinoza por su apoyo incondicional a mis familiares que de una u otra manera estuvieron presente a lo largo de esta trayectoria, que puedo decir no fue fácil pero tampoco imposible gracias al apoyo de todos ustedes.

Hace cinco años empecé esta aventura y ahora todo se convierte en el fin de la misma y este trabajo también me lo de dedico a mí como símbolo de esfuerzo y dedicación.

Gema Espinoza

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cultivos sembrados a nivel mundial, se lo utiliza principalmente en la alimentación humana y animal (balanceados); sin embargo, los rendimientos de este cultivo pueden ser perjudicados debido a la presencia de insectos plagas, como, el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Estudios sobre el uso de bioinsecticidas a base de plantas han demostrado su eficiencia en el control de plagas incluyendo el gusano cogollero, sin embargo, se desconoce el potencial de algunas especies de plantas en poblaciones de *S. frugiperda* en la región, por este motivo, el siguiente estudio tiene como objetivo: Evaluar el efecto de tres bioinsecticidas en la etapa larvaria del gusano cogollero, como medida de control en el cultivo de maíz. El presente estudio fue desarrollado en condiciones controladas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Larvas de *S. frugiperda* fueron alimentadas con hojas de maíz tratadas con bioinsecticida de neem (dosis: 5.62; 7.5; 9.37 cc); de tabaco (dosis: 37.5; 50; 62.5 cc); de árbol paraíso (dosis: 75; 100; 125 cc) y con agua destilada (tratamiento control). Los bioinsecticidas de neem (dosis: 9.37 cc), tabaco (dosis: 62.5 cc) y árbol paraíso (dosis: 100-125 cc) presentaron porcentajes de eficacia del 96%; 71% y 46%, permitiendo el control del 90%, 70% y 50% de larvas de *S. frugiperda* respectivamente. El tiempo letal medio (TL50) evaluado en larvas de *S. frugiperda* expuesta al bioinsecticida neem (dosis: 9.37 cc y 7.5 cc) y en el bioinsecticida de hojas de tabaco (dosis: 62.5 cc.) fue de 192 horas. No fue posible determinar el TL50 en el bioinsecticida de árbol paraíso porque no causó la mortalidad del 50% de los individuos evaluados. Los resultados obtenidos sugieren que los bioinsecticidas de hojas de neem aplicados en dosis de: 9.37 cc y de hojas de tabaco aplicados en dosis de: 62.5 cc, mostraron mayor eficiencia en el control del gusano cogollero demostrando su potencial en el control de esta plaga en condiciones controladas. Investigaciones en campos de maíz son necesarias.

Palabras Claves: Extracto vegetal, neem, tabaco, control de plagas, maíz.

ABSTRACT

Zea mays L. corn is one of the main crops planted worldwide, it is mainly used by human and animal feeding; However, the yields of this crop can be impaired due to the presence of insect pests, such as the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). Studies on the use of plant-based bioinsecticides have demonstrated their efficiency in the control of pests including the worm bud, butt, the potential of some plant species in populations of *S. frugiperda* in the region is unknown. For this reason, the following study aims to evaluate the effect of three bioinsecticides in the larval stage of the cogollero worm, as a control measure in the cultivation of corn. The present study was developed under controlled conditions in the microbiology laboratory of the State Technical University from Quevedo. *S. frugiperda* larvae were fed corn leaves treated with neem bioinsecticide (dose: 5.62; 7.5; 9.37 cc); of tobacco (dose: 37.5; 50; 62.5 cc); of paradise tree (dose: 75; 100; 125 cc) and with distilled water (control treatment). The bioinsecticides of neem (dose: 9.37 cc), tobacco (dose: 62.5 cc) and paradise tree (dose: 100-125 cc) presented 96% efficacy percentages; 71% and 46%, allowing control of 90%, 70% and 50% of *S. frugiperda* larvae respectively. The mean lethal time (TL50) evaluated in larvae of *S. frugiperda* exposed to the neem bioinsecticide (dose: 9.37 cc and 7.5 cc) and in the bioinsecticide of tobacco leaves (dose: 62.5 cc.) was 192 hours. It was not possible to determine the TL50 in the paradise tree bioinsecticide because it did not cause the mortality of 50% of the individuals evaluated. The results suggest that the bioinsecticides of neem leaves applied in doses of: 9.37 cc, and of tobacco leaves applied in doses of: 62.5 cc, showed greater efficiency in the control of the worm bud demonstrating its potential in the control of this pest in controlled conditions. Investigations in cornfields are necessary.

Keywords: Vegetable extract, neem, tobacco, pest control, corn

CÓDIGO DUBLIN

Título:	Evaluación de tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*), en condiciones de laboratorio				
Autor:	Espinoza Zambrano Gema				
Palabras clave:	Extracto vegetal	Neem	Maíz	Control de plagas	Tabaco
Fecha de publicación:					
Editorial:					
Resumen:	El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cultivos sembrados a nivel mundial, se lo utiliza principalmente en la alimentación humana y animal (balanceados); sin embargo, los rendimientos de este cultivo pueden ser perjudicados debido a la presencia de insectos plagas, como, el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Estudios sobre el uso de bioinsecticidas a base de plantas han demostrado su eficiencia en el control de plagas incluyendo el gusano cogollero, sin embargo, se desconoce el potencial de algunas especies de plantas en poblaciones de *S. frugiperda* en la región, por este motivo, el siguiente estudio tiene como objetivo: Evaluar el efecto de tres bioinsecticidas (Neem, *Azadirachta indica*); árbol paraíso (*Melia azedarach*); tabaco (*Nicotiana tabacum*) en la etapa larvaria del gusano cogollero, como medida de control en el cultivo de maíz. El presente estudio fue desarrollado en condiciones controladas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Larvas de *S. frugiperda* fueron alimentadas con hojas de maíz tratadas con bioinsecticida de neem (dosis: 5.62; 7.5; 9.37 cc); de tabaco (dosis: 37.5; 50; 62.5 cc); de árbol paraíso (dosis: 75; 100; 125 cc) y con agua destilada (tratamiento control). Los bioinsecticidas de neem (dosis: 9.37 cc), tabaco (dosis: 62.5 cc) y árbol paraíso (dosis: 100-125 cc) presentaron porcentajes de eficacia del 96%; 71% y 46%, permitiendo el control del 90%, 70% y 50% de larvas de *S. frugiperda* respectivamente. El tiempo letal medio (TL50) evaluado en larvas de *S. frugiperda* expuesta al bioinsecticida neem (dosis: 9.37 cc y 7.5 cc) y en el bioinsecticida de hojas de tabaco (dosis: 62.5 cc.) fue de 192 horas. No fue posible determinar el TL50 en el bioinsecticida de árbol paraíso porque no causó la mortalidad del 50% de los individuos evaluados. Los resultados obtenidos sugieren que los bioinsecticidas de hojas de neem aplicados en dosis de: 9.37 cc y de hojas de tabaco aplicados en dosis de: 62.5 cc, mostraron mayor eficiencia en el control del gusano cogollero demostrando su potencial en el control de esta plaga en condiciones controladas. Investigaciones en campos de maíz son necesarias.				
Descripción:					
URI:					

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Declaración de auditoria y sesión de derechos ii
Certificación de culminacion del proyecto de investigación III
Tribunal de tesis IV
Agradecimiento V
Dedicatoria VI
Resumen VII
Abastract VIII
Código dublin IX
Índice de contenidos X
Índice de figuras XIII
Índice de anexos XIV
Índice de tablas XV
Introducción 1

CAPITULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación 3
1.1.1 Planteamiento del problema 3
1.1.2. Formulación del problema 3
1.1.3. Sistematización del problema 4
1.2. Objetivos 5
1.2.1. Objetivogeneral 5
1.2.2. Objetivosespecíficos 5
1.3. Justificación 6

CAPITULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual 8
2.1.1. Bioinsecticida 8
2.1.2. Extracto vegetal 8
2.1.3. Control biológico 8
2.2. Marco referencial 9
2.2.1. El cultivo de maíz 9
2.2.2. Origen 9

2.2.3. Descripción botánica 9
2.2.4. Clasificación taxonómica 10
2.2.5. Plagas del cultivo de maíz 11
2.2.6. Origen y distribución del gusano cogollero 12
2.2.6.1. Clasificación taxonómica 12
2.2.6.2. Ciclo biológico 12
2.2.6.3. Hábito y daño 14
2.2.6.4. Métodos de control 14
2.2.6.5 Bioinsecticidas 15
2.2.6.6. Modo de acción de los bioinsecticidas 15
2.2.6.7. Métodos de extracción de ingrediente activo. 17

CAPITULO III. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización del experimento 21
3.2. Tipos de investigación 21
3.3. Método de investigación 21
3.4. Fuente de recopilación de información 21
3.5. Diseño de la investigación 21
3.6. Instrumentos de investigación 22
3.6.1. Factores en estudio 22
3.6.2. Tratamientos en estudio 22
3.6.3. Descripción de los tratamientos 22
3.6.4. Manejo del experimento 23
3.6.4.1. Cría de *spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio 23
3.6.5. Registro de datos y forma de evaluación 26
3.7. Tratamiento de los datos 27
3.8. Recursos humanos y materiales 27
3.8.1. Recursos humanos 27
3.8.2. Material genético 28
3.8.3. Herramientas y equipos 28
3.8.4. Insumos de oficina 28

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Resultados 30

4.1.1. Total de insectos vivos al final del ensayo 30
4.1.2. Curvas de probabilidad de supervivencia y tl50 por bioinsecticida aplicado en diferentes dosis. 31
4.1.3. Porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas 33
4.2. Discusión 35

CAPITULO V. CONCLUCIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones 40
5.2. Recomendaciones 41

CAPITULO VI. BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía 43

CAPITULO VII. ANEXOS

7.1. Anexos 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medianas del número de individuos vivos de *S. frugiperda* a las 192 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos. medianas con letra común no sonsignificativamente diferente (p>0.05). 30

Figura 2. Curvas de supervivencia de larvas de *S. frugiperda* expuestas al bioinsecticida de neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis. 31

Figura 3. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas del árbol paraíso (*Melia azedarach*). 32

Figura 4. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas del árbol paraíso *Melia azadarach*..... 32

Figura 5. Porcentaje de eficacia de bioinsecticidas en larvas de *S. frugiperda* en diferentes dosis. barras de color azul pertenecen a resultados de: bioinsecticida elaborado con *A. indica*, barras naranjas a bioinsecticida de: *M. azedarach* y amarillas al bioinsecticida: de *N. tabacum*. medias con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)..... 34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Adeva del porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas en diferentes dosis hasta las 192 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas. 51
Anexo 2. Colecta de larvas de *Spodoptera frugiperda* en cultivo de maíz. 51
Anexo 3. cría de larvas de *Spodoptera frugiperda.*obtenidas de la colecta en campo de maíz. 52
Anexo 4. Pupas obtenidas en condiciones controladas. 52
Anexo 5. Mariposa de *spodoptera frugiperda* recién emergida. 53
Anexo 6. Reactivos e ingredientes usados en la preparación de la dieta artificial usada en la cría de *Spodoptera frugiperda.* 53
Anexo 7. Jaula de apareamiento y oviposición elaborada con tubo pvc. 54
Anexo 8. Masa de huevos recién ovipositadas sobre papel despacho. 54
Anexo 9. Solidificación de dieta para larvas de spodoptera frugiperda después de un periodo de 12 horas. 55
Anexo 10. Distribución de dietas para larvas recién emergidas. 55
Anexo 11. Elaboración de bioinsecticida, utilizando la técnica de baño maría. 56
Anexo 12. Obtención del bioinsecticida de neem (*Azadirachta indica*)..... 56
anexo 13-. Smersión de hojas frescas de maíz, en bioinsecticida. 57
Anexo 14. Mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* expuestas a bioinsecticidas.... 57
Anexo 15. Curvas de supervivencia de larvas de *S. frugiperda* expuestas al bioinsecticida de neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis. 58
Anexo 16. Ttiempo letal medio (tl50), de larvas de *S. frugiperda* expuestas al bioinsecticida neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis. medias con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05). 58
Anexo 17. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*s. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas del árbol paraíso (*Melia azedarach*)……..59
Anexo 18. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*s. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*)..... 59
Anexo 19. Tiempo letal medio (tl50), de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*) expuesto a bioinsecticida elaborado con hojas de tabaco (*Nicotiana*

tabacum) en diferentes dosis. medias con una letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)……..60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esquema del análisis de varianza (adeva). 22

INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz (*Zea mays*), desde tiempos antiguos se lo ha considerado uno de los principales cultivos de América Latina, su procedencia es en México donde se han encontrado aproximadamente 2000 especies, mientras que en Ecuador se han descrito 29 razas, de estas 17 corresponden a maíz Andino y las sobrantes a maíces de la zona tropical (Guacho, 2014).

En el Ecuador el maíz es considerado un producto de gran importancia económica ya que está destinado al consumo humano, animal y uso en la agroindustria Quiroz y Merchán, (2016). Según el Instituto Nacional de Estadística y Censo INEC, (2018), para el periodo 2018 el maíz duro seco con el 13 % de humedad obtuvo una producción de (5.93 t/ha.), con un total de superficie cultivada de 255.376 ha.

El cultivo de maíz, así como otros cultivos de importancia económica son amenazados por diferentes plagas las cuales pueden causar pérdidas considerables en la producción. Una de estas plagas es el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), esta plaga pertenece al orden Lepidoptera, y su hábito alimenticio es de tipo polífago, es considerada como plaga clave del cultivo de maíz. Los daños producidos por el gusano cogollero pueden afectar los rendimientos del cultivo de maíz en un 40%.

El control del gusano cogollero se ha convertido en una labor difícil, costosa debido al uso desmedido y la mala aplicación de insecticidas químicos que además de causar efectos directos sobre la salud del medio ambiente y del ser humano también favorecen la resistencia de esta plaga, encareciendo cada vez más los costos de control.

