



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO**  
**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y**  
**POSGRADO**



**CENTRO DE ESTUDIO Y POSGRADO**

**PROYECTO DE TESIS DE GRADO**

**TÍTULO:**

**Magister en Agronomía mención “Protección Vegetal”**

**TEMA**

**Efecto de un insecticida formulado a base de neem (*Azadirachta indica*) sobre el desarrollo larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio.**

**AUTOR:**

**Autor: Ing. Agr. Juan Andrés Villamarin Barreiro**

**TUTOR:**

**Ing. Agr. Pedro Emilio Cedeño Loja D.Sc.**

**Babahoyo –Los Ríos – Ecuador**

**2021**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo es dedicado a mi familia, a mis padres, a mi esposa e hijos quienes han sido un pilar fundamental para concluir mis estudios de posgrado y desarrollar esta tesis, gracias a ellos quienes me dieron grandes enseñanzas, la fortaleza, y respaldo durante todo el tiempo de estudio.

Dedicado a ustedes con mucho cariño familia por impulsarme a poder cumplir esta meta en mi vida que me permitió adquirir conocimientos nuevos en el campo de la agricultura y mejorar como profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, a Dios por todas las bendiciones brindadas en estos tiempos difíciles de pandemia y por darme el conocimiento, la sabiduría para poder concluir la Maestría. A mi familia por el respaldo incondicional en mis estudios y mi formación profesional.

A los diferentes docentes profesionales que impartieron cada uno de los módulos en la Maestría por sus enseñanzas y ayuda en todo momento, a los colaboradores el Dr. Pedro Cedeño Loja tutor de tesis, Dr. Fernando Cabezas cotutor, Ing. Danilo Santana jefe de laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por su aporte al desarrollo de esta tesis.

A la Universidad Técnica de Babahoyo y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias por permitirme realizar el trabajo experimental en sus predios y utilizar todos los recursos disponibles para tener éxitos en esta tesis.

Sé que estas palabras no son suficientes para expresar mi agradecimiento, pero espero que, con ellas se den a entender mis sentimientos de aprecio y cariño a todos ellos.

## **CERTIFICACIÓN DE AUTORIA INTELECTUAL**

“La responsabilidad del contenido de este trabajo le corresponde exclusivamente a su autor; y el patrimonio intelectual del mismo a la Universidad Técnica de Babahoyo”.  
Babahoyo – Los Ríos - Ecuador, 2021.



Firmado electrónicamente por:  
**JUAN ANDRES  
VILLAMARIN  
BARREIRO**

Ing. Agr. Juan Andrés Villamarín Barreiro

**MAESTRANTE**

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

**Ing. Agr. Pedro Emilio Cedeño Loja**

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO, haber asesorado esta Tesis elaborada por el estudiante **Ing. Agr. Juan Andrés Villamarín Barreiro**; tesis de investigación previo a la obtención del título de Magister en Agronomía Mención Protección Vegetal titulada: **“Efecto de un insecticida formulado a base de neem (*Azadiracha indica*) sobre el desarrollo larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio”** durante el periodo lectivo 2020 - 2021, la cual está sujeta a las normas y metodología dispuesta en el reglamento de titulación de Posgrado.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:  
**PEDRO EMILIO  
CEDENO LOJA**

Ing. Agr. Pedro Emilio Cedeño Loja D.Sc.

### TUTOR DE TESIS

Ha sido revisada en todos sus componentes, por lo que autorizo su presentación, sustentación y defensa.

## INDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	<b>14</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>15</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>16-19</b>
<b>I. CONTEXTUALIZACIÓN DEL PROBELMA</b> .....	<b>20</b>
1.1. <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>20-22</b>
1.2. <b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>22-25</b>
1.3. <b>OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
<b>II. MARCO TORICO</b> .....	<b>26</b>
2.1. <b>Antecedentes históricos de la producción del maíz (<i>Zea maíz</i>) en el Ecuador</b> .....	<b>26-29</b>
2.2. <b>El gusano cogollero <i>S. frugiperda</i> (J.E. Smith)</b> .....	<b>29-30</b>
2.3. <b>Características generales <i>S. frugiperda</i></b> .....	<b>30</b>
2.4. <b>Ciclo biológico del Gusano Cogollero</b> .....	<b>30-32</b>
2.5. <b>Métodos de control para <i>Sposoptera frugífera</i></b> .....	<b>32-33</b>
2.5.1. <b>Control químico</b> .....	<b>33-40</b>
2.5.2. <b>Control Biológico</b> .....	<b>40-41</b>
2.5.2.1. <b>Activadores del receptor alostérico nicotínico de la acetilcolina (IRAC 5A.) Spinosinas</b> .....	<b>42-43</b>
2.5.2.2. <b>Control de insectos por hongos</b> .....	<b>43-48</b>
2.5.2.3. <b>Control de insectos por bacterias</b> .....	<b>48-56</b>
2.5.2.4. <b>Control de insectos con insecticidas biológicos a bases de plantas</b> .....	<b>56-69</b>
<b>III. METODOLOGÍA</b> .....	<b>70</b>
3.1. <b>Localización del experimento</b> .....	<b>70</b>
3.2. <b>Características climáticas</b> .....	<b>70</b>
3.3. <b>Insecticidas utilizados en la experimentación</b> .....	<b>70</b>
3.4. <b>Factores de estudio</b> .....	<b>70</b>
3.5. <b>Tipo de Investigación</b> .....	<b>70</b>
3.6. <b>Tratamientos</b> .....	<b>70-71</b>

3.7.	Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	71-72
3.8.	Especificaciones del Experimento .....	72-73
3.9.	Variables evaluadas en esta investigación .....	73
3.9.1.	Evaluar la eficiencia de los insecticidas .....	73
3.9.2.	Identificar el mejor insecticida para el control del gusano cogollero en maíz.....	73
3.9.3.	Identificar la dosis con mayor porcentaje de mortalidad.....	73-74
3.9.4.	Evaluar el porcentaje de mortalidad en los tratamientos .....	74
3.10.	Manejo del ensayo .....	74
3.10.1.	Descripción del material biológico utilizado.....	74
3.10.2.	Preparación del material biológico utilizado.....	75
3.10.3.	Insecticidas en estudio .....	75
3.10.4.	Aplicación de los insecticidas .....	75
3.10.5.	Preparación de las larvas .....	76
3.10.6.	Preparación de los insecticidas .....	77
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	78
4.1.	Evaluar la eficiencia de los insecticidas.....	78
4.2.	Identificar el mejor insecticida para el control del gusano cogollero en maíz.....	78
4.3.	Identificar la dosis con mayor porcentaje de mortalidad .....	78
4.4.	Evaluar el porcentaje de mortalidad en los tratamientos .....	78
4.5.	Pruebas estadísticas aplicadas .....	82
4.5.1.	Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 24 horas .....	82-83
4.5.2.	Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 48 horas .....	83-84
4.5.3.	Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 72 horas .....	85
4.5.4.	Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 96 horas .....	87-88
4.6.	Análisis e interpretación de datos.....	88

4.6.1.	Eficiencia en el control de <i>S. frugiperda</i> después de 24 horas de evaluación.....	88
4.6.2.	Eficiencia en el control de <i>S. frugiperda</i> después de 48 horas de evaluación.....	89
4.6.3.	Eficiencia en el control de <i>S. frugiperda</i> después de 72 horas de evaluación. ....	89
4.6.4.	Eficiencia en el control de <i>S. frugiperda</i> después de 96 horas de evaluación.....	90
4.7.	Gráficos resultados de mortalidad por hora de evaluación .....	90
4.8.	Discusión de resultados .....	93
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	95
5.1.	CONCLUSIONES .....	95
5.2.	RECOMENDACIONES .....	96
VI.	BIBLIOGRAFÍAS.....	97-101
	ANEXOS.....	102-116



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADRO1. Detalle de los tratamientos.....</b>	<b>71</b>
<b>CUADRO 2. Esquema del ADEVA.....</b>	<b>72</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1. Tasa de mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> en relación a productos, dosis y repeticiones.....</b>	<b>78-82</b>
<b>TABLA 2. Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 24 horas.....</b>	<b>83</b>
<b>TABLA 3. Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 24 horas.....</b>	<b>83</b>
<b>TABLA 4. Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 24 horas.....</b>	<b>83</b>
<b>TABLA 5. Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, productos versus dosis y testigo versus todos .....</b>	<b>84</b>
<b>TABLA 6. Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 48 horas.....</b>	<b>84</b>
<b>TABLA 7. Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 48 horas.....</b>	<b>85</b>
<b>TABLA 8. Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 48 horas.....</b>	<b>85</b>
<b>TABLA 9. Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, productos versus dosis y testigo versus todos .....</b>	<b>85</b>
<b>TABLA 10. Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 72 horas.....</b>	<b>85</b>
<b>TABLA 11. Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 72 horas.....</b>	<b>86</b>
<b>TABLA 12. Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 72 horas.....</b>	<b>86</b>
<b>TABLA 13. Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, productos versus dosis y testigo versus todos .....</b>	<b>86</b>
<b>TABLA 14. Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 96 horas.....</b>	<b>87</b>
<b>TABLA 15. Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 96 horas.....</b>	<b>87</b>
<b>TABLA 16. Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 96 horas.....</b>	<b>87</b>
<b>TABLA 17. Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, productos versus dosis y testigo versus todos .....</b>	<b>88</b>
<b>TABLA 18. Contrastes ortogonales para mortalidad de <i>S. frugiperda</i> a las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas .....</b>	<b>88</b>

**TABLA 19. Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 48 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 89**

**TABLA 20. Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 72 horas después de la aplicación de los insecticidas .....89-90**

**TABLA 21. Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 96 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 90**

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

**Gráfico 1. Tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* en relación a las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 90 -91**

**Gráfico 2 Tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* en relación a las 48 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 91**

**Gráfico 3 Tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* en relación a las 72 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 91-92**

**Gráfico 4 Tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* en relación a las 96 horas después de la aplicación de los insecticidas ..... 92**

## RESUMEN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae), es una de los principales insectos plagas que causa graves daños y pérdidas en el rendimiento en el cultivo de maíz en el Ecuador. Para su control se emplean muchos productos químicos, generalmente nocivos para la salud humana y causando graves daños a los diferentes ecosistemas de la biosfera.

Como una alternativa más amigable se evaluó en laboratorio la efectividad de varios insecticidas comerciales formulados a base de microorganismos biológicos y extractos de plantas para el control biológico de gusano cogollero. Los insecticidas evaluados en laboratorios contra larvas en estadio 3 fueron: *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, Aceite de neem), así como un insecticida químico, como control positivo (Spinetoram).

Para esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar con evaluaciones cada 24 horas durante cuatro días a la misma hora. El producto más eficaz para el control de gusano cogollero en relación a la mortalidad transcurrida las 96 horas de evaluación fue: el *B. thuringiensis* a una dosis baja de (1.95ml - 0.39L), obteniéndose una mortalidad del 100%; seguido del Neem a una dosis baja de (1.95ml - 0.39L) y *B. bassiana* a una dosis media de (3.90ml - 0.78L), obteniéndose una mortalidad del 97,5 y como control químico positivo el Spinetoram, a una dosis baja de (0.39cc - 0.78L).

Los productos más eficaces para el control de gusano cogollero bajo condiciones de laboratorio en relación al tiempo de acción a las 24 horas de evaluación fueron: el Neem con el 17,5% y Spinetoram con el 100% de tasa de mortalidad, mientras con *B. thuringiensis* y *B. bassiana* no hubo mortalidad en el bioensayo.

**Palabras Claves:** Neem, *Spodoptera frugiperda*, *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*

## ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), is one of the main pest insects that causes serious damage and losses in yield in corn cultivation in Ecuador. Several chemical products are used for its control, generally harmful to human health and causing serious damage to the different ecosystems of the biosphere.

As a friendlier alternative, the effectiveness of several commercial insecticides formulated with biological microorganisms and plant extracts for the biological control of fall armyworm was evaluated in the laboratory. The insecticides evaluated in laboratories against stage 3 larvae were: *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, Neem oil), as well as a chemical insecticide, as a positive control (Spinetoram).

A completely randomized design with evaluations every 24 hours for four days at the same time was used for this research. The most effective product for the control of fall armyworm in relation to mortality after 96 hours of evaluation was: *B. thuringiensis* at a low dose of (1.95ml - 0.39L), obtaining a mortality of 100%; followed by Neem at a low dose of (1.95ml - 0.39L) and *B. bassiana* at an average dose of (3.90ml - 0.7L), obtaining a mortality of 97.5 and as a chemical control Spinetoram, at a low dose of (0.39cc - 0.78L).

The most effective products for the control of fall armyworm under laboratory conditions in relation to the time of action at 24 hours of evaluation were: Neem with 17.5% and Spinetoram with 100% mortality rate, while with *B. thuringiensis* and *B. bassiana* there was no mortality in the bioassay.

The work revealed that it is possible to implement the use of biological and botanical insecticides for the control of *S. frugiperda*.

**Keywords:** Neem, *Spodoptera frugiperda*, *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es un cereal nativo de América, cuyo centro original de domesticación fue Mesoamérica, desde donde se difundió hacia todo el continente. No hay un acuerdo sobre cuándo se empezó a domesticar el maíz, pero los indígenas mexicanos manifiestan que esta planta representa, para ellos, diez mil años de cultura (Asturias, 2004).

Por otra parte al analizar el maíz amarillo, se observa que este se encuentra dentro de los principales productos agrícolas en el país, que a pesar de no representar más allá del 7% de la producción agrícola, tiene una gran importancia debido a que constituye la base de una de las principales cadenas productivas la cual contribuye significativamente a salvaguardar la seguridad alimentaria del Ecuador sirviendo de suministro de alimento a otros sectores de producción como consumo animal a través de balanceados (Baca, 2016).

El maíz es uno de los cultivos más importantes para la alimentación de los ecuatorianos ya que su producción provee la materia prima para la agroindustria y la alimentación humana. De acuerdo con las estadísticas de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), en el año 2016 la superficie sembrada fue de 485696 hectáreas con una producción de 1`667704 toneladas y un rendimiento de 3.17 toneladas por hectárea (Caviedes, 2019).

En la actualidad, la producción nacional está orientada principalmente a los tipos duro y suave de color amarillo; el rendimiento promedio del maíz amarillo duro en los años 2015 y 2016, considerando dos ciclos de siembra fue de 5.76 t ha (Caviedes, 2019)

El maíz se ve afectado por diversos factores que disminuyen su rendimiento, principalmente incidencia de malezas, enfermedades e insectos plaga, que afectan su crecimiento y desarrollo vegetal (Valdez-Torres *et al.*, 2012; Ángel-Ríos *et al.*, 2015).

Las plagas de mayor importancia en el cultivo de maíz es el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) (J.E. Smith 1797), el cual ataca a la planta principalmente desde etapas tempranas de desarrollo (Rangel *et al.*, 2014); sin embargo, esta especie puede estar presente en el maíz durante todo su ciclo biológico (Reséndiz *et al.*, 2016).

Con base en lo anterior existen diversos métodos para su control, entre los que se encuentran métodos físicos, mecánicos, culturales, biológicos y químicos (Ángel-Ríos *et al.*, 2015).

Este último es el más usado por los productores de maíz y se basa en el empleo de plaguicidas sintéticos con resultados satisfactorios; sin embargo, su uso excesivo tiene diversos efectos negativos en el ambiente, la salud humana y sobre las poblaciones de insectos benéficos (García *et al.*, 2012).

Los insectos del orden Lepidóptera se consideran como las plagas de mayor importancia, ya que afectan el desarrollo y crecimiento de la planta de maíz (Reséndiz *et al.*, 2016), y sobresale *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Rangel *et al.*, 2014).

Provoca retraso en el desarrollo del cultivo y disminución del rendimiento de grano y forraje, ya que se alimenta de tejido vegetal en las primeras etapas fenológicas del cultivo; cuando la infestación es alta puede provocar la defoliación completa (Valdez-Torres *et al.*, 2012).

El control de insectos plagas en las plantas por métodos químicos continúa siendo imprescindible para mantener una agricultura económicamente rentable y rendimientos altos de cosecha. Por otro lado, los primeros productos naturales de origen microbiano de amplio uso comercial fueron los antibióticos como: blastocidina S, es un antibiótico nucleósido aislado a partir de *Streptomyces griseochromogenes.*, kasugamicina, es producido de forma natural, mediante la bacteria *Streptomyces kasugaensis* y validamicina



A, producida en forma natural por la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*. desarrollados en Japón para controlar el quemado del arroz *Magnaporthe grisea* (T.T. Hebert, M.E. Barr. 1971) y la podredumbre de vaina de arroz (*Rhizoctonia solani* Kühn) (Rubio - & - Fereres, 2005).