En búsqueda de alternativas ecológicas amigables y que además permitan el control de insectos plaga en los cultivos se encuentran los insecticidas de origen botánico los cuales, podrían ser considerados como una herramienta biológica para el control de *S. frugiperda.*

Varias especies de plantas presentan en su composición sustancias con actividades insecticidas, así por ejemplo el neem (*Azadirachta indica*), árbol del paraíso (*Melia azedarach*) y el tabaco (*Nicotiana tabacum*); inclusive existen reportes sobre el efecto insecticida de estas especies en el contro de *Bemisia tabaci* en los cultivos de tomate,

Empoasca fabae en cultivo de frejol, *Thrips* en cultivos de pepino, control de larvas de *Diaphania hyalinata* en cultivos de melón López y Estrada, (2005), entre otros; sin embargo, muy poco se conoce sobre la eficiencia y dosis adecuada de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero.

Considerando lo expuesto anteriormente la siguiente investigación propone evaluar el efecto de tres bioinsecticidas, neem, árbol del paraíso y tabaco, en condiciones de laboratorio para el control de larvas de *S. frugiperda*, determinar la eficacia de los tres extractos vegetales, evaluar la dosis que pueda causar la mortalidad de las larvas y verificar el tiempo letal medio (TL50) de los tres bioinsecticidas en individuos de *S. frugiperda.*

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) es una plaga que ataca severamente a varios cultivos, sin embargo, el maíz es considerado uno de los cultivos más afectados y al que mayor atención se le coloca debido a la importancia alimenticia y económica que representa.

El gusano cogollero como un daño inicial provoca raspaduras en las hojas tiernas, que después de un tiempo se muestran como áreas traslucidas, posteriormente, afecta al cogollo de la planta, y al desplegarse el follaje se detectan perforaciones en la lámina foliar, en esta fase se puede observar los excrementos de la plaga el cual tiene apariencia de aserrín. Se ocasiona un daño severo cuando la larva produce daños en la inflorescencia del cultivo de maíz. Las pérdidas ocasionadas por el gusano cogollero depende del nivel de daño.

El control del gusano cogollero está basado en el uso intensivo de insecticidas sintéticos altamente tóxicos que repercuten en la salud del hombre y del agro ecosistema, además han sido reportados registros de resistencia del gusano cogollero a varios insecticidas, lo que dificulta cada vez más su control. El uso de bioinsecticidas puede tornarse en una alternativa para el control o manejo integral de poblaciones de gusano cogollero, sin embargo, se conoce muy poco sobre el grado de eficiencia y dosis adecuadas de los bioinsecticidas a base de neem, árbol del paraíso y tabaco para el control de esta plaga, estudios que demuestren su eficiencia son necesarios.

Los bioinsecticidas han demostrado ser eficiente contra una serie de plagas en la agricultura y podrían ser considerados como una medida de control para el gusano cogollero en el cultivo de maíz. Estudios sobre el grado de eficiencia y dosis adecuadas de los bioinsecticidas son necesarios.

1.1.2. Formulación del problema

¿Qué bioinsecticida y en qué dosis muestra la mayor eficacia en el control de larvas del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*)?

1.1.3. Sistematización del problema

¿Cuál es el bioinsecticida que causa mayor mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*?

¿Qué dosis es la más adecuada para causar la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda*?

¿Cuál es el tiempo letal medio (*TL50*) que presentan los tres bioinsecticidas en estudio en larvas de *Spodoptera frugiperda?*

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de tres bioinsecticidas en la etapa larvaria del gusano cogollero, como medida de control en el cultivo de maíz.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la eficacia de tres extractos vegetales para el control de larvas de *S. frugiperda.*

- Evaluar la dosis que pueda causar la mortalidad de larvas de *S. frugiperda.*

- Verificar el tiempo letal medio (TL50) de tres bioinsecticidas en individuos de *S. frugiperda*

1.3. Justificación

El maíz es uno de los cultivos de mayor importancia en el país, no solo por formar parte de la dieta diaria de la población ecuatoriana sino, también por ser una de las principales fuentes de ingresos económicos. El correcto manejo de plagas en el cultivo es fundamental para alcanzar altos rendimientos y así mejorar los niveles de rentabilidad en el cultivo de maíz.

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) es una de las principales plagas del cultivo de maíz, su control prioriza el uso de insecticidas altamente tóxicos. El uso indiscriminado de estos insecticidas químicos para el control del gusano cogollero, ocasiona problemas de salud, altera las poblaciones de enemigos naturales, fauna y flora asociada, así como también ocasiona graves problemas de contaminación.

Una de las principales preocupaciones al utilizar los insecticidas sintéticos es el efecto de resistencia que continuamente va mostrando el insecto. Las altas infestaciones de esta plaga en el cultivo de maíz conllevan al uso prolongado de insecticidas químicos con dosis superiores a las indicadas, causando desequilibrio biológico y la dificultad de control y manejo de poblaciones resistentes.

El mal manejo de los insecticidas de los grupos organoclorados, piretroides y carbamatos para el control del gusano cogollero produce en las poblaciones de esta plaga diferentes grados de tolerancia y resistencia. La dificultad de manejar poblaciones resistentes repercute en un aumento de la frecuencia de aplicación de estos productos resultando en una reducción de suceptibilidad del insecto a los insecticidas más utilizados para su control.

En la búsqueda de alternativas promisorias para controlar esta plaga, se destaca el uso de los bioinsecticidas a base de extractos vegetales de las hojas del árbol de neem, árbol del paraíso y tabaco. Los bioinsecticidas son amigables con el ambiente, con la salud del hombre, no existen registros de resistencia de plagas y además, son capaces de causar efectos directos (mortalidad del insecto, influir en su crecimiento, la alimentación y producción de huevos) sobre poblaciones de insectos, este trabajo podría ser de beneficio para pequeños agricultores y estudiantes.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual

2.1.1. Bioinsecticida

La palabra bioinsecticida es usada en el campo científico para aludir a sustancias orgánicos (vivas) que se usa para el control de las plagas, está compuesta con el griego βioc (bios = vida), el latín *insectus* (insecto) y el elemento latino *cida* (el que mata). La industria de los bioinsecticidas incluye organismos entomopatogenos y entomofagos, además de compuestos con actividad insecticida derivados de plantas (Padilla, 2017).

Se define un biopesticida como cualquier pesticida de origen biológico; es decir los organismos vivos o las sustancias de origen natural sintetizados por ellos. Con mayor generalidad, se define como todo producto para la protección de los vegetales que no se ha obtenido por vía química (Terron, 2004).

Los pesticidas orgánicos son aquello que en su elaboración solo se utilizan insumos naturales. Una buena parte de los pesticidas orgánicos se realizan en base a extractos de plantas (INNATIA, 2010).

2.1.2. Extracto vegetal

Mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología (Zapata, 2002).

2.1.3. Control biológico

Es una forma de manejar poblaciones de animales o plantas. Consiste en el uso de uno o más organismos para reducir la densidad de una planta o animal que causa dalo al hombre. Así el control biológico puede definirse como el uso de organismos benéficos (enemigos naturales) contra aquellos que causan daño (plagas) (Estrada, 2008).

2.2. Marco referencial

2.2.1. El cultivo de maíz

El litoral ecuatoriano es la región con mayor producción de maíz duro del país. Debido a su importancia económica y social, este es un producto importante dentro de la seguridad alimentaria, ya que participa en la alimentación de la población y además es usado como materia prima principal en la elaboración de alimentos para animales (Zambrano *et al*., 2017).

Las zonas de mayor producción se encuentran ubicadas en las provincias de Los Ríos con 70.007 ha, Manabí 49.9303, Guayas y el resto en la provincia de Loja. Es importante resaltar que el 90% de la siembra de maíz tiene lugar en la época lluviosa (INIAP, 2014).

2.2.2. Origen

El ancestro del maíz es una raza salvaje primitiva, cuyas semillas son individuales y están encerradas en una vaina o gluma, estas semillas probablemente extintas perecieron el proceso de hibridación con el tripsaco (*Tripsacum* sp.) dando como resultado el teosinte (Mangelsdorf, 1950).

El origen del maíz ha enfrentado múltiples debates. En algunas investigaciones asientan que esta gramínea tiene su origen en México. Como el resultado de una mutación en una variedad llamada Teosinte y por selección produjeron algunas variedades mutantes. En Ecuador se cree que el cultivo de maíz se desarrolló aproximadamente hace 6 500 años, según investigaciones realizadas a partir de fotolitos en muestras de tierra, revelan que la Península de Santa Elena, los antiguos habitantes de la cultura “Las Vegas” empezaron a cultivar esta gramínea desarrollando de esta manera el inicio de una incipiente horticultura (Guacho, 2014).

2.2.3. Descripción botánica

El maíz es una planta monocotiledónea, perteneciente a la familia Poaceas, de la tribu Maydeas, (Sánchez, 2014).

Raíz.- Su sistema radicular es fasciculado, a diferencia de otros cereales destaca un tercer sistema de raíces aéreas o adventicias que nacen por encima del nivel del suelo, y que sirven para sujetar la planta al suelo, los otros dos sistemas de raíces, a pesar de ser bastante desarrollados, no ejercen una buena fijación de la planta (Carrera, 2005).

Tallo.- El tallo está constituido por nudos y entrenudos, la atura puede ser variable. La parte inferior y subterránea del tallo y la corona, poseen entrenudos de los cuales salen los tallos laterales. En los entrenudos siguientes, en especial en las plantas jóvenes existen una zona de crecimiento activo o intercalar ubicada en la parte inferior del entrenudo, de una longitud menor a 0.5 mm de ancho, en la que se producen tejidos nuevos, (Cabascango, 2011).

Hojas.- Las hojas están constituidas por vaina cuello y lámina. La vaina es una estructura cilíndrica abierta hasta la base, que sale de la parte superior del nudo, mientras que el cuello es la zona de transición entre la vaina envolvente y la lámina abierta. La lamina es una banda angosta y delgada de hasta 1.5 m de largo por 10 cm de ancho que termina en un ápice muy agudo. El nervio central está bien desarrollado, es prominente en el envés de la hoja y cóncavo en la parte superior (Vasco, 2001).

Flor.- Es una planta monoica de flores unisexuales, que presentan flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta. Las flores estaminadas o masculinas están representadas por la espiga y las postiladas o femeninas son mazorcas (Serna, 2009).

2.2.4. Clasificación Taxonómica

Clasificación taxonómica (Serna, 2009):

Reino	: Vegetal
Clase	: Angiospermae
Orden	: Monocotyledoneae
Familia	: Poales
Género	: *Zea*
Especie	: *mays*
Nombre científico	: *Zea mays* L.

2.2.5. Plagas del cultivo de Maíz

El cultivo de maíz se le atribuye algunas plagas de interés económico, las cuales atacan a diferentes áreas de la planta, las siguientes son las de mayor interés agrícola.

a) Barrenador de tallo (*Diatraea saccharalis*).- El barrenador del tallo tiene una metamorfosis completa, tan pronto como los huevos eclosionan, las larvas se desplazan hacia el cogollo o las vainas de las hojas, en donde esqueletizan parte de la hoja dejando solamente la cutícula. Las larvas mayores perforan completamente las hojas, posteriormente por su hábito de perforar penetran el tallo haciendo orificios en el entrenudo o los nudos del tallo, en donde pasan la mayor parte de su estado larvario y pupal.

Se ha observado que el barrenador ataca a todas las partes de la planta: hojas, tallos, mazorca y base de la inflorescencia masculina; excepto las raíces fibrosas y la nervadura central de las hojas. Los túneles o galerías ocasionadas por las larvas, reducen el vigor de la planta y el tamaño de las mazorcas. Las plantas afectadas están predispuestas al acame (Páliz y Mendoza, 1999).

b) Chicharrita (*Dalbulus maydis*).- Los adultos y las ninfas chupan la savia en la base de las hojas y pueden causar amarillamiento, pero su principal importancia estriba en que son transmisores de los virus que causan achaparramiento y el rayado fino del maíz (Flores, 2006).

c) Gallina ciega (*Phyllophaga* spp.).- El daño que causan las larvas de esta especie se manifiesta primero en plántulas marchitas y después en zonas con baja población de plantas inclinadas, curvas o acamadas que crecen en forma irregular. Las plantas lesionadas se arrancan con facilidad el daño de los adultos (escarabajos mayates) provocan alimentarse de las hojas de maíz u otras plantas que no tienen importancia económica (Ortega, 2015).

d) Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).- El gusano cogollero es un insecto de importancia económica del cultivo de maíz de Ecuador y otros países americanos. Es una especie que se la encuentra causando problemas en los trópicos y zonas subtropicales del clima cálido.

2.2.6. Origen y distribución del gusano cogollero

El gusano cogollero es originario de los trópicos del continente americano, incluyendo las islas del Caribe y del Pacifico. Se considera ampliamente distribuido en este continente, y se ha reportado su existencia en Canadá, Estados Unidos, México, El Salvador, Perú, Chile, Ecuador, Brasil, Jamaica, etc.

2.2.6.1. Clasificación taxonómica

El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fue descrito por primera vez por J.E. Smith en el año 1852 y se han considera algunas modificaciones posteriores a su clasificación, finalmente se ubicó dentro del género *Spodoptera* (Levy y Habeck, 1976).

Reino : Animal
Phylum : Arthropoda
Clase : Insecta
Orden : Lepidoptera
Familia : Noctuidae
Género : *Spodoptera*
Especie : *frugiperda*
Nombre científico : *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith**.**

2.2.6.2. Ciclo biológico

El gusano cogollero tiene un ciclo que concluye aproximadamente a los 30 días (cuando existen temperaturas de 28 °C), pero en temperaturas frías su ciclo se puede alargar por 60 – 90 días. *S frugiperda* no tiene un periodo de diapausa (periodo biológico); las infestaciones del gusano cogollero se dan durante todo el año donde la plaga es endémica (Prasanna *et al.*, 2018). El gusano cogollero sufre una metamorfosis completa pasando por sus etapas: huevo, larva, pupa, adulto (mariposa/polilla).