En un sentido restringido, el control biológico (o control microbiológico) es la introducción artificial de microorganismos antagonistas en un ecosistema determinado para controlar a un patógeno o una plaga (Rubio - & - Fereres, 2005).

La aplicación de métodos biológicos para el control de insectos plaga que afectan a diversos cultivos, implica la búsqueda de microorganismos entomopatógenos eficaces, así como el desarrollo de metodologías para su multiplicación masiva, con el fin de producir biopreparados a bajo costo, los cuales puedan ser accesibles a la mayoría de los agricultores (Gómez et al., 2014).

En la naturaleza existe una gran diversidad de microorganismos entomopatógenos, que afectan a una serie de insectos plaga reduciendo sus poblaciones. Entre estos microorganismos se encuentran hongos, bacterias, virus y nematodos, muchos de los cuales son manipulados y reproducidos masivamente para ser utilizados comercialmente en el control de plagas agrícolas, desarrollándose así el concepto de control microbial (Gómez et al., 2014).

Uno de los componentes del control microbial, es el uso de hongos entomopatógenos, los cuales causan enfermedades en los insectos, siendo muchos de ellos utilizados exitosamente en programas de manejo de plagas (Gómez et al., 2014).

El control de insectos con bacterias sin duda, ha sido el mayor éxito en el control microbiano de insectos plagas mediante el uso de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (BT). Este bacilo es capaz de producir una endotoxina que ataca a numerosos insectos-plaga.

Hay cepas específicas de algunos grupos importantes de plagas (*BT tenebrionis* específica de Coleópteros, *BT - Israeliensis* específica de Dípteros y la más usada es *BT - Kurstaki* específica de Lepidópteros) (Rubio - & - Fereres, 2005).

Aunque muchos microorganismos pueden ser efectivos o benéficos para el control de insectos, plagas no todos pueden ser utilizados como agentes de control microbiano.

Para que estos sean usados como agentes de control biológico tienen que ser seguros para los seres vivos tales como: seres humanos, animales, entomofauna, de bajo impacto ambiental, genéticamente estables, no patogénicos a los cultivos, eficaces y eficientes contra un amplio rango de insectos plaga, compatibles con los diferentes programas de manejo integrado de plagas (MIP), fáciles de usar y que tenga una relación beneficio costo favorable para el agricultor.

Esto se pretende con esta investigación demostrar al productor de maíz (*Zea mays*) la eficiencia y eficacia del método de control biológico como una alternativa más amigable con el medio ambiente, y así erradicar una de las principales plagas que es causantes de un alto porcentaje de pérdidas en el rendimiento sobre cultivo de maíz, como es el gusano cogollero (*S. frugiperda*).

## CAPITULO I. CONTEXTUALIZACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sin duda alguna el “gusano cogollero” *S. frugiperda*, es la principal plaga del maíz en Latinoamérica. Esta causa daños, baja el rendimiento en el cultivo de maíz, para su eliminación en el cultivo existen varios tipos de controles uno de los más utilizados por los agricultores por su efecto inmediato es el control químico (plaguicidas) causando daños tanto al ecosistema, animales y el hombre (García - Gutiérrez *et al.*, 2012).

Estos tipos de productos químicos tienen impactos negativos en el ambiente, particularmente por la eliminación de la entomofauna benéfica, intoxicación de trabajadores agrícolas, residualidad en los alimentos, además de inducir la aparición de resistencia en el insecto (Gómez-Valderrama *et al.*, 2010; shahid *et al.*, 2012).

Razones por las cuales el control biológico surge como una alternativa viable al uso de estos productos, particularmente mediante el uso de microorganismos entomopatógenos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que entre 500,000 y un millón de personas al año, se intoxican a causa de la aplicación de agroquímicos y, en casos extremos, provocan su deceso de personas (Nava-Pérez *et al.*, 2012).

La aplicación de insecticidas incluso dentro de las pautas regulatorias prescritas puede tener consecuencias ambientales perjudiciales. Estos efectos son exacerbados por el uso inadecuado, existiendo muchos ejemplos del mal uso y abuso de los insecticidas. En los peores casos, los efectos de los insecticidas son difíciles de extraer de aquellos provenientes de la mala administración agrícola en general (Devine, et al., 2008).

El Mar de Aral en Asia Central es considerado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), como el peor ejemplo en el mundo de cómo las prácticas agrícolas planificadas y ejecutadas de manera inadecuada han devastado una región que una vez fue productiva. Los residuos de insecticidas orgánicos y organofosfatos son excesivamente abundantes en el área y a pesar de que existe poca información sobre los efectos de dicha contaminación agrícola masiva en el ecosistema como un todo, se piensa que los efectos en la ecología humana han sido devastadores. Incluso en países desarrollados que utilizan insecticidas aprobados y regulados dentro de sistemas con una adecuada legislación, existe suficiente evidencia sobre la continua degradación ecológica y ambiental como resultado del uso de pesticidas.

Muchos de los ejemplos más claros se relacionan con los efectos acumulativos de los residuos de insecticidas en los ríos que drenan las áreas agrícolas. En California, las aguas y sedimentos del Río Salinas (que desemboca en el Santuario Marino Nacional de la Bahía de Monterrey) son extremadamente tóxicos para una variedad de invertebrados acuáticos. Esto también sucede en los ríos Álamo y Nuevo en el Valle Imperial de California, donde ocho años de observación (1993-2001) demostraron que los impactos de la contaminación por organofosfatos en los macroinvertebrados eran sostenidos y graves (Devine, et al., 2008).

En este mismo sentido, debido al uso indiscriminado de plaguicidas; los insectos considerados ocasionales o de baja incidencia han pasado a ser plagas importantes causantes de daños significativos en cultivos como el maíz, debido al aumento de su resistencia a los ingredientes activos utilizados (González-Maldonado *et al.*, 2015). Conociendo los principales problemas que ha generado el uso indiscriminado de insecticidas de origen químico para control de insectos plagas en el cultivo de maíz, se

propone un método de control para insectos plagas, de bajo impacto ambiental, con el mismo mecanismo, modo de acción.

Proponiendo el control biológico como una alternativa para el control del gusano cogollero (*S. frugiperda*) en el cultivo de maíz en el Ecuador y en zonas agrícolas como Babahoyo, Los Ríos.

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

Según las cifras presentadas por el ESPAC (Encuesta de Superficie Agropecuaria y Producción Continua), podemos destacar que en la región litoral se encuentran las principales provincias con mayor superficie agropecuaria destinadas para el cultivo del maíz, siendo la provincia de los Ríos la que mayor hectáreas posee representando el 43% a nivel nacional, seguido de la provincia de Manabí con una participación del 22% y la provincia del Guayas con una participación del 14% durante el periodo analizado (2012-2016).

En el 2012 se puede observar que la provincia de Los Ríos registra 306.750 hectáreas teniendo una participación del 44,4% a nivel nacional; seguido de la provincia de Manabí registrando 131.403 hectáreas teniendo una participación a nivel nacional del 19% y por último a la provincia del Guayas registrando 96.215 hectáreas con una participación a nivel nacional del 13,9%.

Lo cual se puede apreciar que la provincia de Los Ríos es donde está concentrada la mayoría de la producción del maíz debido al gran volumen de hectáreas que posee para su cultivo. En el 2013 podemos observar que la provincia de Los Ríos registró 265.922 hectáreas presentando una disminución con respecto a la participación del 40,2% esto se debe a la pérdida de tierras que se dio por causa de malas condiciones climáticas afectando de manera general al volumen de tierras a nivel nacional.

Con respecto a la provincia de Manabí esta registra 137.476 hectáreas en este caso se puede apreciar un pequeño aumento con respecto a la participación de un 20,8% y por último tenemos a la provincia del Guayas registrando 98.103 hectáreas presentando un aumento de la participación a nivel nacional del 14,8%. En el 2014 la provincia de Los Ríos registra 347.967 hectáreas teniendo una participación del 44,8% a nivel nacional, en este caso se puede apreciar que aumentaron las hectáreas de cultivo del maíz debido a la otorgación de tierras que el gobierno entregó a los medianos y pequeños agricultores maiceros del país.

Luego tenemos a la provincia de Manabí registrando 156.481 hectáreas con una participación del 20,2% y a la provincia del Guayas registrando 94.594 hectáreas destinadas para el cultivo del maíz presentando una participación del 12,2% a nivel nacional. En el 2015 la provincia de Los Ríos registra 378.395 hectáreas con una participación del 44,1%; seguido de la provincia de Manabí registrando 184.826 hectáreas con una participación del 21,5% y finalmente tenemos a la provincia del Guayas con 128.791 hectáreas con una participación del 15%. Finalmente en el 2016 la provincia de los Ríos registra 262.820 hectáreas teniendo una participación del 40,6%; seguido de Manabí con un 26,4% y el Guayas con 13,7% participación a nivel nacional (INEC, 2016)

*S. frugiperda*, ocasiona numerosas pérdidas en diversos cultivos, no solo en el "maíz" sino también en el algodón, soya y otros de importancia económica en el continente americano (Cheng-Zhu *et al.*, 2015).

Es un insecto polífago y con gran poder de aclimatación a diferentes condiciones lo que le permite una distribución geográfica amplia. Su ciclo de vida encierra etapas de huevecillo (2-5 días), larva (17-32 días), pupa (6-13 días) y adulto (6-20 días), con un

rango de 30 a 70 días según los factores ambientales de la zona. La hembra puede colocar unos mil huevecillos en grupos de cincuenta (Bertolaccini *et al.*, 2010).

El control de *S. frugiperda* es difícil y tradicionalmente se encara con hasta tres aplicaciones de insecticidas químicos (Yasem-De Romero & Romero, 2013), aun así, el uso de insecticidas sigue siendo en la actualidad lo más usado. Su control abarca un porcentaje importante en el costo de producción, se reporta que ocupa cerca del 10% de los costos de producción (De Polania *et al.*, 2009).

Estos costos son considerables cuando se conoce que el gusano cogollero ataca al maíz en todos sus estados fenológicos (Murua *et al.*, 2010).

La importancia económica y ambiental por ataque de *S. frugiperda* no solo radica en las pérdidas que ocasiona a los cultivos y los costos de control; sino también por la contaminación producida por los agroquímicos empleados y su difícil descomposición en los ecosistemas agrícolas (Yasem-De Romero & Romero, 2013).

Es importante entonces la búsqueda de medios de control más efectivos, sostenibles y sustentables, que promuevan una buena producción de calidad del "maíz", controlando la plaga y evitando la resistencia, y que a la vez esté acorde al cuidado del medio ambiente (Rodríguez, Salazar & Contreras, 2018).

La creciente demanda por productos limpios y orgánicos, generados por la conciencia cada vez más grande de la población local, regional e internacional hacia los alimentos inocuos; que cumplan con los protocolos de buenas prácticas agrícolas y que cuiden el ambiente, aparece como una alternativa viable ante las limitaciones crecientes que enfrenta el sector agrícola convencional, al emplear agrodefensivos para el control de plagas, a lo que se le suma la resistencia cada vez más grande de las plagas y enfermedades al control químico. Esto ha llevado a buscar nuevas herramientas para su control y

prevención, particularmente en el ámbito de la Agricultura Familiar (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

Esta necesidad, ha motivado el uso de productos biológicos, amigables con el medio y eficaces en el control de enfermedades y plagas, constituyéndose los microorganismos como los más utilizados y aceptados por mostrar excelentes resultados en el campo (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

Por lo cual una alternativa menos toxica y perjudicial para el medio ambiente se propone mediante esta investigación, el cual es demostrar al agricultor la eficacia del control biológico para gusano cogollero (*S. frugiperda*). Reemplazando el control químico, con la finalidad de disminuir el impacto ambiental derivado del uso indiscriminado de estas sustancias químicas sintéticas que tienen un alto impacto toxico para el medio ambiente y los seres vivos.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

- Evaluar la eficiencia del insecticida formulado a base de neem (*Azadirachha indica*), sobre el desarrollo larval de *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.

#### **Objetivos específicos**

- Determinar el insecticida más eficiente sobre el desarrollo larval del gusano cogollero en maíz.
- Determinar la dosis con mayor tasa de mortalidad sobre el desarrollo larval del gusano cogollero en maíz.
- Evaluar el tiempo de acción de los diferentes tratamientos sobre el desarrollo larval del gusano cogollero en maíz.



## CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes históricos de la producción del maíz (*Zea mays* L.) en el Ecuador

En el Ecuador el maíz tiene una gran importancia debido a la gran capacidad de tierras destinadas para su cultivo, debido a las diversas variedades que muestra pasando de un maíz de grano duro a un maíz de grano suave o harinoso. En Ecuador el cultivo del maíz tuvo origen hace unos 5.000 años hallados en la costa sur. Con respecto al maíz duro este empezó a darse aún más tarde, según los estudios de arqueólogos, este cultivo también se lo utilizaba como bebida con el nombre de la Chicha, lo cual se mezclaba la harina del maíz con agua para luego fermentándola, lo cual era también era utilizada como una alternativa medicinal para curar los cálculos en los riñones (Documents Mex, 2015).

En el país hay una gran variedad de tipos de maíz, lo cuales son muy bien adaptadas a las distintas altitudes, a los tipos de suelo y ecosistemas. De acuerdo con la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), existen 25 razas de maíz ecuatoriano, el 18% de las colecciones de maíz del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo proviene del Ecuador, lo cual hace situar como el tercer país en cuanto a la diversidad de cultivo (Documents Mex, 2015).

La situación actual del cultivo del maíz en el país en los últimos años muestra una diferencia en los dos cultivos del maíz (duro y suave). El maíz duro y seco es utilizado más para las agroindustrias para la producción avícola y de alimentos balanceados, lo cual puede verse la razón por la que este cultivo tiene una gran superficie cultivada, producción y rendimiento en el país, lo cual se cultiva en la costa y en la sierra, pero se puede notar que más del 50% de la producción del maíz duro se cultiva en la costa (Documents Mex, 2015).

Esta agroindustria presenta en el país un gran consumo interno en tendencia de crecimiento. Con respecto al maíz suave, este es destinado principalmente para el consumo humano teniendo una producción y hectáreas más inferiores. Este se cultiva en la Costa y en la Sierra, pero su mayor producción se da en la Sierra, siendo principalmente cultivados por los pequeños productores de la sierra, siendo considerado como un cultivo de subsistencia y dedicado al consumo interno y mientras que el maíz duro es cultivado por productores más grande los cuales posee una mayor extensión de tierra. (Documents Mex, 2015).

La producción del maíz en el país la mayoría se encuentra situada en la región litoral, teniendo a las provincias de Manabí, Guayas, Los Ríos y Santa Elena; lo cual se puede concentrar la mayor de la cosecha de la gramínea, convirtiéndose como las principales zonas maiceras del Ecuador (Documents Mex, 2015).

El cultivo agrícola anual más importante en México es el maíz (*Zea mays* L.), se encuentra en todo el territorio bajo condiciones climáticas y edáficas variadas, lo que resulta una gran diversidad de eco tipos, a tal punto que ha sido considerado centro de origen y diversidad del cultivo (Kato *et al.*, 2009; serratos, 2009; FAO, 2017).

Esta poacea es multifacética por el amplio uso tanto de grano como planta, útil en alimentación humana, animal, o como materia prima para la industria. Un tipo de consumo tradicional y popular en México es el elote, denominado como el estado inmaduro de la mazorca (Espinosa *et al.*, 2002).

Existen diversos factores que disminuyen la calidad y rendimiento del cultivo, dentro de los que destaca la presencia de plagas, este factor origina un grave problema fitosanitario, yaciendo el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)

como causante de los mayores daños si no se realizan medidas de control (Blanco *et al.*, 2014).

Tales estragos son evidentes en varios cultivos comerciales, dentro de las que destaca además del maíz, el sorgo, algunos pastos, cultivos alternos como alfalfa, arroz, algodón, etc. (Malo *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2012; Casmuz *et al.*, 2010).

Un ataque temprano de la plaga en *Z. mays*, produce retraso en el desarrollo del cultivo, además, el daño a tejidos que formarán la mazorca disminuye el rendimiento hasta en un 30%; y en casos severos causa la muerte de la planta (Aguirre *et al.*, 2016).