Huevo o postura.- El huevo tiene forma de cúpula, la base se aplana y el huevo se curva hacia arriba, mide unos 0.4 mm de diámetro y 0.3 mm de altura.

El número de huevos por masa varía considerablemente, pero a menudo es de 100 a 200, y la producción total de huevo por promedio de hembra alrededor de 500 con un máximo de más de 2 000, los huevos son depositados en capas, pero la mayoría de los huevos se extienden sobre una sola capa unida al follaje. La mariposa oviposita los huevos al caer la noche y en el haz y envés de la hoja protegiéndolo con una segregación que emana del aparato bucal y escamas de su cuerpo lo cual los protegen de los enemigos naturales y del ambiente desfavorable, la duración de la etapa de huevo es de 2 a 3 días (Chango, 2012).

Larva.- Guzmán, *et al*., (2016), manifiestan que, el gusano cogollero durante su vida larvaria atraviesa seis instares los cuales muestran el desarrollo de la larva hasta llegar a su estado de pupa.

- **Estadio larval 1 (L1).-** En este estadio la larva se encuentra recién emergida en donde su cabeza es más grande respecto de su cuerpo. Las vellosidades en todo su cuerpo son muy visibles. A medida que se desarrolla su cabeza se ajusta convenientemente a su cuerpo y las setas se tornan menos visibles.

- **Estadio larval 2 (L2).-** La larva cambia de estadio, su apariencia es transparente, y la tuberosidad de la cual se desprenden las setas se observan con mayor claridad. A medida que pasa el tiempo la larva desarrolla bandas antocianóticas en el costado.

- **Estadio larval 3 (L3).-** En este estadio empieza a desarrollar una coloración rojiza por todo su cuerpo. Con el desarrollo de la larva, se evidencia una banda oscura en el costado.

- **Estadio larval 4 (L4).-** En este estadio la larva presenta tubérculos casi incoloros. De igual forma, su cabeza presenta tonalidad clara. En este estadio, se define completamente la "Y" invertida o sutura epicraneal de la cabeza. Por otro lado, se demarcan anillos concéntricos en la zona torácica.

- **Estadio larval 5 (L5).-** La larva presenta un color café oscuro, al tiempo que sus setas (pelos) son muy poco visibles, adicionalmente en esta etapa, se desarrollan puntos organizados de forma lineal en cada segmento abdominal.

- **Estadio larval (L6).-** La larva en este estadio tiene una apariencia robusta, con una tonalidad brillante. Por otra parte, se observa una mancha rojiza en el primer segmento del tórax, la cual fácilmente puede identificarse en este estadio (Guzmán *et al.*, 2016).

Pupa (Crisálida).- Cuando las larvas obtienen su crecimiento definitivo, se encapsulan en una cubierta de cera que ellas mismas se proporcionan valiéndose de las glándulas de secreción, a este estado se le denomina pupa. La pupa tiene un color caoba y llega a medir de 14 a 17 milímetros de longitud, con su extremo abdominal que tiene una terminación en dos espinas o ganchos en forma de "U" invertida. Esta fase se desarrolla en el suelo y el insecto entra en periodo de latencia o inactividad durante 8 a 10 días posterior a eso aparece el adulto o mariposa también conocida como polilla (Rosales, 2016).

Adulto o mariposa.- En su etapa adulta, la hembra del gusano cogollero posee un color más oscuro que el macho. La cabeza y el tórax del adulto son de color amarillo oscuro u ocre palpos maxilares con manchas negruzcas, frente con manchas oscuras, vertex oscuro. Abdomen ocre con zonas oscuras y líneas segméntales pálidas. Penacho o cresta anal amarilla oscura, alas anteriores ocre con zonas oscuras y café rojizas; el área interior más pálida con una pequeña mancha blanquecina. Alas posteriores semi hialinas blancas (Páliz y Mendoza, 1999).

2.2.6.3. Hábito y daño

El gusano cogollero realiza raspadura en el área tierna de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translucidas; dependiendo del estadio larval en el que se encuentre empieza a comer follaje perfectamente en el cogollo que, al desplegarse, las hojas muestra una hilera regular de perforaciones a través de la lámina o bien áreas alargadas comidas. En esta fase es característico observar los excrementos de la larva en forma de aserrín (Negrete y Morales, 2003).

2.2.6.4. Métodos de control

El control del gusano cogollero se lo puede realizar integrando todos los métodos posibles de control: cultural, químico y biológico, o combinados con el fin de controlar dicho insecto en las plantaciones de maíz (Jiménez, 2009).

a) **Control cultural.-** La preparación del terreno, es una de las labores mecánica que ayuda a destruir huevos, larvas y pupas, dejando otra parte expuesta al sol y a la acción predadora de animales, aves e insectos. La rotación con cultivos no hospederos dificulta su propagación. La adecuada fertilización, humedad y eliminación de malezas aceleran el desarrollo de las plantas de maíz, disminuyendo los efectos del daño que pueden ocasionar los insectos (Páliz y Mendoza, 1999).

b) **Control Químico.-** Este método es el más utilizado en la agricultura moderna, es el uso de insecticida que tiene la capacidad de reprimir o prevenir el desarrollo de insectos plagas. El resultado de este método de control dependerá de su buen uso y manejo, mediante el uso racional del mismo. El control del gusano cogollero se lo puede realizar utilizando chlorpyrifos en dosis de 750 cc/Ha (Paliz y Mendoza, 1990).

c) **Control Biológico.-** Consiste en la acción de enemigos naturales contra las plagas. Dentro del grupo de enemigos naturales en los agroecosistemas encontramos a depredadores, insectos parásitos, hongos, bacterias, virus, nematodos, etc. Estudios propuestos por Gonzalez *et al*., (2015), demuestran la eficiencia de microorganismos como: *Bacillus thurigiensis* y *Beauveria bassiana* y de enemigos naturales como avispas parasitoides del género *Trichograma* para el control del gusano cogollero *S. frugiperda*., tornándose su uso como alternativas eficientes de control.

2.2.6.5 Bioinsecticidas

La industria de los bioinsecticidas incluye organismos entomopatogenos y entomófagos, además de compuestos con actividad insecticida derivados de plantas (aceite de neem, *Azadirachta indica,* metabolitos de actinomicetos (spinosinas), organismos y plantas transgénicas (Tamez et al., 2001).

2.2.6.6. Modo de acción de los bioinsecticidas

Los bioinsecticidas al igual que las moléculas químicas sintéticas poseen algunas características específicas que actúa en los insectos con una función insecticida para de esta manera realizar un control que sea eficiente y amigable con el ambiente y a su vez con el ser humano.

- **Repeler:** alejan a los insectos por medio de sustancias químicas desagradables que muestran en su composición.
- **Fago repelente:** disminuye la capacidad que tiene el insecto para alimentarse.
- **Veneno de contacto:** este tiene la peculiaridad de matar o debilitar el insecto al momento de entrar en contacto con el bioinsecticida.
- **Veneno estomacal:** tiene efecto tóxico contra el sistema digestivo de la plaga.
- **Combinación:** se puede combinar varias plantas para causar efectos adversos en especies plaga.

Dentro del conjunto de plantas que tienen efectos insecticidas, encontramos una serie de especies que desde tiempos antiguos y hasta la actualidad son usados como alternativa ecológica en el control de insectos plagas de importancia económica, así por ejemplo encontramos el árbol de neem, árbol del paraíso y el tabaco.

a) Neem (*Azadirachta indica*).- El árbol del Neem, es una especie oriunda de la India el cual se ha utilizado en la medicina tradicional, también es conocido por sus bondades como un bioinsecticida, este tiene la facultad de controlar a más de una especie de insectos plagas. Las sustancias conocidas en el neem afectan la alimentación, el crecimiento, la metamorfosis, la fecundidad y la esterilidad de los huevos, lo ovoposición, los sentidos de la vista y el olfato, la habilidad de saltar, escalar y volar, la longevidad y la conducta de cortejo y apareamiento (Pietrosemoliz *et al*., 1999).

Las propiedades del neem, podrían estar basadas en el parecido que presentan sus componentes con las hormonas de tal forma que los cuerpos de los insectos absorben los metabolitos del neem como si fueran realmente hormonas bloqueando su sistema endocrino. El efecto del neem en su cuerpo y cerebro dejan al insecto tan confundido que no pueden reproducirse y sus poblaciones se reducen (Trujillo *et al.,* 2008).

b) Árbol del paraíso (*Melia azedarach*).- Es un árbol cuya longitud oscila entre los 8 y 15 m de altura tiene un follaje que se pierde durante la época seca, su corteza es de color oscuro y con grietas de forma longitudinal. En la composición de sus hojas se observan numerosos foliolos de color verde claro. Sus flores de color violáceas perfumadas, dispuestas en agrupaciones (racimos). Tiene frutos que se observan en forma de globo y su piel rugosa en la fase de maduración y toma una tonalidad amarilla.

Estos perseveran en el árbol durante la época lluviosa cuando sus hojas se han caído. Los frutos son tóxicos para algunas especies como: ganado, abejas, aves de granja e incluso para el ser humano. Posee propiedades insecticidas, fúngicas, nematicidas y repelentes (Milán, 2008).

En algunas especies de meliáceas como *Azadirachta indica, Melia azedarach,* se ha detectado la presencia de compuestos de acción insecticida como azadiractina y salanina. Varias especies del género *Trichillia*, (Meliaceae) contienen tetranortriterpenoides en sus raíces, con actividades disuasivas sobre varios insectos.

Su forma de acción consiste en inhibir la acción de las oxidasas del intestino medio, lo cual lleva al insecto a su muerte o se transforma en un adulto anormal por la decadencia o falta de nutrientes o interferencia en su proceso fisiológico. Todo esto es traducido en la inhibición de la alimentación, disminución del crecimiento y desarrollo, descenso de la tasa metabólica relativa, emergencia de adultos deformes, inhibición de la ovoposición o mortalidad (Caffarini, 2008).

Tabaco (*Nicotiana tabacum*).- Las hojas secas de la planta de tabaco son utilizadas en el control del gusano cogollero del maíz, ya que contiene dentro unas sustancias o toxinas que se denominan nicotina que impide o afecta la respiración del gusano, en el momento en que el insecto come la hoja de la planta que han sido tratadas con el bioinsecticida o también por acción de contacto (Negrete y Morales, 2003).

2.2.6.7. Métodos de extracción de ingrediente activo.

Existen diversos métodos para la extracción de los ingredientes activos, en diferentes plantas que actúan como plantas benéficas, estas plantas tienen la capacidad de funcionar en beneficio del medio ambiente, de forma amigable y sustentable. Las plantas, en conjunto, producen más de 100,000 sustancias de bajo peso molecular (conocidas también como metabolitos secundarios). Éstos son, normalmente, no esenciales para el proceso metabólico básico de la planta. Entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, ácidos grasos, etcétera. Semejante diversidad química es consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano, o la predación de insectos y animales (Astudillo, 2011).

Maceración.- Es un método de extracción solido-liquido siendo la materia prima el material vegetal que contiene los principios activos solubles en el solvente que se emplea, es el proceso más simple de extracción y debe estar protegido de la luz para evitar posibles reacciones. Para lograrlo se coloca el material vegetal en forma de trozos o polvo, según de la conveniencia, en un recipiente lleno del material vegetal y el solvente extractor y se deja reposa por tres o más días, con agitación frecuente hasta completar la extracción del material.

Al final de este periodo se cuela y el resto solido se exprime hasta lograr quitar el líquido remanente. La maceración puede ser en frio o con calor, los líquidos que con más frecuencia se utilizan son el agua y el alcohol o combinación de ambos.

Percolación.- Es un método que consiste en que el menstruo (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa la masa de droga pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la droga bañada siempre por nuevas proporciones de menstruo acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva. (Carrión y García, 2010).

Éste tipo de extracción se realiza en recipientes (percoladores) cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos (prácticamente se obtiene hasta el 95% de sustancias extraíbles).

Decocción.- Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla de droga más menstruo a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un periodo variable que puede oscilar de 15 a 30 minutos.

Infusión.- Es el proceso en el cual se somete a la droga previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se prepara al 5%.

Purín.- Los fermentados o más conocidos como purines es una de las técnicas empleadas para preparar los extractos vegetales. Son el resultado de poner a fermentar en agua de manera controlada las plantas específicas, pero no solo consiste en dejarlas en agua ya que necesita oxigenar la mezcla cada día removiendo con un palo o con una bomba de agua, en

vez de producir una fermentación se producirá una pudrición, se recomienda mover mínimo 5 minutos cada día. El proceso se considera terminado cuando encontremos burbujas que se asemejen las a una efervescencia y se considere que se terminó de fermentar

CAPÍTULO III.
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus Manuel Haz ubicado en la Av. Quito Km 1 ½ vía Santo Domingo de los Tsáchilas entre las coordenadas 1°00'45.3" S y 79°28'08.9" W.

3.2. Tipos de investigación

La investigación que se desarrolló es de tipo experimental utilizando un ensayo en laboratorio para determinar el efecto de los bioinsecticidas con diferente dosis sobre el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda).*

3.3. Método de investigación

Se usó el método deductivo partiendo de la información de diferentes fuentes bibliográficas que indican el efecto de los insecticidas elaborados a base de hojas de neem, árbol paraíso y tabaco, y de esta manera identificar el tratamiento más eficaz.

3.4. Fuente de recopilación de información

Para la presente investigación se recopiló información a través de observaciones directas mediante la medición de diferentes variables (fuentes primarias), así como también otras fuentes como libros, revistas y publicaciones científicas (fuentes secundarias).