Con ataque durante todo el ciclo del Cultivo, por ejemplo, se ha documentado que en épocas de sequía la larva produce daños similares al gusano trozador (Deras, 2014). su control es con frecuencia mediante aplicación de insecticidas químicos, pero su uso aumenta los costos de producción, además que se relaciona con el desarrollo de resistencia del insecto y ocasiona impactos negativos al medio ambiental (Devine *et al.*, 2008; Ahmad & Arif, 2010; Barrientos *et al.*, 2013)

Por otra parte, puede ocasionar la muerte de diversos organismos útiles en el control biológico de plagas presentes en el cultivo, tal es el caso de moscas de la familia *Tachinidae* como son *Lespesia aletiae* (riley), *Lespesia archippivora* (riley), *Winthemia deilephilae* (ostén sacken), y *Archytas marmoratus* (Townsend), que actúan como parasitoides en gusano cogollero (González *et al.*, 2018).

Los monocultivos son ambientes poco favorables para los enemigos naturales de las plagas, debido a los altos niveles de perturbación y a la falta de infraestructura ecológica. La capacidad de los depredadores y parasitoides para controlar los invasores es menor en sistemas simplificados que en agro ecosistemas diversificados (Landis *et al.*, 2000).

Tradiciones campesinas, como es el empleo de los policultivos, permanecieron olvidadas durante mucho tiempo, pero hoy en muchas regiones del mundo estos forman parte del paisaje agrícola. La práctica de estos sistemas en Cuba se aplica no sólo en áreas de subsistencia y en pequeñas superficies, sino que se retoma como una tradición. La práctica de éstos es ampliamente reconocida como una alternativa para enfrentar el reto de obtener cada día mayor productividad agrícola en condiciones de fuertes restricciones de insumos, al mismo tiempo que se preservan y mejoran los recursos naturales y sobre todo la tierra (González *et al.*, 2002).

Los policultivos complejos y los sistemas agroforestales practicados por pequeños productores tropicales imitan varios aspectos de la estructura y el funcionamiento de las comunidades naturales, como el reciclaje de nutrientes, resistencia al ataque de plagas, estructura vertical y altos niveles de biodiversidad (Altieri & Nicholls, 2004).

## **2.2. El gusano cogollero - *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**

El gusano cogollero *S. frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae), es un insecto polífago y cosmopolita que ocasiona severos daños en diversos cultivos (Sparks, 1986), en maíz es la principal plaga que causa pérdidas superiores al 30 % (García - Gutiérrez *et al.*, 2012). En México, su control ha dependido del uso de insecticidas químicos.

Existen centenares de investigaciones sobre esta especie, y cuantiosos datos sobre su biología, fisiología, ecología y control (químico, cultural, biológico e integrado) (Fernández, 2002).

Los primeros instares larvales de *S. frugiperda* se alimentan de la superficie inferior de las hojas tiernas, en grandes densidades pueden matar las plantas por defoliación y destruir las plantas en crecimiento, más tarde migra hacia el cogollo, donde el canibalismo a menudo la reduce a una por planta. Estos daños causan una perforación característica

y hacen jirones las hojas que están en desarrollo, ensuciándolas con excremento. (King & Saunders, 1984).

### **2.3. Características generales de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**

Presenta dimorfismo sexual, las características distintivas del macho son: expansión alar de 32 a 35 mm; longitud corporal de 20 a 30 mm; siendo las alas anteriores pardo-grisáceas con algunas pequeñas manchas violáceas con diferente tonalidad, en la región apical de estas se encuentra una ancha blanquecina notoria, orbicular tiene pequeñas manchas diagonales, una bifurcación poco visible que se extiende a través de la vena costal bajo la mancha reniforme; la línea subterminal parte del margen la cual tiene contrastes gris pardo y gris azulado (Ortiz, 2010).

Las alas posteriores no presentan tintes ni venación coloreada, siendo más bien blanquecina, las hembras tienen una expansión alar que va de los 25 a 40 mm, faltándole la marca diagonal prominente en las anteriores que son poca agudas, grisáceas, no presentan contrastes; la mancha orbicular es poco visible; la línea postmedial doble y fácilmente vista (Ortiz, 2010).

### **2.4. Ciclo biológico del Gusano Cogollero.**

**Imagen 1. Se presenta el ciclo biológico completo del gusano cogollero**

**Ver imagen en anexos.**

En el cuadro “A” se identifican el estado de huevo del gusano cogollero.

En el cuadro “B, C Y D” se identifica el estado larval del gusano cogollero.

En el cuadro “E” se identifica el estado de pupa del gusano cogollero.

En el cuadro “F” se identifica el estado adulto (mariposa) del gusano cogollero.

#### **2.4.1. Huevo o postura**

Individualmente son de forma globosa, con estrías radiales, de color rosado pálido que se torna gris a medida que se aproxima la eclosión. Las hembras depositan los huevos corrientemente durante las primeras horas de la noche, tanto en el haz como en el envés de las hojas, estos son puestos en varios grupos o masas cubiertas por segregaciones del aparato bucal y escamas de su cuerpo que sirven como protección contra algunos enemigos naturales o factores ambientales adversos (Angulo, 2000).

#### **2.4.2. Larva o gusano**

Las larvas al nacer se alimentan del coreon, más tarde se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo. Su color varía según el alimento, pero en general son oscuras con tres rayas pálidas estrechas y longitudinales; en el dorso se distingue una banda negruzca más ancha hacia el costado y otra parecida pero amarillenta más abajo, en la frente de la cabeza se distingue una "Y" blanca invertida (Angulo, 2000).

Las larvas pasan por 6 ó 7 estadios o mudas, siendo de mayor importancia para tomar las medidas de control los dos primeros; en el primero estas miden hasta 2-3 milímetros y la cabeza es negra completamente, el segundo mide de 4-10 milímetros y la cabeza es carmelita claro; las larvas pueden alcanzar hasta 35 milímetros en su último estadio. A partir del tercer estadio se introducen en el cogollo, haciendo perforaciones que son apreciados cuando la hoja se abre o desenvuelve (Angulo, 2000).

#### **2.4.3. Pupa**

Son de color caoba y miden 14 a 17 milímetros de longitud, con su extremo abdominal terminando en 2 espinas o ganchos en forma de "U" invertida. Esta fase se

desarrolla en el suelo y el insecto está en reposo hasta los 8 a 10 días en que emerge el adulto o mariposa (Angulo, 2000).

#### **2.4.4. Adulto o mariposa**

La mariposa vuela con facilidad durante la noche, siendo atraída por la luz; es de coloración gris oscura, las hembras tienen alas traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabescos o figuras irregulares llamativas en las alas delanteras, y las traseras son blancas. En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax. Permanecen escondidas dentro de las hojarasca, entre las malezas, o en otros sitios sombreados durante el día y son activas al atardecer o durante la noche cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia, especialmente cuando soplan vientos fuertes (Angulo, 2000).

#### **2.5. Métodos de control para *Sposoptera frugifera* (J.E. Smith)**

Los ataques de *S. frugiperda* se pueden controlar sin inconvenientes; la mejor herramienta es el monitoreo, y la aplicación de productos fitosanitarios según los niveles de daño económico (Croplife, 2015).

La mayoría de los fracasos ocurren como causa de tratamientos tardíos, donde la larva ya se encontraba dentro del cogollo, situación motivada por la falta de acciones oportunas de control o directamente la ausencia de visitas a los lotes sembrados (Croplife, 2015).

En Brasil, (Bianco 1995) propone el método de muestreo secuencial basándose en unidades muestrales de 5 plantas consecutivas y determinando que con un 25 % de nivel de

infestación debe tomarse una medida de control químico ya que superaría el nivel de daño económico (Croplife, 2015).

En Argentina (Iannone y Leiva) recomiendan la aplicación química cuando el nivel de infestación se encuentra entre un 15 a 20 % de plantas atacadas con larvas presentes hasta el estadio V4. Los mismos autores admiten hasta un 10 % de plantas con larvas si el cultivo se encuentra entre 4 y 8 hojas (Croplife, 2015).

En Argentina el Sistema de Alerta de Plagas – Servicio Técnico – INTA Pergamino sugiere:

Para el manejo exitoso de cogollero sobre gramíneas, resulta “clave” tomar decisiones antes que la misma "se proteja", tanto por profundizarse en el cogollo como por introducirse en la espiga, según el estado en el que se encuentre el maíz (Croplife, 2015).

### **2.5.1. Control químico**

Existen diversas estrategias de control químico, y la elección de cuál sea la misma dependerá de distintos factores como; nivel y tipo de daño producido, estadio larval de la plaga, ambiente, margen del cultivo, y otros. Es importante recorrer los lotes en busca de los primeros síntomas de daño (daño grado 1) y detectarlos. Ya que la larva, en este momento, se encuentra expuesta y es más fácil poder hacer control con insecticidas, situación totalmente distinta, cuando ya se encuentra protegida y cubierta de aserrín dentro del cogollo, en daños más avanzados (daño grado 3) (Urretabizkaya, 2018).

La agricultura parece algo sumamente fácil cuando nuestro arado es un lápiz y cuando nos encontramos a cientos de kilómetros de distancia de los campos de maíz. Dwight D. Eisenhower, Discurso Presidencial, 25 de septiembre de 1956 (Devine, et al., 2008).



De los 150 millones de km<sup>2</sup> del mundo, área total de tierra, el 10% está dedicado a la producción agrícola, 55% son praderas, pastizales y bosques y el resto no es adecuado para uso agrícola. La mayoría de esa producción agrícola depende de métodos agrícolas convencionales (es decir, incluyen la aplicación de productos agroquímicos sintéticos) que, a pesar de los pronunciamientos Malthusianos que indican lo contrario, continúan satisfaciendo las demandas del crecimiento de la población humana (Devine, et al., 2008).

En todo el mundo, desde 1960, la población se ha duplicado, la productividad agrícola ha aumentado 2,6 veces, pero los terrenos cultivables productivos han aumentado solamente en 10 %. Aunque la productividad en Europa, Asia, las Américas y Australasia ha aumentado vertiginosamente, la producción total de África (a pesar de algunos éxitos locales), continúa disminuyendo debido a una obstinada combinación de sequías, conflictos civiles, degradación de la tierra, métodos agrícolas deficientes y sistemas desfavorables de tenencia y propiedad de tierras (Devine, et al., 2008).

No obstante, estos triunfos generales, cada vez más nos damos cuenta de las consecuencias de la intensificación agrícola. La agricultura intensiva es responsable de la contaminación del aire y del agua del subsuelo, la eutrofización de los sistemas acuáticos, las emanaciones de gas invernadero y es además la fuente antropógena más importante de amonio, la causa principal de la lluvia ácida. La amplitud y los métodos agrícolas (pero no necesariamente insecticidas en sí) han conducido a la pérdida extensiva y permanente de la biodiversidad en muchos lugares (por ejemplo, las comunidades de invertebrados, mariposas en el Reino Unido; aves que viven en terrenos agrícolas en Europa; anfibios en Australia y América del Norte (Devine, et al., 2008).

Por lo que debemos asumir que estos patrones se están repitiendo en todo el mundo. Además, la sostenibilidad de la agricultura moderna misma se ve afectada por su

propio impacto en la degradación de los suelos, salinización, disponibilidad de agua y la reducción de la diversidad de cultivos, ganadería y ecosistemas agrícolas (Devine, et al., 2008).

En este contexto, las consecuencias ecológicas del uso de insecticidas causan gran preocupación. Aunque otros aspectos de la agricultura moderna por lo general tienen un mayor impacto en el medio ambiente, los insecticidas se encuentran entre las herramientas agrícolas que están más asociadas con el daño ambiental. Su objetivo específico es matar plagas de insectos y por consecuencia puede que tenga un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo (por ejemplo, recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas) y reducir o contaminar productos alimenticios para los niveles tróficos superiores (Devine, et al., 2008).

### **Tendencias actuales en el uso de insecticidas**

Pimentel indica que el uso de pesticidas en los sistemas agrícolas en los Estados Unidos devuelve aproximadamente \$4 por \$1 invertido en el control de plagas. Por lo tanto, queda claro por qué los métodos convencionales de manejo de plagas son tan atractivos. Sin embargo, esos costos no incluyen los costos sociales o ecológicos de la agricultura. Los costos ambientales y sociales asociados con el uso de pesticidas agrícolas en los Estados Unidos alcanzan los \$10 mil millones anuales y sólo \$2 mil millones para la vigilancia del agua y la limpieza de pesticidas (Devine, et al., 2008).

Los ingresos provenientes de las cosechas y la ganadería en los Estados Unidos son aproximadamente \$200 mil millones anuales que representan aproximadamente el 4% de los ingresos provenientes de la agricultura. En el Reino Unido, el gobierno calculó que los costos asociados con la contaminación del agua ocasionada por la agricultura eran alrededor de 1-2% del valor bruto total agrícola (Devine, et al., 2008).

Los costos ocasionados en el medio ambiente y la salud debido al uso de pesticidas en el año 1996 en el Reino Unido fueron equivalentes a aquellos ocasionados por la pérdida de hábitats y la erosión de los suelos, pero muy por debajo de aquellos ocasionados por las emisiones de gas y envenenamiento por alimentos; el único evento que ocasionó los mayores gastos ese año fue el brote británico de EEB (encefalopatía espongiforme bovina) (Devine, et al., 2008).

Las restricciones de la sostenibilidad acerca del uso de insecticidas incluyen los efectos sobre la salud humana, los ecosistemas agrícolas (insectos beneficiosos), el medio ambiente en general (especies que no son el objetivo, paisajes y comunidades) y la selección de rasgos que confieren la resistencia a los insecticidas en las especies plagas. Para todas estas categorías es posible encontrar ejemplos donde los insecticidas han sido utilizados de manera desastrosa, y otros donde los peligros que representaban han sido mitigados (accidentalmente o por estrategias implementadas) (Devine, et al., 2008).

La Organización Mundial de Salud ha calculado que alrededor de 20 000 personas mueren anualmente como consecuencia de la exposición a insecticidas (29), sin embargo, esas sustancias químicas también protegen la producción, las ganancias y la salud pública. También se ha demostrado que algunos insecticidas han devastado poblaciones de enemigos naturales en algunos sistemas (Devine, et al., 2008).

### **Efectos directos**

Es probable que la gran mayoría de eventos por envenenamiento con insecticidas en organismos que no son el objetivo, especialmente aquellos que afectan a las especies menos conocidas o no emblemáticas en los países en vías de desarrollo, no se registren. Los ejemplos que se presenta a continuación, analizan un pequeño subgrupo de eventos por envenenamiento directo o cambios en los niveles de la población y distribución de

especies. Los cambios en la población pueden ser el resultado de la toxicidad directa o los efectos subletales que se manifiestan tales como la reducción del tiempo de vida, tasas de desarrollo, fertilidad, fecundidad, proporción de sexos y comportamiento (por ejemplo, alimentación, forrajeo y reproducción) (Devine, et al., 2008).

Existe abundante bibliografía donde se catalogan dichos efectos (algunas revisadas por Stark y Banks (100)). Los reportes de toxicidad directa en la década de 1960 y principios de 1970 estaban dominados por los organoclorados altamente persistentes (diclorodifeniltricloroetano, DDT) y su profundo efecto en las poblaciones de aves de rapiña (101). La mayoría de estos químicos fueron reemplazados por organofosforados y carbamatos, durante la década de 1970 y 1980 y estos también demostraron ser en ocasiones devastadores para muchas poblaciones de aves, generalmente como resultado de la ingesta de semillas o granos tratados con estos insecticidas -revisado por White y Kolbe- (102) (Devine, et al., 2008).

Durante este periodo, el uso de gránulos de carbofurán en los campos de maíz en América del Norte sin duda tuvo un efecto devastador en especies de aves granívoras. Los datos proporcionados hicieron que un grupo calculara que 60-70 millones de aves de América del Norte estaban muriendo anualmente en los Estados Unidos como resultado directo de la exposición a pesticidas (105). Estas cifras continúan siendo ampliamente citadas (Devine, et al., 2008).

### **Efectos indirectos**

Los insecticidas pueden tener efectos tóxicos directos en los organismos (letales o subletales) o pueden tener efectos indirectos debido a la eliminación de las especies que son presas o competencia. Por lo tanto, existe preocupación por los efectos potencialmente

insidiosos de los pesticidas que operan a través de la cadena alimenticia (Devine, et al., 2008).

Los impactos de los insecticidas en los invertebrados pueden reducir la disponibilidad de fuentes de alimento y afectar su productividad o supervivencia. Es obvio que las medidas simples de la toxicidad directa no son lo suficientemente adecuadas para evaluar todas las consecuencias ecológicas del uso de los insecticidas, pero no existe metodologías estándares para evaluar los efectos de los insecticidas en la eliminación de las presas y competidores y sería imposible estandarizarlos, especialmente a escala de campo (Devine, et al., 2008).

Por mucho tiempo se ha aceptado que los efectos indirectos de los insecticidas pueden ser sutiles y pueden enmascarar o confundir los efectos tóxicos directos en la población o comunidad. En estudios sobre los efectos del ciclodieno Endrín en poblaciones de *Microtus spp* (ratón de campo), se demostró que los efectos tóxicos directos (letales y subletales) y los efectos indirectos (no tóxicos) actuaban al unísono (Devine, et al., 2008).

En parcelas experimentales, la aplicación del insecticida mató a los ratones de campo y disminuyó el número de manera local, pero, la población más lejana posteriormente respondió como lo haría frente a un despoblamiento causado por enfermedad o captura con trampas (Devine, et al., 2008).

Después de la aplicación del insecticida, hubo más reclutamientos de individuos (es decir, ratones de campo) en las parcelas experimentales que en las parcelas de control. Además, estos reclutas en las parcelas tratadas sobrevivieron mucho mejor que los nuevos individuos que ingresaron a la población de control más estable, probablemente debido a una disminución de los encuentros agresivos entre los ratones de campo en las áreas tratadas y menos pobladas. Dependiendo del periodo durante el cual se observan estos

acontecimientos, la aplicación del insecticida puede tener claramente ciertos efectos no calculados en las poblaciones (Devine, et al., 2008).

Dichas interrupciones, impredecibles en el ecosistema, son comunes. En un estudio sobre el impacto de carbaril en la rana leopardo del sur (*Lithobates sphenoccephala*), este pesticida no tuvo efectos directos en los renacuajos, pero redujo la mortalidad de éstos al tener un impacto letal en sus depredadores invertebrados. Asimismo, disminuyó la abundancia del perifiton (plantas y animales microscópicos) que sirve de alimento a los renacuajos. El efecto general fue un aumento en la supervivencia de renacuajos, pero con el predominio de individuos más pequeños (Devine, et al., 2008).

En la actualidad existe poca evidencia de los efectos significativos en las poblaciones de aves como consecuencia de los efectos directos de los insecticidas en el Reino Unido (109). A pesar de que muchas especies de aves que viven en terrenos de cultivo están disminuyendo, es difícil precisar los factores causales y todavía se desconoce los posibles impactos indirectos, provocados por el incremento del uso de insecticidas, para muchas especies de paserinos (tipos de ave) que han mostrado una disminución en su población y cambios en la distribución que coinciden con la intensificación de la agricultura (Devine, et al., 2008).

### **Efectos a largo plazo y recuperación**

Existe una carencia real de datos sobre la vigilancia de los efectos de los insecticidas durante periodos de tiempo prolongados. Sin embargo, los estudios de vigilancia de los niveles de contaminantes ambientales sugieren que muchos sistemas muestran una impresionante capacidad de recuperación (Devine, et al., 2008).

La disolución, dispersión y biodegradación de los contaminantes, todos actúan, a menudo durante periodos muy largos, para reducir su impacto ecológico. Por ejemplo, el

uso de DDT, uno de los insecticidas orgánicos persistentes más dañinos, fue prohibido en los Estados Unidos en 1973. Por la década de 1980, se había producido una reducción del 90% de DDT en los peces del Lago Michigan lo cual reflejaba la degradación y disolución del producto en el medio ambiente y por lo tanto en la cadena alimenticia (Devine, et al., 2008).

Estos productos químicos tienen impactos negativos en el ambiente, particularmente por la eliminación de la entomofauna benéfica, intoxicación de trabajadores agrícolas, residualidad en los alimentos, además de inducir la aparición de resistencia en el insecto (Gómez-Valderrama *et al.*, 2010; shahid *et al.*, 2012), razones por las cuales el control biológico surge como una alternativa viable al uso de estos productos, particularmente mediante el uso de microorganismos entomopatógenos. En la actualidad, se han reportado altas tasas de mortalidad de *S. frugiperda* causadas por entomopatógenos, tales como hongos, bacterias, virus, nematodos, entre otros (Estrada - Virgen *et al.*, 2013; Molina -Ochoa *et al.*, 2003).

**Imagen 2. Se presenta un cuadro con insecticidas sintéticos para el control de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith).**

**Ver imagen en anexos**

### **2.5.2. Control Biológico**

#### **Control de insectos fitófagos**

La mayoría de las plagas y organismos fitopatógenos tienen antagonistas biológicos o enemigos naturales que se pueden emplear como estrategia de lucha en un programa de control biológico. El llamado control biológico clásico consiste en la potenciación o utilización de los enemigos naturales de una plaga para reducir su población. Esto se puede llevar a cabo introduciendo en una determinada zona o región los enemigos naturales

propios del lugar de origen de la plaga (en el caso de ser una plaga introducida) (Rubio - & - Fereres, 2005).

También se pueden potenciar los propios enemigos naturales nativos presentes en el lugar donde la plaga se encuentra ya establecida. En un sentido restringido control biológico (o control microbiológico) es la introducción artificial de microorganismos antagonistas en un ecosistema determinado para controlar a un patógeno o una plaga (Rubio - & - Fereres, 2005).

Este concepto deriva del usado por los entomólogos de introducir depredadores para controlar las plagas de insectos. Quizá la definición más amplia y acertada de control biológico es la propuesta por uno de los pioneros en el tema, Paul Debach, que lo definió como “la acción de parásitos, depredadores y patógenos destinada a mantener la densidad poblacional de otro organismo a un nivel inferior al que se mantendría en su ausencia” (Rubio - & - Fereres, 2005).

El control biológico de insectos fitófagos se remonta al año 324 AC en el que los chinos empleaban la hormiga Pharaón, (*Monomorium pharaonis*) para el control de plagas de grano almacenado (Rubio - & - Fereres, 2005).

El Control Microbiano de insectos fitófagos es el uso de microorganismos patógenos para los insectos, principalmente hongos y bacterias siendo una estrategia muy deseable dentro de los programas de Control Integrado de Plagas (CIP), ya que son capaces de reducir las poblaciones de plagas a niveles inferiores a las que causan un daño económico, con la consiguiente disminución del uso de insecticidas de síntesis y sus consecuencias negativas para el medio ambiente (Rubio - & - Fereres, 2005).



### **Imagen 3. Se presenta algunos enemigos naturales de insectos como control biológico**

**Ver imágenes en anexos.**

#### **2.5.2.1. Activadores del receptor alostérico nicotínico de la acetilcolina (IRAC 5A.)**

##### **Spinosinas.**

El actinomiceto aeróbico, gram positivo del suelo *Saccharopolyspora spinosa*, tiene como producto de fermentación natural, metabolitos activos contra insectos llamados espinosinas. El insecticida es producido de manera natural (Urretabizkaya, 2018).

Son parte de los insecticidas llamados biorracionales, constituidos por moléculas de origen natural con un mecanismo de acción único, derivados de agentes naturales como los reguladores del crecimiento (IGR), los aceleradores de la muda (CAM) o inhibidores de la síntesis de quitina (IQ) y a productos de origen microbiano (virus, bacterias, hongos, etc.) como *Bacillus thuringiensis* (Bt), spinosad o avermectinas. En general deben ser ingeridos por la plaga por lo cual es importante lograr una buena calidad de la aplicación. También incluye feromonas (Urretabizkaya, 2018).

Su primer registro fue para algodón en 1997, es especialmente eficaz contra lepidópteros, aunque también puede controlar minadores y Trips. Es un producto con larga residualidad, baja toxicidad, ideal para planteos de manejo integrado, baja toxicidad para mamíferos y abejas. Se degrada principalmente por luz y microorganismos (Urretabizkaya, 2018).

**Mecanismo de acción** Las espinosinas se unen a un sitio que modula al receptor nicotínico de acetilcolina en forma remota y muy selectiva con respecto al sitio de unión ACh. Este sitio de acción es el modulador de los canales de cloro abiertos, conocidos como sitio de unión de la lactona macrocíclicas. El resultado final como en los neonicotinoides

es el mismo ya que los receptores de ACh se mantienen activados por tanto spinosad como por neonicotinoide, lo que resulta en ambos casos hiperexcitación del sistema nervioso y en parálisis (Urretabizkaya, 2018).

A su vez las Spinosinas afectan los receptores de GABA y los canales de Cl, lo que no ocurre en neonicotinoides.

**Acción en el insecto:** contacto e ingestión

**Acción en la planta:** poco sistémicos (Urretabizkaya, 2018).

### **2.5.2.2. Control de insectos por hongos**

Entre los insecticidas microbianos, los hongos entomopatógenos son los más eficaces para el biocontrol de insectos picadores-chupadores, tales como los pulgones y mosca blanca (Orden: Homoptera) debido a que el modo de infección es por contacto con la cutícula del insecto (Rubio & Fereres, 2005).

Entre los hongos que afectan a los pulgones destacan el orden entomophtorales y algunos hongos mitospóricos, entre los que destacan *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana*, considerados los patógenos más efectivos en condiciones de campo e invernadero. Estos dos últimos hongos se están produciendo comercialmente y se usan como agentes de biocontrol (Rubio & Fereres, 2005).

Los hongos entomophtorales son un orden de zigomicetos que comprende numerosos géneros y muchas especies de estos hongos parasitan insectos. La mayoría de estos hongos presenta una alta especificidad de hospedador y son parásitos obligados y aunque desde este punto de vista son buenos candidatos para controlar insectos, presentan el problema de que son difíciles de cultivar a escala industrial por sus requerimientos nutritivos, que son bastante complejos (Rubio & Fereres, 2005).

Los géneros más importantes encontrados en campo atacando insectos son *Conidiobolus*, *Erynia* y *Entomophthora* (atacan pulgones), *Zoophthora* (pulgones, orugas y escarabajos) y *Entomophaga* (saltamontes y orugas). Ninguno de ellos, a pesar de su capacidad de causar epizootias, parece un buen candidato para convertirse en un producto comercial (Rubio & Fereres, 2005).

El ciclo de infección del insecto comienza con una espora del hongo o un conidio que aterriza en la cutícula del insecto, en condiciones favorables la espora germina, produciendo un tubo germinal que penetra la cutícula, una vez en la hemolinfa el hongo coloniza al insecto. Una colonización completa del insecto típicamente requiere de 7 a 10 días y el insecto muere. Algunos hongos producen toxinas peptídicas durante la colonización y en estos casos el insecto muere antes. En el insecto muerto, el micelio sale al exterior y forma nuevas esporas o conidios que infectan a nuevos insectos, completándose el ciclo (Rubio & Fereres, 2005).

Por otro lado, en condiciones de laboratorio se ha encontrado que numerosas cepas aisladas de distintos huéspedes y regiones geográficas de los hongos *Paecilomyces spp.* y *Beauveria bassiana* son altamente virulentas para *Bemisia argentifolii*. En ensayos realizados en invernaderos comerciales de tomate y pimiento en Almería y Alicante se observó un aumento significativo de la mortalidad de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en las parcelas tratadas con una formulación de *V. lecanii* con respecto a las no tratadas (Rubio & Fereres, 2005).

Además, se observó que la mortalidad causada por los insecticidas químicos no fue diferente de la producida en las parcelas no tratadas, lo que muestra el alto nivel de resistencia adquirida por la plaga a los insecticidas convencionales en el área de estudio, concluyendo que la utilización de *V. lecanii* es una excelente alternativa en el control de

moscas blancas y una herramienta eficaz en los programas de manejo de resistencias (Rubio & Fereres, 2005).

### **Control biológico con *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.**

#### **Imagen 4. Larva infectada por *Beauveria bassiana* en ambiente natural**

**Ver imagen en anexos.**

#### **Imagen 5. Observación microscópica del micelio del hongo, conidióforos y esporas.**

**Ver imagen en anexos.**

Letra “A”. Se identifica la hifa

Letra “B”. Se identifica el conidioforo

Letra “C”. Se identifica las esporas

El hongo *B. bassiana* es considerado uno de los agentes de control biológico con mejor eficiencia en el sector agrícola. Existen experiencias de todas partes del mundo en el control exitoso de varios tipos de plagas, que causan daño y grandes pérdidas en el sector (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

*B. bassiana*, al igual que otros hongos entomopatógenos, antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como son: pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis. Con la muerte del insecto, el beneficio se incrementa pues la esporulación y posterior dispersión del hongo, permite un control más allá de la aplicación (Estrada et al., 1997; Vargas, 2003; Malpartida, 2004).

### **Descripción morfológica de la colonia:**

Es un hongo Deuteromicetes que en medio de cultivo específico (PDA), crece formando una estructura algodonosa y polvosa de color blanco conocida como muscardina blanca. Cuando la colonia va envejeciendo se vuelve crema amarillenta. El revés es de color rojizo en el centro cuando está en crecimiento y amarillo alrededor (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

### **Descripción microscópica:**

Micelio septado, conidióforos de 1 a 2 micras de diámetro, de donde nacen conidios o esporas hialinas redondas y ovaladas de 2 a 3 micras de diámetro, que se insertan en el raquis (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

### **Ventajas de *Beauveria bassiana***

Los hongos como *B. bassiana* que pueden causar enfermedades en los insectos, son llamados entomopatógenos. Viven naturalmente en el ambiente, suelos o en agua, como así también alojados en los mismos cuerpos de los insectos, causando su muerte en un plazo aproximado de cinco a siete días; con la posibilidad de propagar la enfermedad a otros insectos bajo condiciones favorables de temperatura y humedad (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

- Los entomopatógenos como *B. bassiana*, se multiplican y dispersan dentro del mismo cultivo favoreciendo la acción reguladora de la población de insectos-plaga.
- Éstos permanecen en el área en insectos vivos invernantes; en sus restos o en el suelo; y pueden ser transmitidos de una generación a otra del insecto, por contaminación de los desoves e infección de las crías recién nacidas.

- Los microorganismos pueden ocasionar no sólo la muerte directa de los insectos, en este caso hormigas cortadoras, sino también la disminución de la oviposición; viabilidad de los desoves o aumentar la sensibilidad a otros agentes de control.
- Una vez establecido el entomopatógeno en el área, mantiene la población de la plaga por debajo de los niveles de daño económico.
- Los entomopatógenos no contaminan el ambiente y no son tóxicos para el hombre y otros animales.
- La aparición de resistencia en los insectos hacia los patógenos es extremadamente baja, comparada con a alta probabilidad de adquirirla, si se usaran agroquímicos (Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

#### **Investigaciones realizadas a lepidópteros con *Beauveria bassiana***

- **PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYÁ *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) EN LABORATORIO. (Zevallos et al., 2013)**

Se realizó un ensayo, con el fin de estudiar una cepa comercial de *B. bassiana* en el control de larvas de *D. juno*, evaluando su patogenicidad, sintomatología, efecto en la alimentación y caracterización morfológica, además de determinar la CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub>. Estableciendo de esta manera si constituye o no, una alternativa eficiente de control biológico del “gusano defoliador del maracuyá” (Zevallos et al., 2013)

#### **Resumen**

Los hongos entomopatógenos constituyen una alternativa en el manejo integrado de muchas plagas. En el presente trabajo se determinó la patogenicidad del hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., para uso potencial como agente de control biológico contra larvas

de tercer estadio del “defoliador del maracuyá” *Dione juno* (Lepidoptera: Nymphalidae), una plaga importante del maracuyá. El aislamiento evaluado mediante aplicación directa de suspensiones de 106, 107 y 108 conidias mL<sup>-1</sup> pertenece a la colección comercial del Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA y registró una mortalidad en las larvas de *D. juno*, entre 20% y 84% al cuarto día. La CL50 y la CL95 fueron de 9.39 x 10<sup>6</sup> conidias mL<sup>-1</sup>, y 1.42 x 10<sup>8</sup> conidia mL<sup>-1</sup> respectivamente, por lo que se concluye que la cepa CCB-LE 262 de *Beauveria bassiana* (*Bb* SENASA) tiene un gran potencial como controlador biológico de *D. juno*. (Zevallos et al., 2013).

**Imagen 6. Larvas inoculadas de *Dione juno*, demostrando disminución en su alimentación al segundo día (Concentración 10<sup>8</sup> conidias mL<sup>-1</sup>).**

**Ver imagen en los anexos.**

### **2.5.2.3. Control de insectos por bacterias**

#### **Bacterias que producen esporas**

La lucha microbiológica tiene un gran potencial futuro ya que algunos de los microorganismos entomopatógenos son más susceptibles de ser tratados industrialmente para su producción a gran escala. También pueden ser aplicados con la maquinaria habitual que el agricultor emplea para los tratamientos fitosanitarios (Rubio & Fereres, 2005).