3.5. Diseño de la investigación

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos consistieron en la aplicación de los bioinsecticidas en dosis recomendadas mencionadas por López y Estrada (2005), bioinsecticida de neem recomendando 1.5 (ha-1), (Cabrera *et al.,* 2016) recomienda bioinsecticida elaborado con hojas de tabaco en dosis de 10 L (ha^{-1}), bioinsecticida elaborado con hojas del árbol de paraíso en dosis de 100 L (ha^{-1}). Los tratamientos fueron expuestos a dosis con 25% superior e inferior de la dosis recomendada. En la tabla 1 se presenta el esquema del análisis de varianza.

Tabla 1 Esquema del análisis de Varianza (ADEVA).

Fuente de Variación		**Grados de Libertad**
Total	(T-1)	29
Tratamientos	(t-1)	9
Error experimental	(T-1) * (t-1)	261

3.6. Instrumentos de investigación

3.6.1. Factores en estudio

El factor en estudio de la presente investigación fueron, evaluar tres bioinsecticidas en diferentes dosis para el control del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*).

3.6.2. Tratamientos en estudio

Con la combinación de los bioinsecticidas y la dosis recomendada se estableció los tratamientos que se detallan a continuación con las dosis respectivas

T_1	Neem	(9.37 cc)
T_2	Neem	(7.5 cc)
T_3	Neem	(5.62 cc)
T_4	Paraíso	(125 cc)
T_5	Paraíso	(100 cc)
T_6	Paraíso	(75 cc)
T_7	Tabaco	(62.5 cc)
T_8	Tabaco	(50 cc)
T_9	Tabaco	(37.5 cc)
T_{10}	Agua destilada	(250 cc)

3.6.3. Descripción de los tratamientos

Tratamientos (T_1), (T_2), (T_3).- Los tratamientos 1, 2 y 3 consistió en la aplicación del bioinsecticida de neem a base de hojas de *Azadirachta indica*, en dosis de 9.37, 7.5 y 6.62 cc respectivamente. Hojas de plantas de maíz de 15 días de edad fueron tratadas por el método de sumersión en las soluciones de bioinsecticidas.

Las hojas de maíz tratadas fueron ofrecidas a las larvas como alimento. Se utilizaron 30 larvas de *S. frugiperda*.

Tratamientos (T_4), (T_5), (T_6).- Consistió en la aplicación del bioinsecticida elaborado con hojas de *Melia azedarach*, en dosis de 125, 100 y 75 cc en su orden. Se siguió la metodología descrita en el tratamiento uno para tratar el alimento ofrecido a las larvas de *S. frugiperda*.

Tratamientos (T_7), (T_8), (T_9).- Consistió en la aplicación del bioinsecticida elaborado con hojas de hojas de *Nicotiana tabacum*, en dosis de 62.5, 50 y 37.5cc en lista. Se siguió la metodología descrita en el tratamiento uno para tratar el alimento ofrecido a las larvas de *S. frugiperda*.

Tratamiento 10 (T_{10}) control.- Para el tratamiento control se utilizó 250 cc de agua destilada, se sumergió pedazos de hojas de maíz y se ofreció como alimento a 30 larvas de *S. frugiperda*.

3.6.4. Manejo del Experimento

3.6.4.1. Cría de *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio

Para el establecimiento de la cría de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio se realizaron las siguientes labores: (Quispe *et al*., 2013).

a. **Colecta de larvas.-** La colecta de larvas fue realizada en parcelas de maíz en el Campus "La María". Para lo cual se sembraron parcelas de maíz (200 m^2) libre de insecticidas para que sea infestado por *S. frugiperda*. Una vez que se observó presencia de larvas en las plantas se procedió a su colecta, para esta actividad se utilizó micro jaulas (envases plásticos de 7cm de altura x 7cm de ancho), cada larva colectada se la colocaba de forma independiente en los envases plásticos para evitar el canibalismo.

b. **Adaptación de larvas en condiciones controladas.-** Una vez colectadas, las larvas de *S. frugiperda* fueron trasladadas al laboratorio.

Las larvas se colocaron de forma individual en recipientes plásticos medianos (300 cc). En el fondo del recipiente se colocó papel toalla y una torunda de algodón húmedo. El grupo de larvas fueron alimentadas con hojas de maíz previamente saneadas y libres de residuos de insecticidas. La temperatura promedio en el cual se llevó el experimento fue de 24 °C ± 1 °C, con humedad relativa del 60.

c. Obtención de pupas en condiciones controladas.- Una vez que las larvas pasaron por todos los estadios larvales, los ejemplares colectados pasaron al estado de pupa, momento en el cual se procedió al sexado de los individuos utilizando la metodología de Butt y Cantu (1962); esta actividad permitió identificar el sexo de las mismas para separar en 15 parejas (50:50) por cada cámara de empupamiento.

Las pupas fueron colocadas en jaulas confeccionadas con tubos de PVC (10 cm de diámetro x 21 cm de altura), cerradas en un extremo por una tarrina, y en el extremo superior con un trozo de tela organza, para facilitar el intercambio de aire. Los tubos fueron revestidos en su interior con papel despacho con la finalidad de que cuando las hembras se conviertan en adultas ovipositen sobre el papel y se facilite la retirada de posturas.

d. Obtención de adultos en condiciones controladas.- Las pupas al cabo de 10-12días se convirtieron en adultos los cuales fueron alimentados con una solución de miel al 10%, continuamente se cambiaba el alimento para evitar la fermentación (López, 2008). Las jaulas de tubo PVC eran revisadas diariamente y se retiraba las posturas colocadas por las hembras adultas. Las posturas (huevos) fueron separadas en micro jaulas hasta alcanzar la eclosión.

e. Cría de nueva generación de individuos de *S. frugiperda.-* Una vez que los huevos eclosionaron y se transformaron en larvas, estas eran alimentadas con dieta artificial, propuesta por Morales (2010). Las larvas neonatas fueron colocadas de forma individual, proporcionándole 2 g de la dieta, hasta alcanzar el tercer estadio larval (Morales, 2010).

f. Preparación de la dieta artificial para la cría de *S. frugiperda.-* Para la creía de S. *fugiperda* en el laboratorio se preparó una dieta artificial donde se utilizaron los siguientes ingredientes:

- Harina de soya 100 g
- Levadura de cerveza 30 g
- Ácido ascórbico 3 g
- Ácido sórbico 1 g
- Gelatina sin sabor 30 g
- Metil- P – hidroxibenzoato 2g disuelto 5 ml de alcohol puro
- Agua 300 ml

Se aplicó el siguiente procedimiento:

- Se disolvió 100 g de la harina de soya en 150 ml de agua batiendo constantemente hasta que no queden grumos.
- Para preparar la gelatina se utilizó 75 ml de agua caliente y 30 g de polvo de gelatina, se mezcló hasta que no queden gránulos, se agregó 75 ml de agua a temperatura ambiente.
- Se juntaron las dos preparaciones anteriores en un recipiente de plástico y posteriormente se añadieron los demás ingredientes, mezclando todo para integrar bien y homogenizar la mezcla.
- Una vez terminada la mezcla de los ingredientes, se procesó en una licuadora durante 1 minuto, para homogenizar el preparado. El producto obtenido se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 9.5 °C.

g. Preparación de los bioinsecticidas.- La preparación de los bioinsecticidas se obtuvo a partir del uso de hojas frescas de plantas con propiedades insecticidas. Para la elaboración de los bioinsecticidas se utilizaron 200 g de hojas de cada especie de planta (neem, paraíso y tabaco) y 2 litros de agua. Las hojas previamente fueron desinfectadas con agua destilada (Pérez *et al.*, 2002).

Los bioinsecticidas fueron elaborados utilizando el método de baño maría, fueron mantenidos en ese estado hasta alcanzar una temperatura de 40 °C por 15 minutos, posteriormente se procedió a filtrar la solución obtenida y la mitad de esa solución se volvió a colocar a baño maría con el mismo material vegetal antes usado por un periodo de 15 minutos y hasta alcanzar nuevamente 40 °C. La solución obtenida de cada bioinsecticida se diluyó con agua hasta obtener la dosis requerida para los tratamientos definidos.

h. Aplicación de bioinsecticidas en larvas.- Cada uno de los bioinsecticidas preparados fue disuelto con agua destilada de acuerdo a la dosis que le correspondía. Hojas de plantas de maíz de aproximadamente 15 días de edad fueron utilizadas para los bioensayos. Las hojas de maíz pasaron por un proceso de limpieza con agua común y agua destilada, posteriormente se las cortó en pedazos de 10 $cm^{2.}$ Los pedazos de hojas fueron sumergidos en cada solución de los bioinsecticidas elaborados, y ofrecidos a larvas de tercer estadio. Se realizó recambio de alimento a las larvas cada 2 días. Para el tratamiento control los pedazos de hojas tiernas de maíz fueron sumergidos en agua destilada.

3.6.5. Registro de datos y forma de evaluación

a. Total de insectos vivos al final del ensayo.- Larvas de *S. frugiperda* fueron expuestas por un periodo de 8 días (192 horas) al alimento tratado con diferentes bioinsecticidas y dosis. La mortalidad fue verificada en intervalos de 24 horas hasta alcanzar el tiempo máximo de evaluación (192 horas), para cada uno de los tratamientos incluyendo el tratamiento control. Los insectos fueron considerados como muertos cuando no mostraban señales de movimiento al ser tocadas con un pincel.

b. Curvas de supervivencia.- Con los datos obtenidos de la variable anterior se elaboraron curvas de supervivencia para cada bioinsecticida y su dosis. Las curvas obtenidas estiman la probabilidad de supervivencia de una población con respecto al tiempo.

c. Tiempo letal medio (TL50).- Utilizando la información estadística obtenida de las curvas de supervivencia se verificó el tiempo letal medio TL50 (Tiempo capaz de ocasionar la muerte del 50 % de los individuos en estudio) para cada uno de los tratamientos.

d. Porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas.- Se determinó el porcentaje de eficacia de los tratamientos utilizando los valores de mortalidad de larvas obtenidos en las variables antes mencionadas. Los valores fueron transformados a porcentajes para posteriormente aplicar la fórmula de Schneider – Orelli (Pünter, 1981).

$$\%\ \mathrm{E.f} = \frac{(\%\ \mathrm{M\ L\ T} - \%\ \mathrm{M\ L\ C})}{100 - (\%\ \mathrm{M\ L\ C})} * 100$$

Donde:

- % m l t: Porcentaje de mortalidad en larvas tratadas
- % m l c: Porcentaje de mortalidad de larvas en el control
- 100: Constante
- % E.f: Porcentaje de eficacia ajustada.

3.7. Tratamiento de los datos

El número de insectos vivos fue tratado mediante la prueba de Kruskall Wallis al 5% de probabilidad estimando las medianas del número de larvas, después de 192 horas (tiempo que duró la evaluación).

La similitud general de las curvas de supervivencia se verificó utilizando el test Log-Rank ($P<0.05$) y se realizaron comparaciones por pares utilizando el método de Holm-Sidak ($P<0.05$). Los resultados de supervivencia fueron sometidos a análisis de supervivencia, utilizando los estimadores de Kaplan-Meier para obtener las curvas y estimaciones del tiempo medio de supervivencia (TL50).

La efectividad de los tratamientos se calculó usando la fórmula de Schneider–Orelli (Pünter, 1981). Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($P<0.05$) para establecer las diferencias estadísticas entre las medias de cada tratamiento en estudio. Para realizar los análisis estadísticos de las diferentes variables medidas en esta investigación se utilizaron los programas R studio, Infostat y el software SPSS, así como herramientas estadísticas de Microsoft Excel.

3.8. Recursos humanos y materiales

En esta investigación se utilizaron los siguientes recursos y materiales:

3.8.1. Recursos humanos

Para la presente investigación se contó con la asistencia de la Dra. Mayra Vélez Ruiz en calidad de tutora del proyecto de investigación y el Ing. Ramiro Gaibor Fernández como responsable de la obtención de materiales y equipos.

3.8.2. Material genético

- Larvas *de S. frugiperda.*
- Hojas frescas de neem.
- Hojas frescas de hojas del árbol de paraíso.
- Hojas frescas de tabaco.

3.8.3. Herramientas y equipos

- Balanza
- Estufa
- Envases plásticos de 300 cc y 15 cc.
- Dieta artificial.
- Bandejas plásticas.
- Pipeta.
- Vasos de precipitación
- Agua destilada
- Pincel
- Refrigerador
- Termómetro de temperatura y humedad relativa.

3.8.4. Insumos de oficina

- Cuaderno de apuntes
- Computadora
- Lápiz
- Esferos
- Calculadora
- Software Infostat, Excel.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Total de insectos vivos al final del ensayo

En la figura 1, se representa las medianas del número de insectos vivos después de 192 horas de evaluación para cada tratamiento. De acuerdo al análisis no paramétrico de Kruskall Wallis los tratamientos presentaron diferencias estadísticas con un porcentaje de corrección de 0.98% (H=25.84; df= 10; P= 0.0032).

Al final del experimento el tratamiento uno (T_1= Neem 9.37 cc) no presentó insectos vivos, difiriendo estadísticamente de todos los otros tratamientos. El tratamiento siete (T_7= Tabaco 62.5 cc) presentó una mediana (medida de tendencia central) de 2 larvas vivas, siendo considerado uno de los tratamientos que mayor mortalidad alcanzó durante los ensayos. Los demás tratamientos presentaron medianas de 3 a 7 larvas vivas. El tratamiento control presentó el mayor número de larvas vivas (8 larvas).

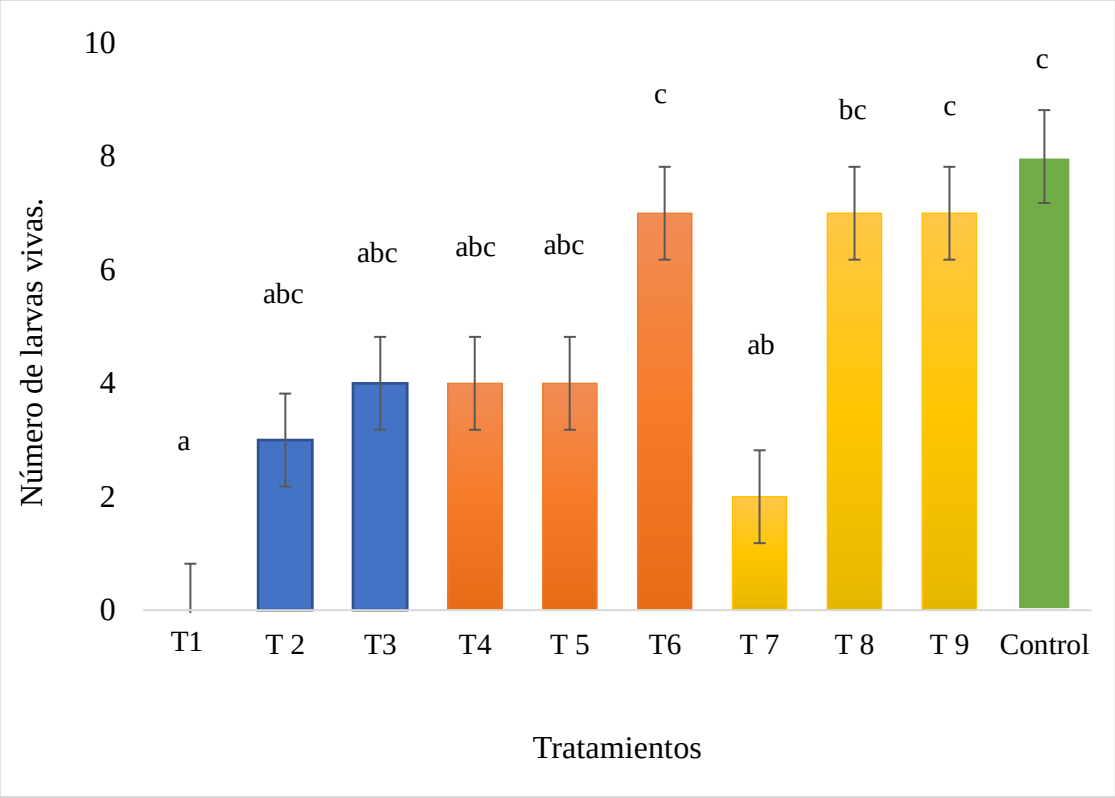


Figura 1. Medianas del número de individuos vivos de *S. frugiperda* a las 192 horas posteriores a la aplicación de los tratamientos. Medianas con letra común no son significativamente diferente (P>0.05).

4.1.2. Curvas de probabilidad de supervivencia y tiempo letal medio TL50 por bioinsecticida aplicado en diferentes dosis.

a) Bioinsecticida Neem (*Azadirachta indica*)

El análisis de supervivencia realizado en larvas de *S. frugiperda* expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida Neem con respecto al control, mostró que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos (Log-rank test: X^2= 23.157; df = 3; P = 0.001) (Figura 2).

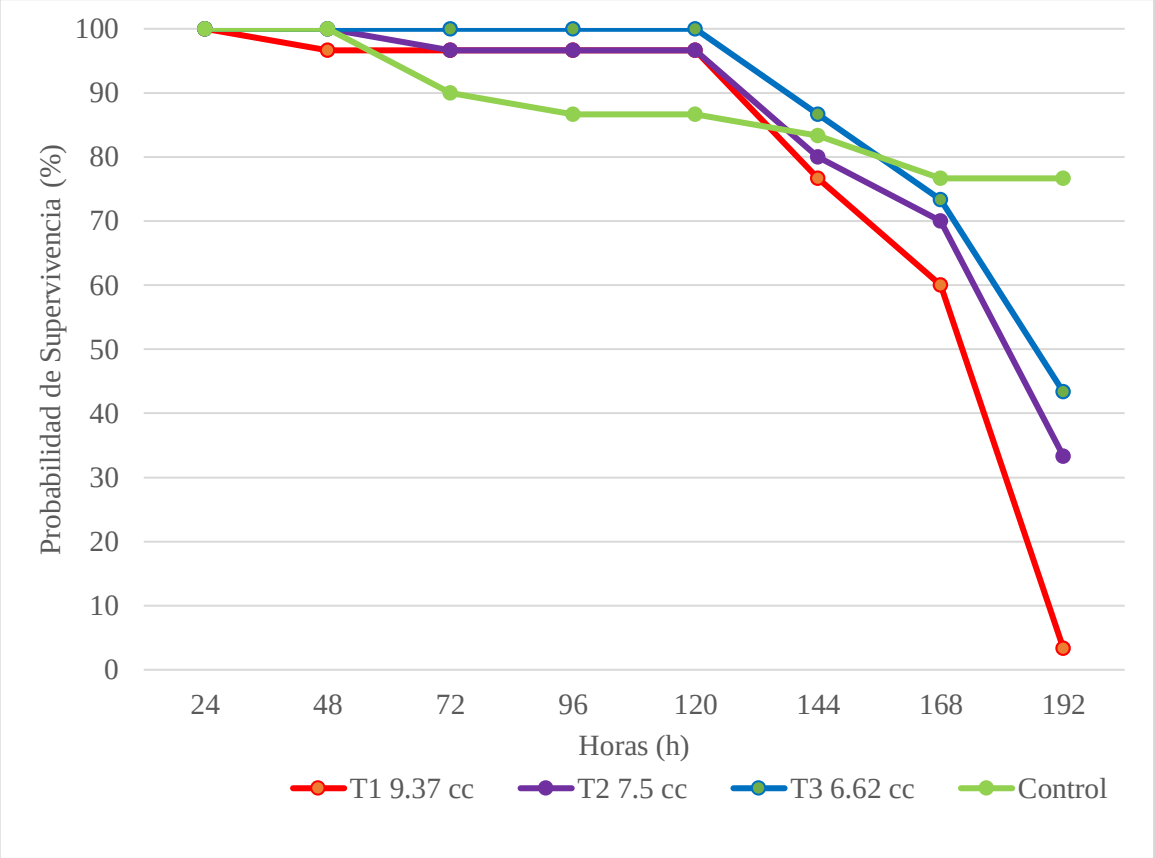


Figura 2. Curvas de supervivencia de larvas de *S. frugiperda* expuestas al bioinsecticida de Neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis.

De acuerdo al método de Holm-Sidak (P<0.05) se encontró diferencias estadísticas entre las siguientes comparaciones de tratamientos: (Neem 9.37cc vs Control), (Neem 9.37cc vs Neem 5.62cc) y (Neem 7.50 cc vs Control). El tratamiento uno (T_1=Neem 9.37 cc) causa la mayor mortalidad de larvas (*S. frugiperda*), (Figura 2). El tiempo letal medio (TL50)

calculado fue de 192 horas, para el tramiento 1 (T_1), después de la aplicación del bioinsecticida elaborado con las hojas de neem cuya dosis de (9.37 cc).

b) Bioinsecticida árbol del paraíso (*Melia azedarach*)

El análisis de supervivencia realizado en larvas de *S. frugiperda* expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida de hojas del paraíso con respecto al control, mostró que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos (Log-rank test: X^2= 8.47; df= 3; P= 0.037) (Figura 3), sin embargo, no se logró determinar el tiempo letal medio (TL50) en ninguna de las dosis del bioinsecticida a las que fueron expuestas las larvas de cogollero *(S. frugiperda*) debido a que los individuos evaluados no alcanzaron el 50% de mortalidad.

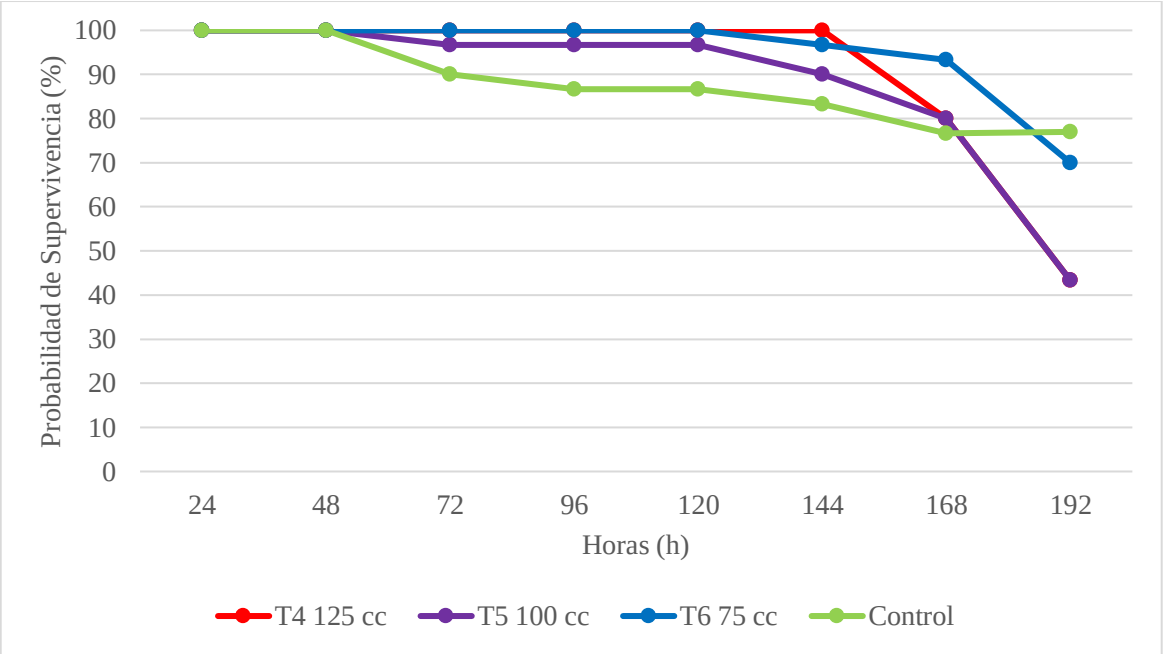


Figura 3. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas del árbol paraíso (Melia azedarach).

c) Bioinsecticida tabaco (*Nicotiana tabacum*)

El análisis de supervivencia realizado en larvas de *S. frugiperda* expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida de hojas de tabaco con respecto al control, mostró que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos (Log-Rank test X^2= 17.102; df= 3; P= 0.001) (Figura 5).

De acuerdo al método de Holm-Sidak (P<0.05) se encontró diferencias estadísticas únicamente en el tratamiento siete (T_7=Tabaco 62.5 cc) con respecto a los demás tratamientos, lo que indica que la aplicación en la dosis antes mencionada es capaz de causar la mayor mortalidad de las larvas expuestas a este bioinsecticida.

El tiempo letal medio (TL50) calculado fue de 192 horas en el (T_7), después de la aplicación del bioinsecticida tabaco en dosis de (62.5 cc).

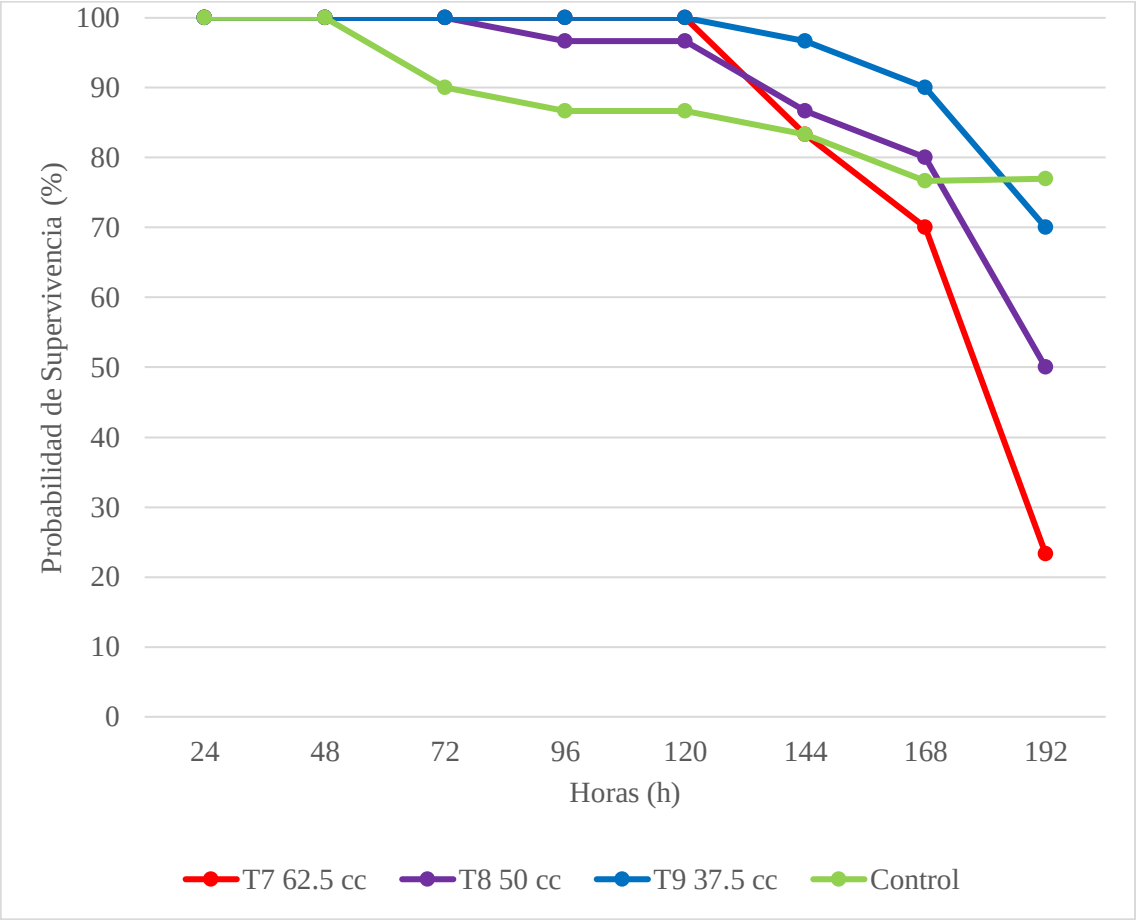


Figura 4. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*).