Hace cerca de cinco años se comprobó que ciertas cepas de un microorganismo llamado *Bacillus phaericusson* ligeramente patógenas, o causantes de enfermedades, en larvas de mosquitos. Una búsqueda específica de otras cepas que manifestaran mayor actividad dio por resultado el descubrimiento de varias que, al parecer, podrían ser tan eficaces como los larvicidas químicos (Basualdo, 1996).

En la actualidad, la más importante de ellas, en proceso avanzado de desarrollo, es una cepa denominada “1593”, que ha sido producida de manera experimental por la industria y evaluada en el campo. Algunas otras cepas de este bacilo, descubiertas con posterioridad, parecen igualmente prometedoras. Durante muchos años se ha utilizado *Bacillus thuringiensis* para destruir ciertas plagas de las siembras y los bosques. Hasta 1977 todas las cepas conocidas de este bacilo solo eran las específicas de las orugas (Basualdo, 1996).

***Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.**

**Imagen 7. Observación de la bacteria *B. thuringiensis* a través de un microscopio, aplicando la técnica de tinción de Gram.**

**Ver imagen en anexos.**

**Imagen 8. Cultivo de *B. thuringiensis* en fase estacionaria de crecimiento, visto en microscopio de fase a 1000X.**

**Ver imagen en anexos.**

Es una bacteria Gram positiva facultativa aeróbica cuya principal característica es la síntesis, durante la esporulación de proteínas con estructura de cristal conocida como  $\delta$ -endotoxina o proteínas Cry (Castañet & Moreno, 2016).

Se caracteriza por su habilidad para producir cristales parasporales durante la fase de esporulación. La morfología, tamaño y número de las inclusiones parasporales varía entre las diferentes cepas de *B. thuringiensis*. Estos cristales están compuestos de proteínas denominadas  $\delta$ -endotoxinas o proteínas Cry. Su peso molecular oscila entre 25 y 140 kDa, y constituyen del 20 al 30% del contenido de la bacteria. Estas toxinas presentan actividad



insecticida hacia diversos órdenes de insectos, principalmente lepidópteros, dípteros y coleópteros [Del Rincón-Castro *et al.*, 2006; Iñigo *et al.*, 2006].

Están codificadas por múltiples genes presentes en grandes plásmidos. Hasta la fecha se han clasificado 332  $\delta$ -endotoxinas dentro de 47 grupos de proteínas Cry, 22 proteínas Cry en dos grupos y otras seis proteínas de *B. thuringiensis* que no se han clasificado dentro de un grupo específico (Crickmore *et al.*, 2005). Las proteínas tóxicas hacia larvas de lepidópteros pertenecen a los grupos Cry 1, Cry 2 y Cry 9. Dentro del grupo Cry 1 existen alrededor de diez subclases diferentes, y cada una tiene un rango de actividad específico contra diferentes insectos lepidópteros (Bobrowski *et al.*, 2001; Del Rincón-Castro *et al.*, 2006).

El uso de *B. thuringiensis* como insecticida comercial en la agricultura por más de cuarenta años se basa en su alta especificidad y eficiencia hacia las diferentes plagas, y la no toxicidad hacia insectos, plantas y vertebrados no blancos (Baró, Fontana & Dos Santos, 2009).

Sin duda, el mayor éxito en el control microbiano de insectos se ha conseguido mediante la bacteria *B. thuringiensis*. Este bacilo es capaz de producir una endotoxina que ataca a numerosos insectos-plaga. Hay cepas específicas de algunos grupos importantes de plagas (*BT tenebrionis* específica de Coleópteros, *BT israeliensis* específica de Dípteros y la más usada es *BT kurstaki* específica de Lepidópteros). (Rubio & Fereres, 2005).

Los cristales (Cry) que produce la bacteria *B. thuringiensis* en condiciones de stress son agregados de una proteína de gran tamaño (130-140 kilo-Daltons, -kDa-) que en realidad no es activa por si misma (es una protoxina) por ser insoluble. Cuando la protoxina se somete a condiciones muy básicas (pH superior a 9.5) como las existentes en el intestino de algunos insectos se solubiliza y se transforma por medio de las proteasas del

insecto en una toxina activa de unos 60 kDa. Esta es la toxina que se conoce con el nombre de  $\delta$ - endotoxina de *BT*. Actúa uniéndose a receptores de las células epiteliales del intestino del insecto produciendo poros y lisis osmótica de las células que finalmente provoca su muerte (Rubio & Fereres, 2005).

Actualmente, el gen responsable de la producción de esta endotoxina ha sido introducido en plantas de tabaco, maíz, tomate, algodón, patata, remolacha y colza entre otros cultivos. La gran aceptación de los cultivos transgénicos especialmente en Estados Unidos de Norteamérica ha aumentado el rendimiento por Ha y los ingresos de los agricultores de estos países. El primer éxito logrado en este campo se obtuvo en 1987 cuando fue posible la producción de plantas transgénicas de tabaco capaces de producir por sí mismas una toxina de una bacteria (*Bacillus thuringiensis*) que tiene efectos letales para determinados insectos fitófagos (Rubio & Fereres, 2005).

La mayor parte de los esfuerzos en incorporar genes útiles para el control de insectos mediante técnicas de ingeniería genética se han centrado en el gen responsable de la síntesis de la endotoxina de *B. thuringiensis*. El *BT* como bioinsecticida es poco estable porque las esporas y los cristales (endotoxinas) se inactivan fácilmente con la luz UV. La solubilización de los cristales (proteínas) dependen del ambiente (especialmente pH) existente en el aparato digestivo del insecto diana. La gran selectividad ecológica de los insecticidas basados en *BT* se debe a que cada tipo de cristal solo es soluble y activo a determinado pH y por tanto ataca específicamente a un determinado grupo de insectos (Rubio & Fereres, 2005).

En las plantas *BT* no es posible incorporar el transgén que codifica para la protoxina (por ser esta insoluble en las células de la planta, pH = 7,6), este problema se resolvió usando genes truncados que solo expresan la parte activa de la toxina (60KDa),

consiguiéndose de esta forma mayor eficacia en el control, pero menor selectividad. (Rubio & Fereres, 2005).

**Imagen 9. Mecanismo de acción de proteínas Cry en insectos lepidópteros. 1) Unión de la toxina a caderina y clivaje desde su extremo C-terminal para generar la forma monomérica activa.**

**Ver imagen en anexos.**

**2a)** inicio de la cascada de señalización dependiente de  $Mg^{2+}$ , estimulación de exocitosis de caderina desde vesículas intracelulares hacia la membrana apical y consiguiente muerte celular;

**2b)** formación de la estructura oligomérica pre-poro;

**3)** unión del oligómero a la aminopeptidasa N (APN) y/o fosfatasa alcalina (ALP) y migración a zonas específicas de la membrana;

**4)** formación del poro;

**5)** desequilibrio osmótico y consiguiente muerte celular. Adaptado de (Bravo et al. y Zhang et al).

**Investigaciones realizadas a lepidópteros con *Bacillus thuringiensis***

- **PRODUCTOS BIOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**

**Resumen:**

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las principales plagas polífagas de cultivos en Durango, México, en su control se emplean

muchos químicos, generalmente, nocivos para la salud. Como una alternativa al uso de estos insecticidas, se evaluó la toxicidad de diferentes productos comerciales para el control biológico de gusano cogollero. Los productos evaluados en laboratorio contra larvas neonatas fueron: Micoralis® a base de *Beauveria bassiana*, Crimax® (*Bacillus thuringiensis*) y Neempower® (aceite de neem), así como un insecticida químico, como control positivo (Lorsban®). Se utilizó un diseño completamente al azar con mediciones repetidas cada 24 h. El producto más efectivo para el control de gusano cogollero fue Neempower®, a una dosis del 20,00%, se obtuvo una mortalidad promedio del 86,66%; fue seguido por Crimax® (70,66%), con una CL50 de 189,53 µg mL<sup>-1</sup>. Micoralis® resultó menos efectivo, a una concentración de 1 x 10<sup>9</sup> esporas mL<sup>-1</sup> (49,33%) con una CL50 de 2,53 x 10<sup>9</sup> esporas mL<sup>-1</sup>. Se encontró que es posible combinar el producto biorracional (neem) con *B. thuringiensis* para lograr un control efectivo. Lorsban® causó el 100% de mortalidad, a una concentración del 1%, lo que indica que este producto es altamente tóxico tanto para el insecto plaga, así como para sus enemigos naturales y polinizadores, por lo que no se recomienda su uso. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $F = 673,23$ ;  $P = 0,001$ ). El trabajo reveló que es posible implementar el uso de bioinsecticidas y biorracionales para el control de *S. frugiperda* en la región de estudio (Gonzales, Gurrola & Hernández, 2015).

### **Ventajas del *B. thuringiensis***

Las toxinas *BT* se han usado desde hace más de 40 años como insecticidas sin que se hayan detectado fenómenos de resistencia. Por otra parte, las toxinas *BT* son muy selectivas y actúan solo por ingestión (aunque este tipo de selectividad ecológica es menor en plantas *BT*). Además, en general son respetuosas con la fauna auxiliar, salvo algunas excepciones (Rubio & Fereres, 2005).

También son más respetuosas con el medio ambiente que los insecticidas convencionales de amplio espectro y se pueden usar solo cuando son necesarias, cuando se alcance umbral de intervención y se degradan fácilmente y no se acumulan en la cadena trófica (o al menos por largos periodos de tiempo), por consiguiente, son totalmente compatibles con Programas MIP, aunque la compatibilidad es menor para plantas BT. (Rubio & Fereres, 2005)

### **Desventajas del *B. thurigiensis***

La principal desventaja es la posible aparición de resistencias en periodos relativamente cortos de tiempo (debido a que la plaga está sometida a la presión selectiva de 1 o pocos genes y dicha presión se ejerce sobre una gran superficie de cultivo), una posible solución es respetar los refugios de la plaga sembrando un cultivar susceptible en una superficie reducida pero próxima al cultivo (Rubio & Fereres, 2005).

De esa manera se puede mantener una población de insectos (taladros) fuera de la presión selectiva de *BT* y por tanto generar una reserva de genes de susceptibilidad. Existen algunos casos de resistencia a *BT* ya detectados (*Plutella xylostella*/repollo), que incluso pueden usar la toxina como fuente suplementaria de alimento (Rubio & Fereres, 2005).

### **Métodos para retrasar la aparición de resistencias a *B. thurigiensis***

Podemos separar métodos a corto, medio y largo plazo. A corto plazo, se puede utilizar la expresión de una alta concentración de toxina junto con la creación de refugios carentes de toxina para los insectos, en algodón se recomienda 4 Ha de no transgénico por cada 100 de transgénico, también ayuda el fomento de la presencia y la acción de fauna auxiliar y el seguimiento de las poblaciones del insecto diana para detectar rápidamente la

posible aparición de insectos resistentes junto con la evaluación de posibles fallos en el control del insecto diana (Rubio & Fereres, 2005).

A medio plazo (2-5 años) se debe continuar con las estrategias anteriores y combinar, 2 genes Cry diferentes que codifiquen proteínas Cry (formadoras de cristales) diferentes y con diferentes modos de acción o que se expresen en distintos tejidos. A largo plazo (> 5 años), se deben continuar las estrategias anteriores e incorporar otros genes naturales de resistencia para resistencia poligénica (Rubio & Fereres, 2005).

En 1978 se puso en marcha un amplio plan de investigación y desarrollo en que se escogieron particularmente alrededor de doce especies o cepas de bacterias, hongos, protozoarios y nematodos (gusanos parásitos) capaces de enfermar y causar la muerte a insectos huéspedes. En los últimos meses de 1979 se agregaron a la lista varios devoradores de insectos (Basualdo, 1996).

Desde la década de los 80, se consideró el uso de la feromona sexual de insectos como técnica de manejo integrado de plagas (MIP), útil tanto para evaluación como control de poblaciones, al hacer seguimientos, captura en masa e interrumpir el apareamiento (Carde & Elkinton 1984; wyatt, 1998; Agudelo *et al.*, 2010); por su bajo costo y facilidad de implementación, se ha expuesto como alternativa atractiva para una agricultura sustentable (Adamczyk *et al.*, 2003; Villalobos, 2003).

Una de las motivaciones principales para el desarrollo actual de sistemas de control biológico es la reducción de la utilización de plaguicidas químicos de síntesis. La preocupación que comienza a existir actualmente sobre la salud, seguridad y medio ambiente, y los efectos negativos de los productos químicos utilizados por la agricultura en las aguas, suelos y alimentos, requieren una disminución en el uso de dichos plaguicidas (Rubio & Fereres, 2005).

Además, el control biológico puede ser especialmente importante para su utilización en sistemas en los que el control químico no es económico o efectivo, y también puede reducir otros problemas asociados con determinados sistemas de control químico, como son el desarrollo de resistencias del patógeno, reducción de poblaciones de microorganismos beneficiosos y la creación de vacíos ecológicos (Rubio & Fereres, 2005).

El control biológico generalmente tiene efectos más específicos que el control químico, y solo el microorganismo patógeno o la plaga clave se ve negativamente afectado, respetando a otros microorganismos beneficiosos y fauna útil (artrópodos que actúan como enemigos naturales de las plagas) (Rubio & Fereres, 2005).

Con esta investigación se pretende brindar una alternativa al agricultor para el control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) sin el uso de químico (plaguicidas). Así reducir el daño al ecosistema, animales y hombre por el abuso de químicos y la relación costo beneficio (García - Gutiérrez *et al.*, 2012).

En resumen, el control biológico puede ser más seguro para humanos, cosechas y medio ambiente, y tiene el potencial de ser más estable y durar más tiempo que otros métodos de control, siendo totalmente compatible con los conceptos y objetivos del control integrado y una agricultura sostenible (Rubio & Fereres, 2005).

#### **2.5.2.4. Control de insectos con insecticidas Biológicos a bases de plantas.**

La mejor defensa contra las plagas y enfermedades que sufren los sistemas urbanos y periurbanos de producción agrícola es el diseño de ambientes productivos integrados y biodiversos, manteniendo a las plantas bien nutridas y contribuyendo a lograr el equilibrio de los agro ecosistemas urbanos (IPES / FAO, 2010).

Sin embargo, cuando trabajamos en espacios altamente modificados como muchos huertos urbanos y predios periurbanos o nos enfrentamos a importantes niveles de degradación del suelo y a agro ecosistemas en desequilibrio, debemos realizar un manejo sostenible de plagas y enfermedades (IPES / FAO, 2010).

El manejo sostenible de plagas y enfermedades busca aplicar un conjunto de prácticas integrales a los cultivos que tienen como propósito mantener la población de insectos plaga en un nivel que no sea perjudicial para los agro ecosistemas productivos urbanos. El conjunto de prácticas integrales incluye, entre otros, el uso de variedades resistentes, uso de biopreparados, plantas trampa y repelentes, además del control biológico y cultural (IPES / FAO, 2010).

Para corregir los desequilibrios que se manifiestan en ataques de plagas y enfermedades, la agricultura urbana sostenible utiliza productos elaborados a partir de materiales simples, sustancias o elementos presentes en la naturaleza (aunque en algunos casos pueden incorporar productos sintéticos) que protegen y/o mejoran los sistemas productivos en los que se aplican y que se denominan biopreparados (IPES / FAO, 2010).

Son sustancias y mezclas de origen vegetal, animal o mineral presentes en la naturaleza que tienen propiedades nutritivas para las plantas o repelentes y atrayentes de insectos para la prevención y control de plagas y/o enfermedades. A lo largo de la historia, los biopreparados se han desarrollado a partir de la observación empírica de los procesos y efectos de control que realizan dichos productos. Por este motivo, la mayor parte de los biopreparados no tienen un autor definido y, en muchos casos, ni siquiera se conoce con precisión la ciudad o el país de origen (IPES / FAO, 2010).

En los últimos años, estos procesos de observación que han realizado principalmente los agricultores, han comenzado a interesar a los investigadores, empresas e



instituciones gubernamentales que han planteado su uso extensivo y comercial para la agricultura de pequeña y gran escala. Pese a la facilidad en su preparación y su baja toxicidad, es importante mencionar que el manejo de los biopreparados requiere de cuidados para evitar la ingestión y el contacto con la piel (uso de guantes) de altas concentraciones de estos productos (IPES / FAO, 2010).