4.1.3. Porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas

En la figura 5 se representan los promedios del porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas evaluados sobre larvas de *S. frugiperda* expuestas a diferentes dosis. De acuerdo al análisis de varianza los tratamientos presentaron alta significancia estadística (F= 8,18= 23.67; P=<0.0001) con un coeficiente de variación de 19.93 %.

Efectuada la prueba de Tukey al 95 % de probabilidad se verificó que el tratamiento uno (T_1=Neem 9.37 cc) y el tratamiento siete (T_7= Tabaco 125 cc), registraron el mayor porcentaje de eficacia con 96 y 71% respectivamente, estadísticamente superiores a los demás tratamientos que registraron promedios entre 13 y 54%.

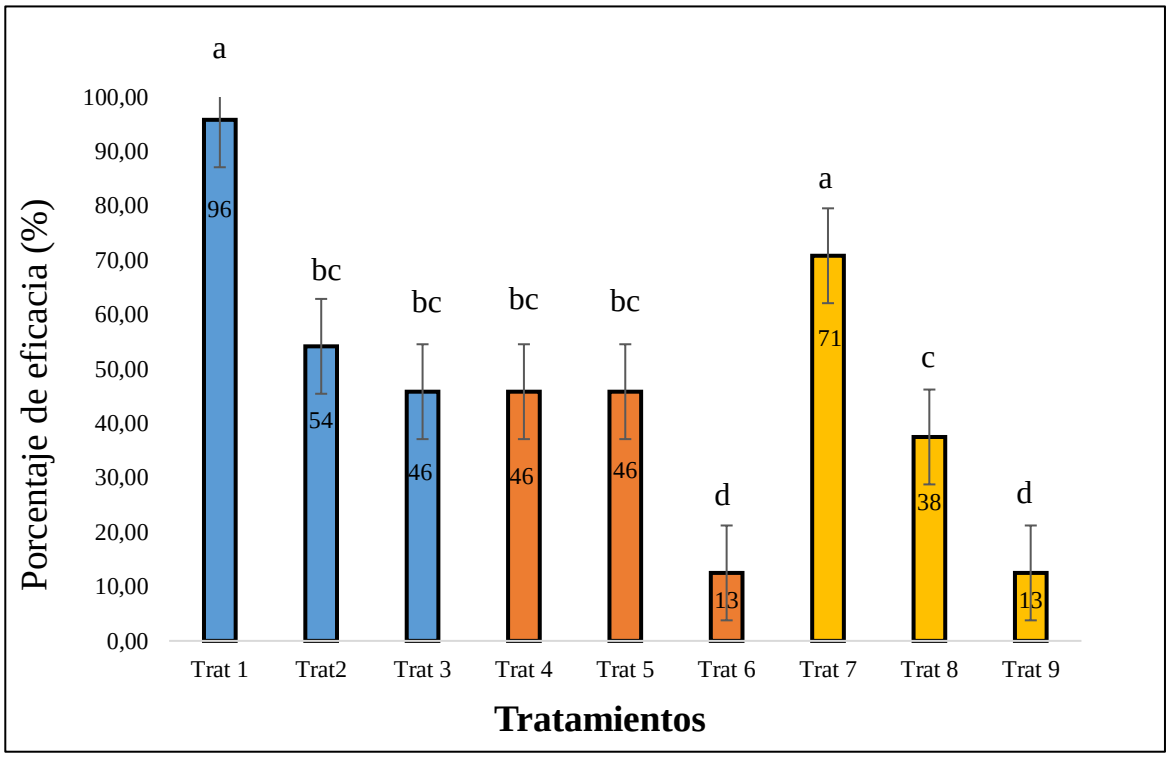


Figura 5. Porcentaje de eficacia de bioinsecticidas en larvas de *S. frugiperda* en diferentes dosis. Barras de color azul pertenecen a resultados de: bioinsecticida elaborado con A. indica, barras naranjas a bioinsecticida de: M. azedarach y amarillas al bioinsecticida: de *N. tabacum*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (P>0.05).

4.2. Discusión

En el presente estudio se evaluó los efectos de larvas de *S. frugiperda* expuestos a tres bioinsecticidas con diferentes dosis de aplicación.

En lo que respecta al número de insectos vivos después de 192 horas de evaluación para cada tratamiento los resultados obtenidos mostraron que, el bioinsecticida de neem en dosis de 9.37 cc no presentó insectos vivos al final del experimento, resultado que está directamente relacionado con el análisis de eficacia en donde obtuvo 96%. El bioinsecticida de neem en la dosis antes mencionada es altamente efectivo en el control de larvas de *S. frugiperda*.

Los resultados sobre el efectos insecticidas de neem han sido descritos anteriormente por Trujillo *et al.,* (2008) en donde confirma la actividad insecticida de neem (*Azadirachta indica*) como una alternativa de control para varias especies de insectos, así por ejemplo el trabajo realizado por estos autores en donde usaron bioinsecticidas de neem comerciales en dosis de 1.5 (ha^{-1}) (Oleonim) y 3 kg/ha (Cubanim), mostraron su eficiencia en el control de trips (*Frankliniella occidentalis*) y mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de pepino y tomate respectivamente. Los cultivos evaluados fueron mantenidos en condiciones de cultivo protegido, y mostraron reducciones notables de las poblaciones de moscas adultas y de ninfas.

Estudios afirman que, los derivados del neem afectan aproximadamente a entre 400 y 500 especies de plagas, entre las más conocidas e importantes están representantes de los órdenes: Orthoptera (Chapulines), Dictioptera (cucarachas), Dipteras (moscas), Coleoptera (escarabajos y gorgojos), Hymenoptera (avispas y hormigas), Isoptera (termitas), Thysanoptera (trips) (National Research a Council, 1992; Stoney, 1998), así también, fue posible verificar el efecto del neem en el manejo y control de la mosca (*Liriomyza* spp.), pulgón verde (*Myzus persicae*), mosca blanca (*B. tabaci*), chicharrita (*Empoasca* spp.*)* y larvas de lepidopteros (Osuna 2005).

El extracto de *Azadirachta indica,* en particular el triterpeno azadiractina que se encuentra en la composición del neem y sus derivados, presentan efecto antialimentario, repelente, insecticida, regulador del crecimiento y son causantes de esterilidad en hembras adultas (Allan *et al*., 2002).

En el caso del gusano cogollero, en el trabajo realizado por Trujillo et al., (2008) a las 12 horas posteriores a la exposición de neem en dosis de 2.500, 5. 000, 10.000 y 30. 000 ppm se alcanzó el 52, 48, 56, y 60 % de mortalidad respectivamente y se incrementó esta mortalidad a 100% al cabo de 18 horas alcanzando porcentajes de 56, 56, 80 y 100%. Existen evidencias en donde se muestran los efectos del neem no solamente de mortalidad sobre larvas de *S. frugiperda* sino también causando esterilidad en los insectos debido a que altera la concentración de los ecdisteroides y de la hormona juvenil Schmutter, (1999).

El modo de acción del neem sobre los insectos permite la interferencia con el sistema neuroendocrino que controla la síntesis de la ecdisoma responsable del proceso de muda (inhibidor de la síntesis de quitina) y de la hormona juvenil, así los insectos afectados no pueden completar el proceso de muda y mueren (Ocampo, 2003).

Investigaciones realizadas por Benavidez *et al*., (2001) afirman que, los compuestos de neem interfieren en diversas fases del desarrollo de los artrópodos debido a que son inhibidores de quitina, algunos producen efectos antialimentarios, y por tanto, el efecto de mortalidad inmediata. Probablemente estos sean los motivos por el cual se notó una alta eficiencia en la mortalidad de larvas al utilizar el bioinsecticida de neem.

El tiempo letal medio (TL50) observado en el bioinsecticida de neem en dosis de (9.37 cc) fue de 192 horas, sin embargo, las larvas comenzaron a morir a partir del sexto día (144 horas). Según, Molina (2001), la mortalidad por ingestión de extracto etánolico de *Azadirachta indica* ocurre entre 3 y 5 días, mientras que Hellpap, (1983), asegura que durante los 4 primeros días no se observan diferencias comparadas entre los tratamientos y el testigo.

El bioinsecticida de *Nicotiana tabacum* ha sido ampliamente utilizado para el control de plagas tales como: minadores y trips en un amplia variedad de cultivos ya que se ha comprobado que la nicotina es toxico para una gran variedad de insectos, a los cuales mata por contacto, Loor, (2015), es eficaz para el control de orugas, escarabajos, barrenadores de tallo, minadores, áfidos, trips, crisomélidos, mosca blanca y ácaros. Existen reportes en donde muestra que las hojas secas de tabaco ayudan a controlar el gusano cogollero al consumir hojas de maíz pulverizadas con el bioinsecticida de tabaco o si mantienen contacto durante la aplicación con el insecticida (Negrete y Morales, 2003).

El tabaco contiene en su composición sustancias como la nicotina, nicianina, colidina y odonicotina. Actúa como insecticida de contacto repelente y acaricida; por ingestión y contacto actúa sobre el sistema nervioso de los insectos. El modo de acción de la nicotina consiste en inhibir la enzima acetilcolinisterasa que produce la misma que al combinarse con su receptor en la membrana potsinaptica de la unión muscular. Es un sitio de acción de la membrana postsinaptica que reacciona con la acetilcolina y altera la permeabilidad de la membrana, la actividad de la nicotina ocasiona la generación de nuevos impulsos que provocan contracciones espasmódicas, convulsiones y finalmente la muerte (Brechelt, 2004; Franco y Parraga, 2012).

En el presente estudio fue necesario utilizar dosis de 62.5 cc de bioinsecticida de *N. tabacum,* para alcanzar una alta mortalidad de 71%, dosis menores 50 cc y 37.5 cc no mostraron diferencias con respecto al tratamiento testigo, al parecer dosis más altas, le confiere efectos narcóticos y alucinógenos, así como el efecto insecticida Kvist y Moraes, (2006). Partiendo que el principal componente del tabaco es la nicotina, se asume que el efecto se debió a parálisis producida en la larva (Ramírez e*t al*., 2009). El tiempo letal medio (TL50) se lo alcanzó a las 192 horas después de la aplicación del tratamiento en dosis de 62.5 cc. Hasta la actualidad no existe reportes de TL50 de bioinsecticida elaborados con *N. tabacum*, sobre larvas de *S. frugiperda.*

Estudios indican que los extractos de *Melia azedarach* (árbol paraíso) tienen efectos negativos sobre insectos y otros artrópodos Schmutterer, (1990). Especies de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Isoptera, Phthirapera y Hemiptera han sido estudiadas para evaluar la actividad de extractos crudos e ingrediente activo de *M. Azedarach* (Dilawari et al,. 1994). La principal actividad atribuida a estos compuestos es la actividad anti alimentaria Hernandez y Vendramim, (1998), aunque también se han mencionado efectos sobre la duración de los estadios larvales (Riba et al., 1996), crecimiento y comportamiento larval (Breur y De Loof, 1998) y los parámetros reproductivos (Dilawari *et al*., 1994).

La actividad insecticida de *M. azedarach* se debe a triterpenoides biológicamente activos con efecto anti-alimentario, es decir inhiben la alimentación de insectos fitófagos produciendo la muerte y malformaciones de las generaciones posteriores Carpinella *et al*., (2003), trabajos de investigación utilizando los frutos y hojas de *M. azedarach* han mostrado eficiencia en el control de larvas de *Spodoptera eridania* (Rosetti, 2008).

En la presente investigación al usar las hojas de árbol paraíso como bioinsecticida aplicado en diferentes dosis sobre larvas de *S. frugiperda* no mostró una alta eficacia comparada con el bioinsecticida de neem y tabaco, la razón principal de la baja eficiencia del bioinsecticida de *M. azedarach* en comparación con *A. indica* radica en que la composición química de *M. azedarach* varía notablemente desde su estado silvestre al cultivado, lo que significa que algunos compuestos insecticidas están presentes por ejemplo en las hojas y no en los frutos o visceversa Carpinella *et al*., (2003). En este caso, el principal compuesto insecticida de *M. azedarach* (meliartenin) se encuentra en los frutos y no en las hojas, lo que podría dar respuesta a la baja eficiencia de este bioinsecticida (46 % de eficacia).

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el uso de los bioinsecticidas evaluados especialmente el de neem podrían ser incorporados en programas de manejo de este insecto plaga en el cultivo de maíz, investigaciones adicionales, son necesarias.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El bioinsecticida que obtuvo la mayor eficacia en el control de larvas de *S. frugiperda* fue el elaborado con hojas de neem en dosis de 9.37 cc, con un porcentaje de eficacia del 96%

La dosis que causo la mayor mortalidad de larvas fue 9.37 cc del bioinsecticida de neem el cual permitió el control del 90% de los individuos en estudio.

El bioinsecticida elaborado con hojas de tabaco utilizando una dosis de 62.5 cc alcanzó una eficacia de control de larvas de *S. frugiperda* de 71%, consiguiendo la mortalidad del 70% de individuos en estudio.

El bioinsecticida elaborado con hojas de árbol paraíso alcanzó una eficacia en el control de *S. frugiperda* del 46%; aunque no consiguió la mortalidad del 50% de individuos en estudio se comprobó que tiene propiedades insecticidas contra el gusano cogollero al causar su mortalidad.

El tiempo letal medio de larvas de *S. frugiperda* expuesta al bioinsecticida neem (*Azadirachta indica*) en dosis (9.37 cc) y (7.5 cc) y en el bioinsecticida de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) fue de 192 horas usando la dosis 62.5 cc.