### **Ventajas**

- Son conocidos y preparados por los propios agricultores urbanos disminuyendo la dependencia de los técnicos y las empresas.
- Se basan en el uso de recursos que, generalmente, se encuentran disponibles en las comunidades, constituyendo en una alternativa de bajo costo para el control de plagas y enfermedades.
- Casi no requieren de energía a base de combustibles fósiles para su elaboración.
- Suponen un menor riesgo de contaminación al ambiente, ya que se fabrican con sustancia biodegradables y de baja o nula toxicidad.
- Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos, incluso algunos pueden ser utilizados poco tiempo antes de la cosecha.
- Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto, aunque a la larga no causen la muerte del mismo. Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales. Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos (IPES / FAO, 2010).

### **Desventajas**

- Para su elaboración requieren de algunos conocimientos por parte de los técnicos y los agricultores urbanos.

- El proceso de elaboración puede demandar cierto tiempo y, muchas veces, los ingredientes necesarios no se encuentran disponibles todo el año, por lo que su preparación debe ser planificada.
- No siempre pueden almacenarse para un uso posterior.
- Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo, aunque en muchos casos, no se han determinado con exactitud los límites máximos de residuos.
- Algunos como el tabaco, barbasco, etc. demandan mucho cuidado en su preparación debido a su toxicidad.
- En muchos casos no han sido validados con rigor científico, en especial en lo que refiere a las dosis y los momentos de aplicación. Cómo su uso está basado en la práctica, debemos recordar que las condiciones de producción o ecológicas pueden cambiar.
- Su manejo requiere de cuidados para evitar la ingestión y el contacto con la piel (uso de guantes) de altas concentraciones de algunos de ellos (IPES / FAO, 2010).

En Cuba, la División de Bioplaguicidas del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, desarrolla investigaciones de carácter básico y aplicado sobre los biopreparados de uso más frecuente tanto para la agricultura urbana convencional como para la agricultura orgánica orientada al mercado. Como parte de sus actividades, el Instituto elabora los requisitos de funcionamiento y seguridad biológica para los 220 Centros Reproductores de Bioplaguicidas (CREE) y las 4 Plantas industriales distribuidas por todo el país (IPES / FAO, 2010).

La producción anual supera las 2.000 toneladas de bioplaguicidas, que se utilizan en los cultivos de importancia económica, para el control seguro de plagas de insectos,

ácaros, nematodos y otros artrópodos y de fitopatógenos de suelo y foliares (IPES / FAO, 2010).

### **Clasificación de los Biopreparados**

Pueden clasificarse atendiendo a diversos criterios siendo los más comunes: De acuerdo a la forma de acción:

- Bioestimulante/bioenraizador
- Biofertilizante
- Biofunguicida
- Bionsecticida / biorepelente (IPES / FAO, 2010)

### **De acuerdo a la forma de preparación:**

- Extracto
- Infusión
- Decocción
- Purín
- Macerado
- Caldo (IPES / FAO, 2010)

### **Bioinsecticida / Biorepelente.**

Los Bioinsecticidas se preparan a base de sustancias naturales con propiedades reguladoras, de control o de eliminación de insectos considerados plagas para los cultivos. Se extraen de alguna planta, de los propios insectos o pueden ser de origen mineral. Dentro de este grupo existen los microbiales, desarrollados a partir de microbios (bacterias, hongos, virus) capaces de producir enfermedades a ciertos insectos considerados plagas.

Uno de los más conocidos es el *Bacillus thuringiensis* que controla gusanos o larvas (IPES / FAO, 2010).

Los Biorepelentes se preparan a base de plantas aromáticas, que actúan manteniendo los insectos considerados plagas, alejados de las plantas. Trabajan provocando un estado de confusión en los insectos que, naturalmente, se guían por olores que los orientan a la planta que los alimenta. La ventaja de utilizar bioinsecticidas y biorepelentes se apoya en que, por lo general, posee un bajo riesgo para la salud humana, son de bajo costo, se degradan fácilmente, no afectan la fauna benéfica (insectos y otros organismos que naturalmente actúan controlando a plagas y enfermedades) y no generan resistencia en las plagas como sucede con los insecticidas y fungicidas químicos (IPES / FAO, 2010).

Como desventaja, su uso necesita mayor conocimiento de las propiedades de las plantas, suelen poseer principios repelentes, y no tanto para la eliminación de las plagas. Esto hace que sean más efectivos como preventivos que cuando deben actuar combatiendo niveles importantes de infestación. Su efecto dura pocos días y es necesario repetir su aplicación. Todo esto hace que sea necesario incorporar la elaboración de los biopreparados con mucho tiempo en la planificación del agricultor (IPES / FAO, 2010).

### **Imagen 10. Diferentes biopreparados orgánicos**

**Ver imagen en anexos.**

#### **Insecticida Orgánico Neem – Organic**

Es un insecticida orgánico de uso agrícola de origen vegetal elaborado a base de Neem (*Azadirachta indica*).

Es un concentrado emulsionable que contiene dos componentes.

Azadirachtina. Se comporta como un antinutriente para los insectos.

Nimbina. Que tiene propiedades fúngicas y antisépticas.

### **El Neem**

El neem, conocido por su pronunciación inglesa “nim” es un árbol que mide de cuatro o cinco metros de altura, con hojas pequeñas de color verde intenso, frutos 9 arracimados de forma cónica y de color amarillo, que destacan entre el follaje. Por su belleza y originalidad se utiliza como árbol de tipo ornamental. Procede de la India, su nombre científico es *Azadirachta indica* A. Jus y pertenece a la familia *Meliaceae* (Gonzalez, 2002).

Dos son los únicos enemigos naturales del neem: el chapulín o langosta (*Acrididae*, *Orthoptera*) al que le gusta comer los brotes tiernos, donde todavía no se acumula suficiente insecticida como para acabar con un insecto tan grande. Y el zompopo (*Atta sp*, *Hymenoptera*), que se lleva las hojas a los hormigueros para producir con la fermentación de ellas y de otras hojas los hongos que les sirven de alimento. Como no come las hojas, no sufre los efectos de su veneno (Paz, 1997).

Para enfrentar ambas plagas se utilizan procedimientos mecánicos para ahuyentar a los insectos o dificultar su acceso al árbol. El neem produce dos cosechas al año: la primera y más importante, de junio a agosto y la segunda, entre diciembre y enero (Paz, 1997).

El neem soporta la sequía, ayuda a controlar la erosión de los suelos, da buena sombra y es capaz de crear un microclima de frescura y verdor en zonas especialmente secas y áridas. Sus hojas, al caer, se descomponen y ayudan a recuperar hasta los suelos

más degradados. Su madera es de buena calidad y puede utilizarse tanto para muebles, como para leña cuando se hacen las necesarias podas anuales (Rodríguez, 2002).

### **Imagen 11. Insecticidas formulados a base de neem**

**Ver imagen en anexos.**

### **Propiedades bioinsecticidas del neem**

Desde los primeros estudios del Dr. Siddiqui en 1942, más de 100 componentes terpenoides, la mayoría de los tetratriterpenoides, diterpenoides, titerpenoides, pentatriterpenoides, hexatriterpenoides y algunos compuestos no terpenoides han sido aislados de varias partes del árbol, logrando determinarse su acción como insecticida (Saxena 1996).

Son de principal interés los terpenoides, compuestos por carbono, hidrógeno y oxígeno. La presencia del oxígeno hace esos compuestos más solubles en agua, metanol o etanol que en hexano, gasolina u otros solventes similares. Actualmente se conoce de la existencia de unos 100 terpenoides, siendo el más activo la azadiractina de la que existen varios tipos que varían desde la azadiractina A, a la azadiractina K (Saxena 1996).

### **Imagen 12. Componentes limonoides (triterpenos) encontrados en el árbol de neem y los tejidos en donde se concentran.**

**Ver imagen en anexos.**

La azadiractina, salannina, melantriol, y nimbina, son los más conocidos y por ahora al menos, parecen ser los más significativos. Estos actúan simultáneamente en tres direcciones contra los insectos dañinos: es repelente, es fagodeterrente y ataca el sistema hormonal del insecto (Saxena, 1996).

Su acción como fagodeterrente, detiene el crecimiento de los insectos dañinos. Las plantas tratadas con insecticidas de neem pueden ser comidas por esos insectos, pero al llegar a cierto punto de ingestión, el insecto, todavía en su etapa de larva, empieza a comer cada vez menos, hasta que deja de comer y muere, sin alcanzar la madurez sexual. El daño causado al cultivo por los insectos que alcanzaron a comer, puede considerarse una inversión para ir reduciendo la plaga en sucesivas generaciones (Martínez, 1999).

El extracto del neem como insecticida ha sido aprobado en control de plagas en cultivos para la obtención de alimentos. Se encontró que no es tóxico para seres humanos, animales e insectos auxiliares, protegiendo las cosechas con más eficacia que los 200 pesticidas más usados y costosos (González, 2002).

Las temperaturas parecen jugar un papel de forma indirecta: temperaturas más altas incrementan el efecto porque los insectos son más activos bajo estas condiciones, y el efecto anti comida es conseguido más rápidamente que a bajas temperaturas (Martínez, 1999). Hay que tener en cuenta el efecto que la radiación solar produce sobre su eficacia, ya que causa una disminución sobre su efecto anti comida, no obstante, se puede evitar si se mezcla el aceite de Neem, con aceite de angélica, ricino y cáñamo (Quarters, 1994).

### **Efectos del neem como Bioinsecticida**

Las propiedades del Neem están basadas en el parecido que presentan sus componentes con las hormonas reales, de tal forma que los cuerpos de los insectos absorben los componentes del neem como si fueran hormonas reales y estas bloquean su sistema endocrino. El comportamiento profundamente arraigado resultante y las aberraciones psicológicas, dejan a los insectos tan confundidos, que no pueden reproducirse y sus poblaciones se reducen (Ramos, 2001).

varios extractos del neem actúan en diversos insectos de diferentes maneras (Ramos, 2001).

- Destruyendo e inhibiendo el desarrollo de huevos, larvas o crisálidas.
- Bloqueando la metamorfosis de las larvas o ninfas.
- Destruyendo su apareamiento y comunicación sexual.
- Repeliendo a las larvas y adultos.
- Esterilizando adultos.
- Envenenando a larvas y adultos.
- Impidiendo su alimentación.
- Bloqueando la habilidad para tragar (reduciendo la movilidad intestinal).
- Bloqueando su metamorfosis en varios periodos de desarrollo del insecto.
- Inhibiendo la formación de quitina (material del que se compone el esqueleto del insecto).
- Impide que se realicen las mudas, necesarias para entrar en la siguiente etapa del desarrollo, de tal forma que actúa como regulador de crecimiento del insecto.

De todos estos efectos, se puede decir que actualmente el poder repelente es probablemente el efecto más débil. La actividad anticomida (aunque interesante y valiosa en gran extremo) presenta corta vida y es variable. La más importante cualidad del Neem, es el bloqueo en el proceso de metamorfosis de la larva (Ramos, 2001).



Para muchos autores la mayoría de los efectos antihormonales y antialimentarios del Neem son debido a la azadiractina. De hecho, se considera que del 72 al 90 % de la actividad biológica del Neem es debida al contenido en azadiractina (Quarters, 1994).

Es estructuralmente parecida a las ecdisonas (hormonas que se encuentran en los insectos y que controlan el proceso de metamorfosis del insecto desde el estado de larva hasta que llega a ser adulto). Esta materia activa no mata insectos, al 13 menos no inmediatamente, sino que, en lugar de ello, repele y destruye su crecimiento y reproducción (Quarters, 1994).

### **Azadiractina.**

La azadiractina aparece por tanto como una materia activa de origen natural que resulta bastante eficaz; de hecho, es tan potente que una simple señal de su presencia previene a algunos insectos de incluso tocar las plantas. El efecto residual dura unos cinco días, aunque los efectos juvenoides, es decir sobre el crecimiento, pierden su actividad normalmente después de uno o dos días bajo condiciones de campo (Martínez, 1999).

La azadiractina parece que actúa bloqueando la producción de ecdisona, de esta forma altera el delicado equilibrio hormonal de los insectos, afectando a su metamorfosis. Las malformaciones producidas en cualquiera de los estadios o los daños morfogénicos en adultos, como alas, aparato bucal mal desarrollado entre otros, provoca que los daños que puedan producir estos insectos se reduzcan ya que su actividad alimenticia se ve afectada, no pueden volar, son estériles, muriendo rápidamente. Estos efectos se producen de forma combinada y con diferente grado de acción, dependiendo de la especie de insecto, de su estado de desarrollo, del proceso de extracción y de la concentración del preparado (Quarters, 1994).

Se ha probado efectiva contra más de 175 especies, entre ellas especies pertenecientes a Blattodea, Caelifera, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Ensifera, Heteroptera, Homoptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera, Phasmida, Phthiraptera, Siphonaptera y Thysanoptera, ostracodos, arañas y nemátodos, especies nocivas de lombrices y hongos, incluyendo el productor de aflatoxina, (*Aspergillus flavus*) (Gil, 2000).

Otras características destacables del Neem son: difícil desarrollo de resistencia por tratarse de una mezcla de componentes bioactivos, sistémico a través de las raíces cuando se aplican al suelo, elevada biodegradabilidad, sobre todo por la acción de la radiación U.V., con una persistencia en campo de 4-8 días y posibilidad de sinergismo con otros productos naturales como *Bacillus thuringiensis* (Martínez, 1999).

La azadiractina fue probada por primera vez en la Universidad de Keele, por Morgan, el descubridor de tal sustancia. En Kenia, ese mismo año K. Leuschner, trabajando en el Centro de Investigación de café en Upper Kiambu, observó que un trozo de Neem metanólico, controló la chinche del café (*Antestiopsis orbitalis*) en cuanto a su crecimiento. La mayoría de las ninfas tratadas con el extracto, murieron durante sucesivos estados de crecimiento y las pocas que sobrevivieron hasta forma adulta, tenían alas y tórax malformados (Hidalgo, 2001).

A nivel centroamericano la Cooperativa de producción de insecticida de Neem (COPINIM) fundada en 1987 en Managua, Nicaragua es una de las pocas instituciones que se ha dedicado a la tarea de investigar los efectos del neem como insecticida. En base a las experiencias realizadas en COPINIM, los insecticidas a base de neem actúan como lo hace un insecticida “químico fabricado” a diferencia que los primeros poseen las ventajas de ser selectivos con los insectos dañinos, son inofensivos para el ser humano, los animales, las

plantas y sus frutos, el aire y el agua, además de ser más favorables económicamente (Hidalgo, 2001).

### **Investigaciones realizadas a lepidópteros con extracto de Neem**

- **PRODUCTOS BIOLÓGICOS PARA EL CONTROL DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE)**

#### **Resumen:**

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) es una de las principales plagas polífagas de cultivos en Durango, México, en su control se emplean muchos químicos, generalmente, nocivos para la salud. Como una alternativa al uso de estos insecticidas, se evaluó la toxicidad de diferentes productos comerciales para el control biológico de gusano cogollero. Los productos evaluados en laboratorio contra larvas neonatas fueron: Micoralis® a base de *Beauveria bassiana*, Crimax® (*Bacillus thuringiensis*) y Neempower® (aceite de Neem), así como un insecticida químico, como control positivo (Lorsban®). Se utilizó un diseño completamente al azar con mediciones repetidas cada 24 h. El producto más efectivo para el control de gusano cogollero fue Neempower®, a una dosis del 20,00%, se obtuvo una mortalidad promedio del 86,66%; fue seguido por Crimax® (70,66%), con una CL50 de 189,53 µg mL<sup>-1</sup>. Micoralis® resultó menos efectivo, a una concentración de 1 x 10<sup>9</sup> esporas mL<sup>-1</sup> (49,33%) con una CL50 de 2,53 x 10<sup>9</sup> esporas mL<sup>-1</sup>. Se encontró que es posible combinar el producto biorracional (neem) con *B. thuringiensis* para lograr un control efectivo. Lorsban® causó el 100% de mortalidad, a una concentración del 1%, lo que indica que este producto es altamente tóxico tanto para el insecto plaga, así como para sus enemigos naturales y polinizadores, por lo que no se recomienda su uso. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (F = 673,23; P = 0,001). El trabajo reveló que es posible implementar el uso

de bioinsecticidas y biorracionales para el control de *S. frugiperda* en la región de estudio (Gonzales, Gurrola & Hernández, 2015).