El bioinsecticida elaborado con hojas de paraíso (*M. azedarach*) usando tres dosis: 125, 100 y 75 cc no alcanzó el 50% de la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en estudio, por este motivo no fue posible calcular el tiempo letal medio.

5.2. Recomendaciones

Elaborar bioinsecticidas con un solvente extractor de las propiedades insecticidas y con diferentes formas de elaboración (decocción, Infusión, purín fermentado, maceración), para verificar el potencial de cada una de las plantas usadas.

El bioinsecticida de neem y tabaco en dosis de 9.37 cc y 62.5 cc, respectivamente podrían ser utilizados como alternativas de control dentro del manejo integrado de *S. frugiperda* en el cultivo de maíz.

Elaborar bioinsecticidas con diferentes estructuras de la planta, así por ejemplo, se recomienda que para la elaboración del bioinsecticida a base de *M. azedarach* se utilice los frutos y no las hojas.

Evaluar la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* por un periodo mayor que 192 horas para verificar el porcentaje máximo de mortalidad de los individuos en los diferentes tratamientos.

Estimar la eficiencia de dosis mayores del bioinsecticida elaborado con tabaco y hojas de árbol paraíso en larvas de *S. frugiperda*.

Evaluar las combinaciones de los bioinsecticidas de neem, hoja del árbol paraíso y tabaco, para valorar sus efectos sobre las larvas de *S. frugiperda.*

Identificar efectos subletales en larvas de *S. frugiperda* tratadas con bioinsecticidas a base de hojas de neem, árbol paraíso y tabaco.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

Allan, E., Easwara, J., Mordue, A., Mogan, E. y Stuchbury, T. (1994). The production of azadirachtin by in vitro tissue culture of neem, *Azadirachta indica.* Pesticide Science. Vol. 42. Pag: 147-152.

Astudillo, C y Andrade, L. (2011). Insecticida natural a partir de extractos vegetales. Concurso semestral de Emprendimiento Ciencia y Tecnología (CSECT). Informe Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. Pag: 19

Benavidez, E., Hernandez, A., Romero, A., Castro y Rodriguez. (2001). Evaluación preliminar de extractos de neem (*Azadirachta indica*), como alternativa para el control de garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: ixodida). Revista Colombiana de Entomología 27 (1-2) Pag1-8

But, B. y Cantu, E. (1962). Sex detremination of lepidopteruos pupae. Washington: USDA. Pag: 7.

Brechelt, A. (2004). El manejo ecológico de plagas y enfermedades. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL). Fundación Agricultura y Medio Ambiente (FAMA). RD. Pag: 26.

Breuer, M. y A. De Loof. (1998). Meliaceous plant preparations as potential insecticides for control of the oak processionary, *Thaumetopoea processionea* (L.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent. 63/2b: Pag: 529-536.

Cabazcango, P. R. (2011). Evaluación del comportamiento agronómico de cinco híbridos triples promisorios de maíz amarillo duro (*Zea mays* L.*)* y tres híbridos comerciales en la época lluviosa en la zona de Quevedo y Balzar. Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. UTC. Latacunga. Pag: 136.

Caffarini, P., Carrizo, P., Pelicano, A., Roggera, P. y Pacheco, J. (2008). Efectos de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azadarach* (paraiso*)* y

Trichillia glauca (trichillia), sobre la hormiga negra común (*Acromyrmex lundi*). Revista Scielo. 26(1). Pag: 59-64.

Capataz, J., Orozco, F., Vergara, R., y Hoyos, R. (2007). Efecto antialimentario de los extractos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda* J Smith en condiciones de laboratorio. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín; Vol. 60, núm. 1 (2007); Pag: 3707-3708.

Carpinella, M., Defagó, G., Valladares, y Palacios, S. (2003). Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from Melia azedarach (Meliaceae) with potential use for pest management. J. Agric. Food Chem. 51: Pag: 369-374.

Carrera, M., Galán, V., González, F., Fernández, L., Maroto, J., Mateo, J., Navarro, J., Rojo, C. y Zaragoza, S. (2005). Prontuario de Agricultura. Madrid. Barcelona. México. Mundi-Prensa.Pag: 120.

Carrión, C y García, C. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia metódica. Tesis de grado. Cuenca-Ecuador. Pag: (27-29).

Chango. L. (2012) Control de Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*Zea mays L*.) Tesis de pregrado

Dilawari, V. K., K. Singh y G. S. Dhaliwal. 1994. Effects of *Melia azedarach* L. on oviposition and feeding of *Pluteolla xylostella* L. Insect Sci. Appl. 15: Pag: 203-205.

Flores, H. (2006) Guía Técnica del Cultivo de Maíz. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. CENTA. Pag: 17.

Franco, G. y Parraga, C. (2012). Evaluación del efecto de la mezcla de bioinsecticidas y bioirreguladores para el control de insectos masticadores en el cultivo de arroz (*Oriza sativa* L) durante la época lluviosa en la zona de Quevedo Pag: 16.

Gpnzales, M., Gurrola, N., Chaírez, I. (2015). Produtos biológicos para el control de *Spodoptera frugieprda* (Lepidoptera: Noctuide). Revista Colombiana de Entomología, 41(2). Pag: 200-204.

Guacho, F. (2014). Caracterización agro-morfológica del maíz *(Zea mays* L.*) de la* localidad San José de Chazo (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

Hellpap, C. (1983). Efects of neem karnel extracts on the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Memorias. Proc. 2nd int. Neem tree and other tropical plants. Rauischolzahausen. Pag: 653-364.

Hernández, C. y Vendramim, J. (1998). Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. Man. Int. Plagas 48: 11-18.

INEC. (2018).Instituto Nacional de Estadística y Ceno (INEC)- ESPAC – MAG Ministerio de Agricultura y Ganadería.

INIAP. (2014). Maíz duro. Obtenido de: http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mcereal/rmaizd. Estación Experimental Pichilingue.

Jimenez, E. (2009). Métodos de control de plagas. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Nicaragua. Pag: 32-33

Kvist, L. y Morales, R. (2006). Plantas sicoactivas Botánica económica de los Andes Centrales (12). Pag: 294-312.

Loor, A. (2015). Evaluación de tres bioinsecticidas en el control de insectos chupadores en el cultivo de sandía (*Citrus lanatus*), en la época seca en la zona de Mocache. Pag: 77

Lopes, G., Lemos, R., Machado, K., Maciel, A., y Ottati,T. (2008). Biología de *Spodoptera frugiperda* (J. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de mandioca (Manihot esculenta, Crantz). *Revista Caatinga*, *21*(3). Pag: 134-140.

Levy, R. y Habeck, DH. (1976). Descripciones de larvas de *Spodoptera sunia y S. latifascia* con una clave para las larvas de *Spodoptera* maduras del este de los Estados Unidos (Lepidoptera: Noctuidae), *Anales de la Sociedad Entomologica de America. 69(4). Pag: 585-588*

López, D. M. y Estrada, O. J. (2005) Los bioinsecticidas de Nim en el control de plagas de insectos en cultivos económicos. Facultad de Ciencias Agrarias. 37(2). Pag: 37-38.

Macías, P., y Sornoza, J. (2016). Efecto de insecticida orgánico de ají (*Capsicum pubescens*) sobre el control de trips *(Frankiniella occidentalis)* en el cultivo de pimiento *(Capsicum annuum)* (Tesis Doctoral).

Mangelsdorf, P. (1974). Corn: it's origin, evolution and improvement. Cambridge, Massachusetts. Harvard University Press. Pag 3.

Milán, C. (2008). Las plantas una opción saludable para el control de plaga. Pag. 70-71. Recuperado de: http://www.n/biblioteca,php?id=1098.

Molina, N. (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Avance en el Fomento de productos Fitosanitarios No Sinteticos Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. 59: Pag: 76-77.

Morales, P., Noguera, Y., Escalona, E., Fonseca, O., Rosales, C., Salas, B., Ramos, F., Sandoval, E. y Cabañas, W. (2010). Sobrevivencia larval de *Spodoptera frugiperda* Smith con dieras artificiales bajo condiciones de laboratorio. 60(4). Pag: 376-377

National Research Council, (1992). Neem: A tree for solving global problems. Report of an Ad Hoc Panel of Board on. National Academy Press. Washington, D.C. Pag: 107.

Negrete, F. y Morales, J. (2003) El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*. *Smith)* CORPOICA Corporación Colombiana de Investigación. Agropecuaria Universidad del Simú. (1)

Ortega, A. (2015). Insectos nocivos del maíz, una guía para su identificación en campo Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. (CYMMYT). Pag: 14.

Ocampo, G. (2003). Determiancion de la CL50 de una formulación a base de abamectina; perito natural, azadiractina (nem), contra *Tetranychus urticae* Kcho (Acari: Tetranychidae). Tesis de licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo Coah. Pag: 44

Osuna, L. (2005). Uso del neem para la elaboración artesanal de plaguicidas. Folleto técnico Num. 10, INIFAP, Centro de Investigación Regional del Noroeste- Campo Experimental Todos Santos. La Paz, B.C.S, México.

Padilla, M. (2017). Bioinsecticidas. Universidad de La Laguna. Facultad de Ciencias Sección de Biología. Pag: 1-24

Pérez, J., Torres, S., Puente, M. y Aguilar, R. (2002). Efecto alelopático del extracto acuoso de tabaco (*Nicotiana tabacum L*) sobre ocho cultivos económicos. Pag: 8-9.

Pietrosemoliz, S., Olavez, R., Montilla, T., y Campos, Z. (1999). Empleo de hojas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nematodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. Pag: 220-225.

Püntener, U. (1981). Manual para ensayos de campo en protección de plantas. División Agrícola, Ciba-Geigy Limited.

Prasanna, B., Huesing, J., Eddy, R. y Peschke, V. (2018). Fall Amyworm en África: una guía para el manejo integrado de plagas. Primera edición. Pag: 14-19.

Paliz, V. y Mendoza J. (1999). Plagas del maíz (*Zea mays)* en el Litoral Ecuatoriano sus características y control. Quevedo, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue, Programa Nacional de Sanidad Vegetal. Pag: 78.

Quiroz, D. y Merchán, M. (2016). Guía para facilitar el aprendizaje en el manejo integrado del cultivo de maíz duro (*Zea mays.* L.*)* Instituto Nacional de Investigaciones

Agropecuaria (INAP). Estación Experimental Tropical Pichilingie. Quevedo, Ecuador. Pag: 126.

Ramírez, M., Carrillo, A. y Molano, C. (2009). Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos Hematobia irritans L. (Diptera: Muscidae). Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 12(1). Pag: 69-78.

Riba, M., y Marti, J. (1996). Bioactividad de extractos de *Melia azedarach* L. sobre taladro del maíz Sesamia nonagriodes Lef. Bol. San. Veg. Plagas 22: Pag: 261-276.

Rosales, N. (2016) Metamorfosis del gusano cogollero (*Spodoptera frugierda.*) desde la etapa larvaria hasta la etapa adulto. Pag: 17- 21.

Sánchez, O. (2014). Aspectos Botánicos y Taxonómicos del maíz. Revista Reduca (Biología) 7 (2).

Serna. M. A. (2009). Evaluación del Fertilizantes MES – Zn en el cultivo de maíz *(Zea mays* L.*)* en dos localidades de la cuenca alta del Litoral Ecuatoriano, durante la época lluviosa. Tesis de grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Pag: 13

Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree Ann. Rev. Entomol. 35: Pag: 271-297.

Squilanda, V. (2010). Agricultura orgánica alternativa tecnológica del futuro. Pag: 13-19.

Stoney, C. (1998). *Azadirachta indica:* Nim, un árbol versátil para los trópicos del mundo. Hoja informativa. Una guía para los arboles de nitrógeno del mundo. Fact 98-02S. Winrock International. Morrilton, AR, USA. Pag: 5.

Tamez, P., Galán, L., Medrando, H., García, C., Rodriguez, C., Gomez, R. y Tamez, R. (2001). Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México. Ciencia UANL, 4(2). Pag: 143-152.

Trujillo, P., Zapta, L., Hoyo, R., Yepes, F., Capataz, J. y Orozco, F. (2008). Determinación de la DL_{50} y TL50 de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda.* Facultad Nacional Agrónoma. Medellín 61 (2). Pag: 4564-4575

Vasco, C. L. (2001). Evaluación y Caracterización Morfológica y Molecular de Germoplasma de Maíz duro de altura. Tesis de pregrado. Sangolquí-Ecuador. Pag: 4.

Vásquez, J., Zeddam, J. L., y Tresierra-Ayala, A. (2002). Control biológico del "cogollero del maíz" *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; Noctuidae) CON EL BACULOVIRUS sfvpn, EN IQUITOS-PERU. Folia Amazónica, *13*(1-2). Pag: 25-39.

Wong, J., Perez, J., Aviles, M. (2016). Principales plagas que atacan al cultivo de Maíz. Instituto Nacional de Investigaciones agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Culiacán. Revista AGROSINTESIS. Pag*:* 1-40.

Zambrano, Z., Andrade, J., Cobeña, F., Linzan, J. P., Caicedo, M., Egüez, J., y Mendoza, J. (2017). Interacción genotipo ambiente de híbridos de maíz bajo temporal en Manabí y Los Ríos, Ecuador. Revista ESPAMCIENCIA, 8(1). Pag: 7-14.

Zapata, P. J. (2002). Patentabilidad de los extractos vegetales. Obtenido de http://www.ub.edu/centredepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextractosplantas.pdf

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. Anexos

Anexo 1. ADEVA del porcentaje de eficacia de los bioinsecticidas en diferentes dosis hasta las 192 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	16435,19	8	2054,4	23,67	<0,0001
Tratamientos	16435,19	8	2054,4	23,67	<0,0001
Error	1562,5	18	86,81		
Total	17997,69	26			

Anexo 2. Colecta de larvas de *Spodoptera frugiperda* en cultivo de maíz.