## CAPITULO III. METODOLOGÍA

### 3.1. Localización del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicado en el km 7 ½ de la vía Babahoyo – Montalvo, Granja Experimental “San Pablo”. Coordenadas geográficas longitud oeste 79° 32’, latitud sur 01°49’, altitud 8msnm.

### 3.2. Características climáticas.

La zona presenta un clima tropical húmedo según clasificación de Köppen, con temperatura anual de 25.5°C, precipitación de 2.329 mm/año, humedad relativa de 80 % mensual y heliofanía promedio mensual de 74 horas de brillo solar.

### 3.3. Insecticidas utilizados en esta experimentación

En esta investigación se utilizó un insecticida orgánico formulado a base de neem, dos insecticidas biológicos formulados a base de microorganismos benéficos, un insecticida químico. Todos de origen comercial para el control de larvas de gusano cogollero (*S. frugiperda*).

### 3.4. Factores de estudio

Variable Dependiente: Poblaciones de *S. frugiperda*

Variable Independiente: Insecticidas y dosis de aplicación

### 3.5. Tipo de Investigación

Esta investigación fue de tipo experimental bajo condiciones de laboratorio, para evaluar la efectividad de los insecticidas y determinar la mejor dosis para el control de *S. frugiperda*.

### 3.6. Tratamientos

En esta investigación se utilizaron los siguientes tratamientos como se establece en el cuadro 1.

**Cuadro 1: Detalles de los Tratamientos.**

<b>INSECTICIDAS</b>	<b>DOSIS</b>	<b>ESTADIO LARVAL</b>	<b>REPETICIONES</b>
<b>Neem</b>	<b>ALTA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>MEDIA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>BAJA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
<b><i>Beauveria bassiana</i></b>	<b>ALTA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>MEDIA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>BAJA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
<b><i>Bacillus thuringiensis</i></b>	<b>ALTA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>MEDIA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>BAJA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
<b>Spinetoram</b>	<b>ALTA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>MEDIA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
	<b>BAJA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>
<b>Testigo</b>	<b>NINGUNA</b>	<b>L3</b>	<b>10</b>

### 3.7. Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El experimento se realizó bajo un diseño Completamente al Azar con arreglo factorial A x B + 1 (Insecticidas por dosis más un testigo), con 10 repeticiones.

Todas las variables se analizaron usando Modelos Lineales Generalizados Mixtos, debido a la falta de distribución normal de los residuos y a la heterogeneidad de las varianzas. La

comparación de la interacción se realizó mediante la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los efectos principales de los factores se compararon con contrastes ortogonales previamente establecidos. Todos los análisis se realizaron utilizando el procedimiento PROC GLIMMIX del software SAS (SAS Institute Inc, 2014).

**En el cuadro 2.-** Se muestra el esquema del ADEVA del análisis de varianza del diseño experimental utilizado en el ensayo.

**Cuadro 2: Esquema del ADEVA**

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Tratamientos:	12
Insecticidas	3
Dosis	2
Insecticidas x Dosis	6
Testigo vs Otros	1
Error experimental	117
Total	129

### **3.8. Especificaciones del Experimento**

Número de insecticidas	4
Número de dosis	3
Número de instares larvales de gusano cogollero:	1
Número de tratamientos:	12
Número de repeticiones por dosis:	10

Número de larvas de gusano cogollero por repetición:	4
Número de larvas de gusano cogollero por dosis:	40
Total, de larvas de gusano cogollero por insecticida:	120
Total, larvas testigo:	40
Total, de larvas de gusano cogollero en el ensayo:	520

### **3.9. Variables evaluadas en esta investigación**

En esta investigación se evaluaron las siguientes variables:

#### **3.9.1. Evaluar la eficiencia de los insecticidas.**

La eficiencia de cada producto y de cada dosis fue evaluada en el porcentaje de mortalidad relativa y acumulada de cada tratamiento, esto basado en el menor tiempo de acción y mayor tasa de mortalidad. Esta evaluación se realizó mediante el método de observación identificando lo siguiente.

La parálisis, inanición y posterior muerte de las larvas. Las mismas fueron tocadas por un pincel, considerándose una muerta aquella larva que presente una coloración anormal a la establecida para el instar y sin movilidad posterior al tacto.

#### **3.9.2. Identificar el mejor insecticida para el control del gusano cogollero en maíz.**

El insecticida que presentó la mayor tasa de mortalidad en el menor tiempo después de la aplicación a la larva de gusano cogollero, representó el más eficiente para su control. Esta identificación se realizó mediante el método de observación identificando lo siguientes.

La parálisis, inanición y posterior muerte de los insectos se, evaluó aplicando la misma metodología establecida en el punto 7.8.1.



### **3.9.3. Identificar la dosis con mayor porcentaje de mortalidad.**

La eficiencia de cada dosis fue aquella que presentó el mayor porcentaje de mortalidad relativa y acumulada en cada tratamiento, esto basado en el menor tiempo de acción y mayor tasa de mortalidad. Esta identificación se realizó mediante el método de observación identificando lo siguiente.

La parálisis, inanición y posterior muerte de los insectos, se evaluó aplicando la misma metodología establecida en el punto 7.8.1.

### **3.9.4. Evaluar el porcentaje de mortalidad en los tratamientos.**

Se evaluó la eficiencia de los insecticidas posterior a su aplicación, mediante el método de observación identificando lo siguiente.

La parálisis, inanición y posterior muerte de los insectos se evaluó aplicando la misma metodología establecida en el punto 7.8.1.

## **3.10. Manejo del ensayo**

A continuación, se detalla el manejo del ensayo con sus respectivos procedimientos y materiales para su realización.

### **3.10.1. Descripción del material biológico utilizado.**

En esta investigación se utilizó la variedad de maíz Iniap H – 550, el cual se sembró en el invernadero bajo condiciones controladas en los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Babahoyo.

El método de siembra fue directo con un distanciamiento de 0,25 m entre plantas y 0,25 m entre hileras.

El cual se utilizó en esta investigación, se procedió a sumergir los trozos de hojas en cada uno de los insecticidas y posteriormente dar de alimentar a las larvas de *S. frugiperda* en el laboratorio.

### **3.10.2. Preparación del material biológico utilizado.**

Para esta investigación se realizó un pie de cría para evitar algún tipo de parasitismo en las larvas que se utilizaron en la experimentación. Estas larvas se colocaron en recipientes de plásticos previamente lavados y desinfectados. En cada recipiente se colocaron, trozos de 2 x 3 cm de diámetro de hojas de maíz, previamente lavadas y desinfectadas. El recambio del trozo de hoja se lo realizó si estas eran totalmente consumidas dentro de los cuatro días de evaluación y así evitar que mueran por falta de alimentación.

El experimento se realizó bajo condiciones de laboratorio. Se utilizaron cuatro larvas de tercer instar (L3) de gusano cogollero por repetición, con 4 insecticidas con 3 dosis diferentes y 10 repeticiones, con lo que se obtuvo un total de 480 más 40 larvas del testigo, dando un total de 520 larvas a utilizadas en este ensayo.

### **3.10.3. Insecticidas en estudio**

Los insecticidas que se utilizaron en esta investigación, son productos comerciales disponibles en el mercado local.

Los insecticidas son elaborados a partir de cepas de microorganismos benéficos, de extractos de plantas y un insecticida químico los cuales son:

- Aceite de Neem
- *Beauveria bassiana*
- *Bacillus thuringiensis*
- Spinetoram

### **3.10.4. Aplicación de los Insecticidas.**

La técnica que se utilizó en esta investigación fue por inmersión, la cual se realizó introduciendo cada trozo de hoja de maíz de diámetro de 2(largo) x 3 (ancho) cm dentro

del beaker que contenía los diferentes insecticidas y posteriormente fueron identificados por tratamientos y dosis (Coronado, Castillo & Delgado, 2012).

### **3.10.5. Preparación de las larvas**

Las larvas colectadas del pie de cría fueron colocadas en grupos de cuatro en los recipientes previamente lavados y desinfectados. Se colocó un pedazo de algodón humedecido con agua destilada estéril en un extremo de la nervadura de la hoja de maíz para evitar que se seque. Las hojas fueron previamente sumergidas en las preparaciones de los insecticidas en diferentes dosis para así proceder alimentar a cada larva individualmente. (Zevallos, Cango & Larraburre, 2013).

### **3.10.6. Preparación de los Insecticidas.**

1-) De la presentación comercial de *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, Neem se utilizó la dosis recomendada por el fabricante que es 1L de producto en 200 L de agua. Además, se adicionó para esta investigación menos el 50% y más el 50% de la dosis recomendada por el fabricante, lo que representan. +50% (5.85ml ---1.17L) dosis alta, (3.90ml --- 0.78L) dosis media, -50% (1.95ml ---0.39L) dosis baja.

2-) De la presentación comercial de Spinetoram el cual tiene un equivalente de 60 gr de ingrediente activo / L, se utilizó la dosis recomendada por el fabricante que es 100cc producto en 200 L de agua. Además, se adicionó para esta investigación menos el 50% y más el 50% de la dosis recomendada por el fabricante, lo que representa. +50% (1.17cc --- 2.33L) dosis alta, (0.78cc --- 1.55L) dosis media, -50% (0.39cc --- 0.78L) dosis baja.

Las observaciones se realizaron una vez al día y a la misma hora durante cuatro días seguidos a las 24 - 48 - 72 y 96 horas, evaluando los síntomas como parálisis, inanición, alimentación y posterior muerte de las larvas.

Sí pasada las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas, los pedazos de hojas son totalmente consumidos se les colocará una nueva hoja limpia, desinfectada y de igual características sin aplicación de tratamientos, esto para evitar que las larvas mueran por falta de alimentación y así poder cumplir 96 horas de evaluación establecido en la metodología (Zevallos, Cango & Larraburre, 2013) y (Coronado, Castillo & Delgado, 2012).

## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Evaluar la eficiencia de los insecticidas

En relación con la tasa de mortalidad de los productos, se pudo determinar que los insecticidas fueron altamente eficientes para el control de *S. frugiperda*.

Spinetoram y *B. thurigiensis* obtuvieron una tasa mortalidad del 100% y *B. bassiana* con el Neem una tasa de mortalidad del 97.5% a las 96 horas de evaluación.

### 4.2. Identificar el mejor insecticida para el control del gusano cogollero en maíz.

El mejor insecticida para el control de *S. frugiperda* fue el *B. thurigiensis* y Spinetoram como control positivo con una tasa de mortalidad del 100%

### 4.3. Identificar la dosis con mayor porcentaje de mortalidad.

La dosis más eficiente de los insecticidas para el control de *S. frugiperda*, fue a una dosis baja. Para el Neem una tasa de mortalidad del 97,5%; *B. thurigiensis* y Spinetoram una tasa de mortalidad del 100% en relación a las 96 hora de evaluación.

### 4.4. Evaluar el porcentaje de mortalidad en los tratamientos.

El mayor porcentaje de mortalidad se obtuvo a las 96 horas de evaluación. Neem y *B. bassiana* presentaron un 97,5% de mortalidad, mientras que *B. thurigiensis* y Spinetoram quienes obtuvieron el 100% de mortalidad.

**Tabla 1. Tasa de mortalidad de larvas *S. frugiperda* en relación a productos, dosis y repeticiones;** En la siguiente tabla se muestra la tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* a las 2,4 – 48, – 72 y 96 horas. En base a los resultados obtenidos a las 96 horas de evaluación se determinó que todos los insecticidas son eficientes para el control de

larvas de gusano cogollero., Neem y *B. bassiana* provocaron mortalidad al 97,5 de las larvas evaluadas y *B. thuringiensis* y Spinetoram mataron al 100% de los individuos.

Obs	producto	dosis	rep	trat	mortalidad24h	mortalidad48h	mortalidad72h	mortalidad96h
1	spinetor	alta	1	1	100	100	100	100
2	spinetor	alta	2	1	100	100	100	100
3	spinetor	alta	3	1	100	100	100	100
4	spinetor	alta	4	1	100	100	100	100
5	spinetor	alta	5	1	100	100	100	100
6	spinetor	alta	6	1	100	100	100	100
7	spinetor	alta	7	1	100	100	100	100
8	spinetor	alta	8	1	100	100	100	100
9	spinetor	alta	9	1	100	100	100	100
10	spinetor	alta	10	1	100	100	100	100
11	spinetor	media	1	2	100	100	100	100
12	spinetor	media	2	2	100	100	100	100
13	spinetor	media	3	2	100	100	100	100
14	spinetor	media	4	2	100	100	100	100
15	spinetor	media	5	2	100	100	100	100
16	spinetor	media	6	2	100	100	100	100
17	spinetor	media	7	2	100	100	100	100
18	spinetor	media	8	2	100	100	100	100
19	spinetor	media	9	2	100	100	100	100
20	spinetor	media	10	2	100	100	100	100
21	spinetor	baja	1	3	100	100	100	100
22	spinetor	baja	2	3	100	100	100	100
23	spinetor	baja	3	3	100	100	100	100
24	spinetor	baja	4	3	100	100	100	100
25	spinetor	baja	5	3	100	100	100	100
26	spinetor	baja	6	3	100	100	100	100
27	spinetor	baja	7	3	100	100	100	100
28	spinetor	baja	8	3	100	100	100	100
29	spinetor	baja	9	3	100	100	100	100
30	spinetor	baja	10	3	100	100	100	100
31	beauveri	alta	1	4	0	0	25	100
32	beauveri	alta	2	4	0	0	50	100

33	beauveri	alta	3	4	0	0	75	100
34	beauveri	alta	4	4	0	0	75	100
35	beauveri	alta	5	4	0	0	75	75
36	beauveri	alta	6	4	0	0	50	100
37	beauveri	alta	7	4	0	0	100	100
38	beauveri	alta	8	4	0	0	100	100
39	beauveri	alta	9	4	0	0	100	100
40	beauveri	alta	10	4	0	0	100	100
41	beauveri	media	1	5	0	0	50	100
42	beauveri	media	2	5	0	0	75	100
43	beauveri	media	3	5	0	0	75	100
44	beauveri	media	4	5	0	0	75	100
45	beauveri	media	5	5	0	0	50	100
46	beauveri	media	6	5	0	0	75	100
47	beauveri	media	7	5	0	0	25	100
48	beauveri	media	8	5	0	0	50	100
49	beauveri	media	9	5	0	0	50	75
50	beauveri	media	10	5	0	0	50	100
51	beauveri	baja	1	6	0	0	25	100
52	beauveri	baja	2	6	0	0	75	100
53	beauveri	baja	3	6	0	0	75	100
54	beauveri	baja	4	6	0	0	50	100
55	beauveri	baja	5	6	0	0	50	100
56	beauveri	baja	6	6	0	0	75	100
57	beauveri	baja	7	6	0	0	0	75
58	beauveri	baja	8	6	0	0	25	75
59	beauveri	baja	9	6	0	0	0	100
60	beauveri	baja	10	6	0	0	50	100
61	bt	alta	1	7	0	0	50	75
62	bt	alta	2	7	0	75	75	100
63	bt	alta	3	7	0	0	100	100
64	bt	alta	4	7	0	25	75	100
65	bt	alta	5	7	0	0	75	100
66	bt	alta	6	7	0	0	0	100
67	bt	alta	7	7	0	25	100	100
68	bt	alta	8	7	0	25	50	100
69	bt	alta	9	7	0	50	50	100

70	bt	alta	10	7	0	25	75	100
71	bt	media	1	8	0	0	50	75
72	bt	media	2	8	0	100	100	100
73	bt	media	3	8	0	75	100	100
74	bt	media	4	8	0	100	100	100
75	bt	media	5	8	0	100	100	100
76	bt	media	6	8	0	50	50	100
77	bt	media	7	8	0	50	100	100
78	bt	media	8	8	0	50	100	100
79	bt	media	9	8	0	50	100	100
80	bt	media	10	8	0	50	100	100
81	bt	baja	1	9	0	100	100	100
82	bt	baja	2	9	0	100	100	100
83	bt	baja	3	9	0	75	75	100
84	bt	baja	4	9	0	100	100	100
85	bt	baja	5	9	0	75	100	100
86	bt	baja	6	9	0	100	100	100
87	bt	baja	7	9	0	100	100	100
88	bt	baja	8	9	0	100	100	100
89	bt	baja	9	9	0	100	100	100
90	bt	baja	10	9	0	100	100	100
91	neem	alta	1	10	0	0	0	25
92	neem	alta	2	10	50	75	75	75
93	neem	alta	3	10	0	50	50	75
94	neem	alta	4	10	0	25	25	100
95	neem	alta	5	10	0	0	0	50
96	neem	alta	6	10	25	25	25	50
97	neem	alta	7	10	25	25	25	75
98	neem	alta	8	10	0	25	25	50
99	neem	alta	9	10	50	50	50	50
100	neem	alta	10	10	25	25	25	25
101	neem	media	1	11	0	0	0	25
102	neem	media	2	11	0	25	25	75
103	neem	media	3	11	0	0	0	50
104	neem	media	4	11	0	25	25	25
105	neem	media	5	11	0	0	0	0
106	neem	media	6	11	0	25	25	50



107	neem	media	7	11	0	25	25	50
108	neem	media	8	11	50	50	50	75
109	neem	media	9	11	50	50	50	75
110	neem	media	10	11	25	25	25	50
111	neem	baja	1	12	0	75	75	100
112	neem	baja	2	12	0	25	25	100
113	neem	baja	3	12	0	75	75	100
114	neem	baja	4	12	0	75	75	100
115	neem	baja	5	12	0	50	50	100
116	neem	baja	6	12	0	50	50	100
117	neem	baja	7	12	25	75	75	100
118	neem	baja	8	12	0	50	50	100
119	neem	baja	9	12	0	50	50	100
120	neem	baja	10	12	0	50	50	75
121	testigo	testigo	1	13	25	25	25	25
122	testigo	testigo	2	13	0	25	25	25
123	testigo	testigo	3	13	0	0	0	0
124	testigo	testigo	4	13	25	25	25	25
125	testigo	testigo	5	13	0	0	0	0
126	testigo	testigo	6	13	0	0	0	0
127	testigo	testigo	7	13	0	0	0	0
128	testigo	testigo	8	13	0	0	0	0
129	testigo	testigo	9	13	0	0	0	0
130	testigo	testigo	10	13	0	0	0	0

#### 4.5. Pruebas estadísticas aplicadas

Para el análisis de las variables se utilizaron Modelos Lineales Generalizados Mixtos y para la comparación de la interacción se utilizó la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), con contrastes ortogonales. Utilizando el procedimiento PROC GLIMMIX del software SAS. Como se establece en la metodología.