Anexo 3. Cría de larvas de *Spodoptera frugiperda* obtenidas de la colecta en campo de maíz.

Anexo 4. Pupas obtenidas en condiciones controladas.

Anexo 5. Mariposa *de Spodoptera frugiperda* recién emergida.

Anexo 6. Reactivos e ingredientes usados en la preparación de la dieta artificial usada en la cría de *Spodoptera frugiperda*.

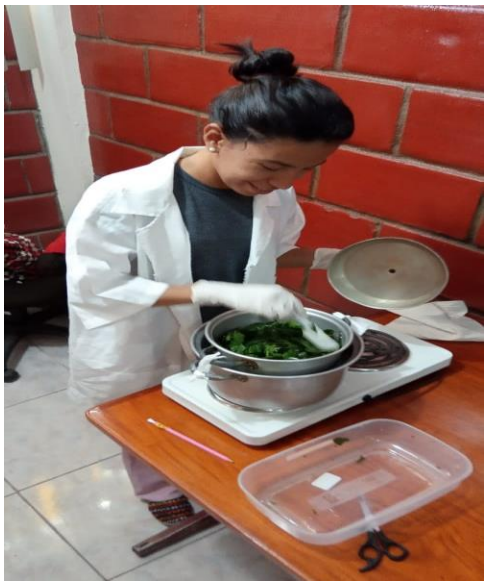
Anexo 7. Jaula de apareamiento y oviposición elaborada con tubo PVC.

Anexo 8. Masa de huevos recién ovipositadas sobre papel despacho.

Anexo 9. Solidificación de dieta para larvas de *Spodoptera frugiperda* después de un periodo de 12 horas.

Anexo 10. Distribución de dietas para larvas recién emergidas.

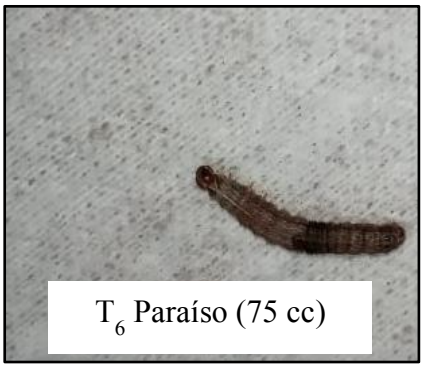
Anexo 11. Elaboración de bioinsecticida, utilizando la técnica de baño maría.

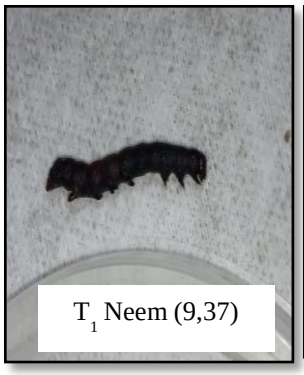


Anexo 12. Obtención del bioinsecticida de Neem *(Azadirachta indica).*

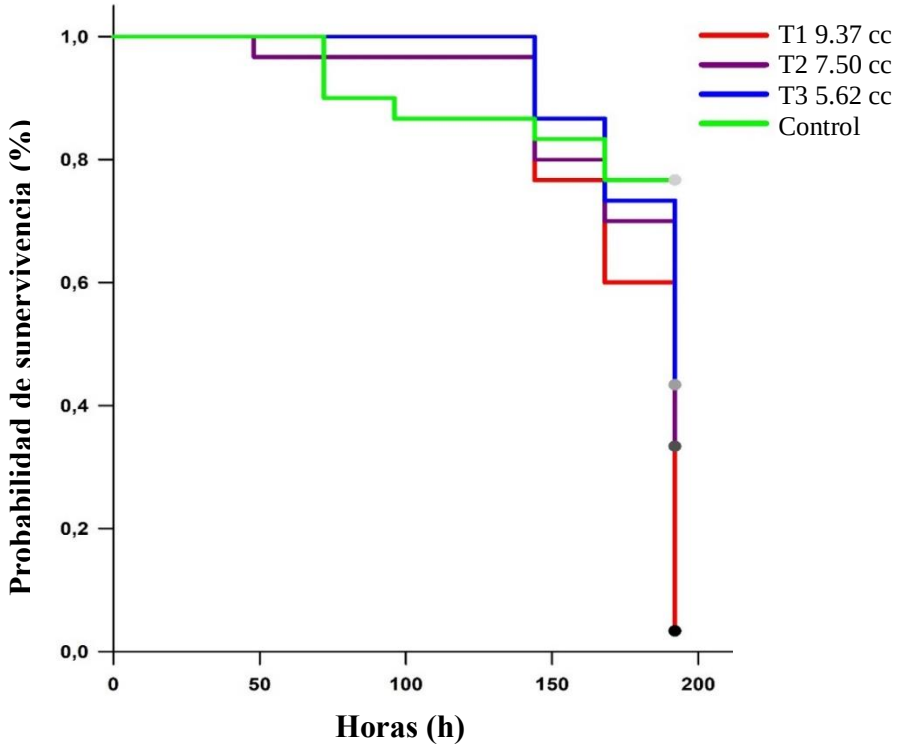
Anexo 13-. Sumersión de hojas frescas de maíz, en bioinsecticida.

Anexo 14. Mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* expuestas a bioinsecticidas.

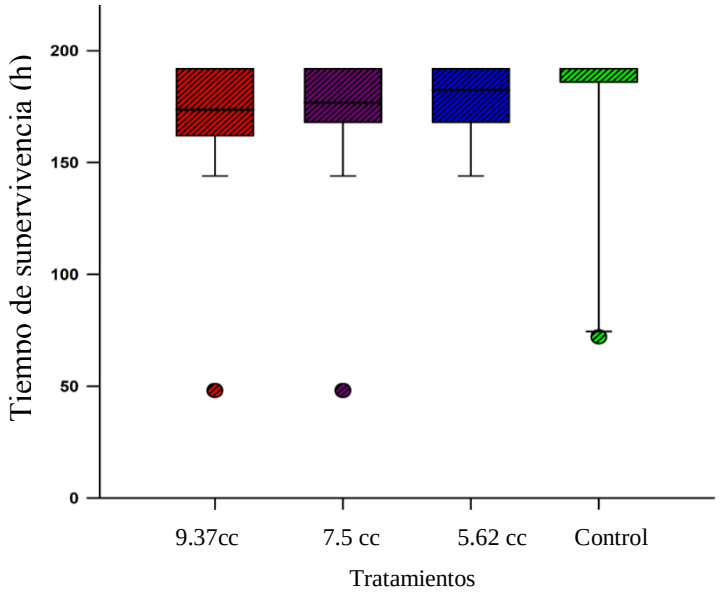




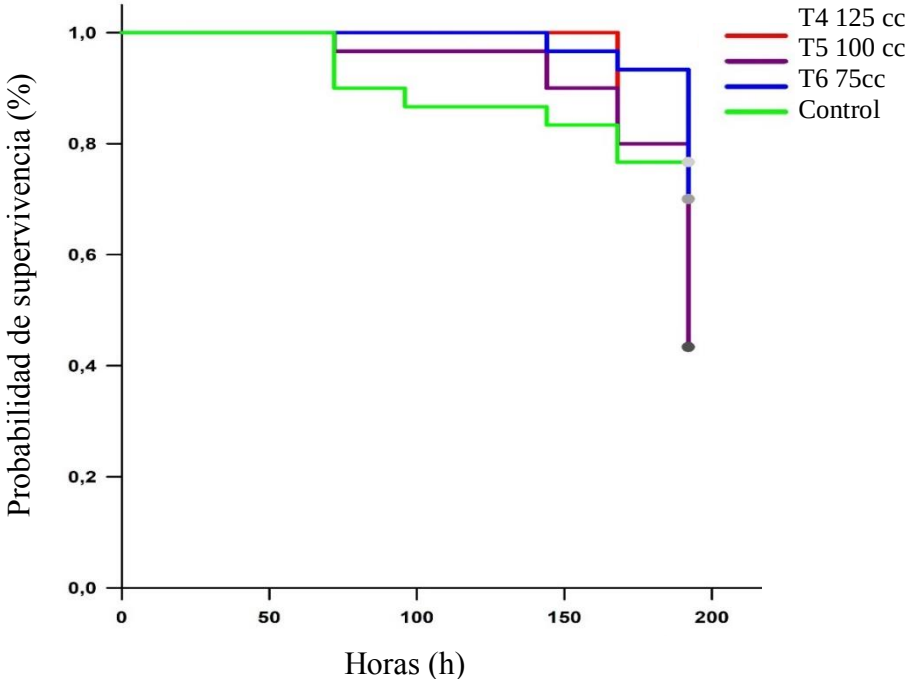
Anexo 15. Curvas de supervivencia de larvas de S. frugiperda expuestas al bioinsecticida de Neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis.



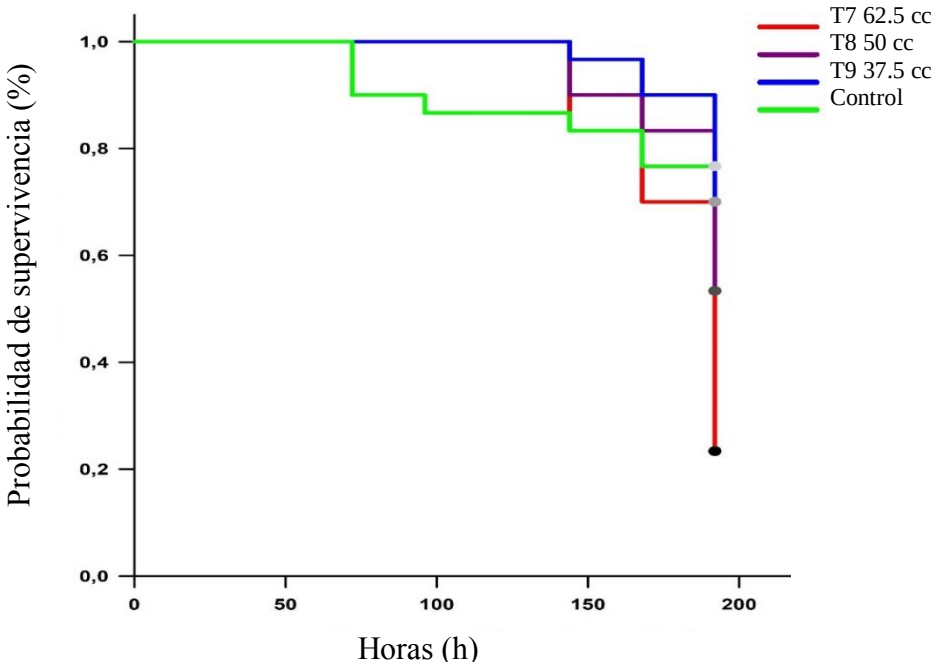
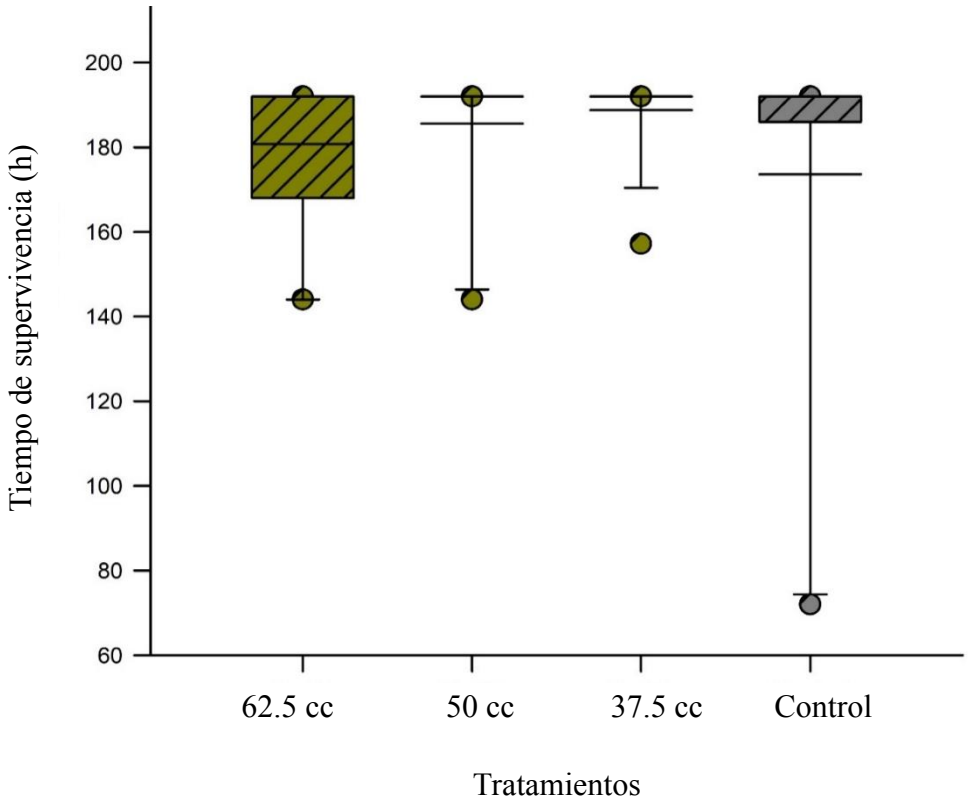
Anexo 16. Tiempo letal medio (TL50), de larvas de S. frugiperda expuestas al bioinsecticida Neem (*Azadirachta indica*) en diferentes dosis. Medias con letra común no son significativamente diferentes (P>0.05).



Anexo 17. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (S. frugiperda), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas del árbol paraíso (Melia azedarach).



Anexo 18. Análisis de supervivencia de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*), expuestas a diferentes dosis del bioinsecticida elaborado a base de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*).



Anexo 19. Tiempo letal medio (TL50), de larvas del gusano cogollero (*S. frugiperda*) expuesto a bioinsecticida elaborado con hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en diferentes dosis. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P>0.05).