#### 4.5.1. Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 24 horas.

Se muestran los análisis de las variables de los productos y dosis con sus respectivas medias, error estándar, valores máximos, mínimos e intervalos de confianza. Además de los contrastes con sus respectivas probabilidades a las 24 horas de evaluación.

**Tabla 2.** Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 24 horas.

Analysis Variable : mortalidad24h						
N	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
120	27.71	3.93	100.00	0.00	19.92	35.50

**Tabla 3.** Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 24 horas.

Analysis Variable : mortalidad24h							
producto	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
beauveri	30	0.00	0.00	0.00	0.00	.	.
bt	30	0.00	0.00	0.00	0.00	.	.
neem	30	10.83	3.32	50.00	0.00	4.04	17.63
spinetor	30	100.00	0.00	100.00	100.00	.	.
testigo	10	5.00	3.33	25.00	0.00	-2.54	12.54

**Tabla 4.** Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 24 horas.

Analysis Variable : mortalidad24h							
dosis	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
alta	40	29.38	6.81	100.00	0.00	15.60	43.15
baja	40	25.63	6.90	100.00	0.00	11.66	39.59
media	40	28.13	6.89	100.00	0.00	14.20	42.05
testigo	10	5.00	3.33	25.00	0.00	-2.54	12.54

**Tabla 5.** Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, producto versus dosis y testigo versus todos.

Contraste				
Etiqueta	DF Num	DF Den	Valor F	Pr > F
producto	3	117	873.56	<.0001
neem vs spinetoram	1	117	1478.5	<.0001
neem vs beaveria	1	117	21.82	<.0001
neem vs bt	1	117	21.82	<.0001
dosis	2	117	1.87	0.1685
alta vs media	1	117	0.39	0.5349
media vs baja	1	117	1.59	0.2157
producto x dosis	6	117	2.03	0.0791
Testigo vs Todos	1	117	59.07	<.0001

#### 4.5.2. Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 48 horas.

Se muestran los análisis de las variables de los productos y dosis con sus respectivas medias, error estándar, valores máximos, mínimos e intervalos de confianza. Además de los contrastes con sus respectivas probabilidades a las 48 horas de evaluación.

**Tabla 6.** Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 48 horas.

Analysis Variable : mortalidad48h						
N	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
120	49.17	3.90	100.00	0.00	41.44	56.89

**Tabla 7.** Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 48 horas.

Analysis Variable : mortalidad48h							
producto	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
beauveri	30	0.00	0.00	0.00	0.00	.	.
bt	30	60.00	6.95	100.00	0.00	45.79	74.21
neem	30	36.67	4.44	75.00	0.00	27.58	45.75
spinetor	30	100.00	0.00	100.00	100.00	.	.
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 8.** Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 48 horas.

Analysis Variable : mortalidad48h							
dosis	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
alta	40	38.13	6.52	100.00	0.00	24.95	51.30
baja	40	63.13	6.58	100.00	0.00	49.82	76.43
media	40	46.25	6.73	100.00	0.00	32.63	59.87
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 9.** Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, producto versus dosis y testigo versus todos.

Contraste				
Etiqueta	DF Num	DF Den	Valor F	Pr > F
producto	3	117	225.97	<.0001
neem vs spinetoram	1	117	257.74	<.0001
neem vs beaveria	1	117	86.39	<.0001
neem vs bt	1	117	34.98	<.0001
dosis	2	117	27.87	<.0001
alta vs media	1	117	5.66	0.0190
media vs baja	1	117	24.40	<.0001
producto x dosis	5	117	15.18	<.0001
Testigo vs Todos	1	117	68.65	<.0001

#### 4.5.3. Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 72 horas.

Se muestran los análisis de las variables de los productos y dosis con sus respectivas medias, error estándar, valores máximos, mínimos e intervalos de confianza. Además de los contrastes con sus respectivas probabilidades a las 72 horas de evaluación.

**Tabla 10.** Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 72 horas.

Analysis Variable : mortalidad72h						
N	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
120	69.79	2.99	100.00	0.00	63.88	75.71

**Tabla 11.** Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 72 horas.

Analysis Variable : mortalidad72h							
producto	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
beauveri	30	58.33	4.99	100.00	0.00	48.13	68.54
bt	30	84.17	4.56	100.00	0.00	74.84	93.50
neem	30	36.67	4.44	75.00	0.00	27.58	45.75
spinetor	30	100.00	0.00	100.00	100.00	.	
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 12.** Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 72 horas.

Analysis Variable : mortalidad72h							
dosis	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
alta	40	67.50	5.31	100.00	0.00	56.76	78.24
baja	40	74.38	4.78	100.00	0.00	64.71	84.04
media	40	67.50	5.46	100.00	0.00	56.46	78.54
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 13.** Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, producto versus dosis y testigo versus todos.

Contraste				
Etiqueta	DF Num	DF Den	Valor F	Pr > F
producto	3	117	68.03	<.0001
neem vs spinetoram	1	117	174.35	<.0001
neem vs beaveria	1	117	20.41	<.0001
neem vs bt	1	117	98.07	<.0001
dosis	2	117	1.83	0.1656
alta vs media	1	117	0.00	1.0000
media vs baja	1	117	2.74	0.1006
producto x dosis	6	117	9.57	<.0001
Testigo vs Todos	1	117	103.79	<.0001

#### 4.5.4. Análisis de variables y contrastes ortogonales: mortalidad 96 horas.

Se muestran los análisis de las variables de los productos y dosis con sus respectivas medias, error estándar, valores máximos, mínimos e intervalos de confianza. Además de los contrastes con sus respectivas probabilidades a las 96 horas de evaluación.

**Tabla 14.** Análisis de variables de todos los tratamientos en relación a la mortalidad 96 horas.

Analysis Variable : mortalidad96h						
N	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
120	90.63	1.87	100.00	0.00	86.92	94.33

**Tabla 15.** Análisis de variables de los insecticidas más el testigo en relación a la mortalidad 96 horas.

Analysis Variable : mortalidad96h							
producto	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
beauveri	30	96.67	1.58	100.00	75.00	93.44	99.89
bt	30	98.33	1.16	100.00	75.00	95.96	100.70
neem	30	67.50	5.38	100.00	0.00	56.50	78.50
spinetor	30	100.00	0.00	100.00	100.00		
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 16.** Análisis de variables de las dosis más el testigo en relación a la mortalidad 96 horas.

Analysis Variable : mortalidad96h							
dosis	N Obs	Media	Error Std	Máximo	Mínimo	CL inferior al 95% para media	CL superior al 95% para media
alta	40	88.13	3.47	100.00	25.00	81.12	95.13
baja	40	98.13	1.05	100.00	75.00	95.99	100.26
media	40	85.63	4.09	100.00	0.00	77.35	93.90
testigo	10	7.50	3.82	25.00	0.00	-1.14	16.14

**Tabla 17.** Contrastes ortogonales de los productos, Neem versus los demás insecticidas, las dosis, producto versus dosis y testigo versus todos

Contraste				
Etiqueta	DF Num	DF Den	Valor F	Pr > F
producto	3	117	53.38	<.0001
neem vs spinetoram	1	117	117.70	<.0001
neem vs beaveria	1	117	94.79	<.0001
neem vs bt	1	117	105.93	<.0001
dosis	2	117	13.00	<.0001
alta vs media	1	117	0.93	0.3372
media vs baja	1	117	23.21	<.0001
producto x dosis	6	117	15.54	<.0001
Testigo vs Todos	1	117	473.81	<.0001

#### 4.6. Análisis e interpretación de datos

##### 4.6.1. Eficiencia en el control de *S. frugiperda* después de 24 horas de evaluación.

Se observaron diferencias significativas para los productos usados para el control de *S. frugiperda* ( $P < 0,001$ ). Sin embargo, para dosis ( $P = 0,17$ ) y la interacción producto por dosis ( $P = 0,08$ ) no hubo diferencias significativas, como se observa en la Tabla 2.

**Tabla 18.** Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas. Babahoyo - Los Ríos, 2021.

Producto	Mortalidad (%) <sup>1</sup>		Probabilidad
Neem vs Spinetoram	10,83 ± 3,32	100,00 ± 0,00	<0,0001
Neem vs <i>Beauveria bassiana</i>	10,83 ± 3,32	0,00 ± 0,00	<0,0001
Neem vs <i>Bacillus thuringiensis</i>	10,83 ± 3,32	0,00 ± 0,00	<0,0001
Dosis			
Alta vs media	29,38 ± 6,81	28,13 ± 6,89	0,5349
Media vs baja	28,13 ± 6,89	25,63 ± 6,90	0,2157
Testigo vs Todos	5,00 ± 3,33	27,71 ± 3,93	<0,0001

<sup>1</sup>Media ± error estándar

#### 4.6.2. Eficiencia en el control de *S. frugiperda* después de 48 horas de evaluación.

48 horas después de la aplicación de los insecticidas, se observaron diferencias significativas para los productos usados para el control de *S. frugiperda*, para la dosis y la interacción producto por dosis ( $P < 0,001$ ), como se observa en la Tabla 3.

**Tabla 19.** Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 48 horas después de la aplicación de los insecticidas. Babahoyo - Los Ríos, 2021.

Producto	Mortalidad (%) <sup>1</sup>		Probabilidad
Neem vs Spinetoram	36,67 ± 4,44	100,00 ± 0,00	<0,001
Neem vs <i>Beauveria bassiana</i>	36,67 ± 4,44	0,00 ± 0,00	<0,001
Neem vs <i>Bacillus thuringiensis</i>	36,67 ± 4,44	60,00 ± 6,95	<0,001
Dosis			
Alta vs media	38,13 ± 6,52	46,25 ± 6,73	<0,0190
Media vs baja	46,25 ± 6,73	63,13 ± 6,58	<0,001
Testigo vs Todos	7,50 ± 3,82	49,17 ± 3,90	<0,0001

<sup>1</sup>Media ± error estándar

#### 4.6.3. Eficiencia en el control de *S. frugiperda* después de 72 horas de evaluación.

72 horas después de la aplicación de los insecticidas, se observaron diferencias significativas para los productos usados para el control de *S. frugiperda* y la interacción producto por dosis ( $P < 0,001$ ). Sin embargo, para las dosis ( $P = 0,17$ ) no hubo diferencias significativas, como se observa en la tabla 4.

**Tabla 20.** Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 72 horas después de la aplicación de los insecticidas. Babahoyo - Los Ríos, 2021.

Producto	Mortalidad (%) <sup>1</sup>		Probabilidad
Neem vs Spinetoram	36,67 ± 4,44	100,00 ± 0,00	<0,001
Neem vs <i>Beauveria bassiana</i>	36,67 ± 4,44	58,33 ± 4,99	<0,001
Neem vs <i>Bacillus thuringiensis</i>	36,67 ± 4,44	84,17 ± 4,56	<0,001



Dosis			
Alta vs media	67,50 ± 5,31	67,50 ± 5,46	1,000
Media vs baja	67,50 ± 5,46	74,38 ± 4,78	0,100
Testigo vs Todos	7,50 ± 3,82	69,79 ± 2,99	<0,0001

<sup>1</sup>Media ± error estándar

#### 4.6.4. Eficiencia en el control de *S. frugiperda* después de 96 horas de evaluación.

96 horas después de la aplicación de los insecticidas, se observaron diferencias significativas para los productos y la interacción producto por dosis ( $P < 0,001$ ). Sin embargo, para las dosis ( $P = 0,33$ ) no hubo diferencias significativas ya que en los valores de la probabilidad para la dosis alta vs media es diferente a la dosis media vs baja ( $P < 0,001$ ), como se observan en la Tabla 5.

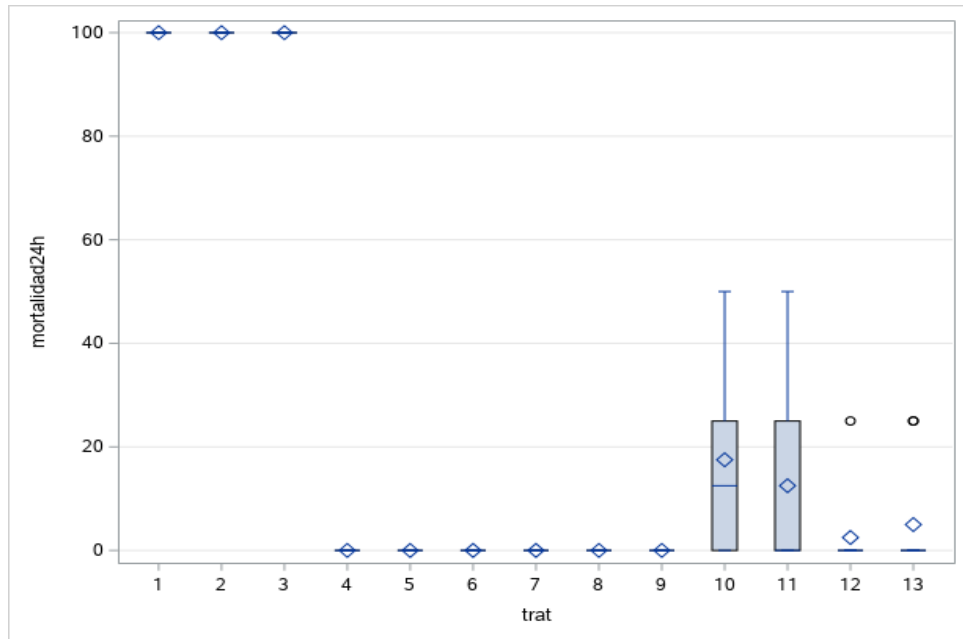
**Tabla 21.** Contrastes ortogonales para mortalidad de *S. frugiperda* a las 96 horas después de la aplicación de los insecticidas. Babahoyo - Los Ríos, 2021.

Producto	Mortalidad (%) <sup>1</sup>		Probabilidad
Neem vs Spinetoram	67,50 ± 5,38	100,00 ± 0,00	<0,001
Neem vs <i>Beauveria bassiana</i>	67,50 ± 5,38	96,67 ± 1,58	<0,001
Neem vs <i>Bacillus thuringiensis</i>	67,50 ± 5,38	98,33 ± 1,16	<0,001
Dosis			
Alta vs media	88,13 ± 3,47	85,63 ± 4,09	0,337
Media vs baja	85,63 ± 4,09	98,13 ± 1,05	<0,001
Testigo vs Todos	7,50 ± 3,82	90,63 ± 1,87	<0,0001

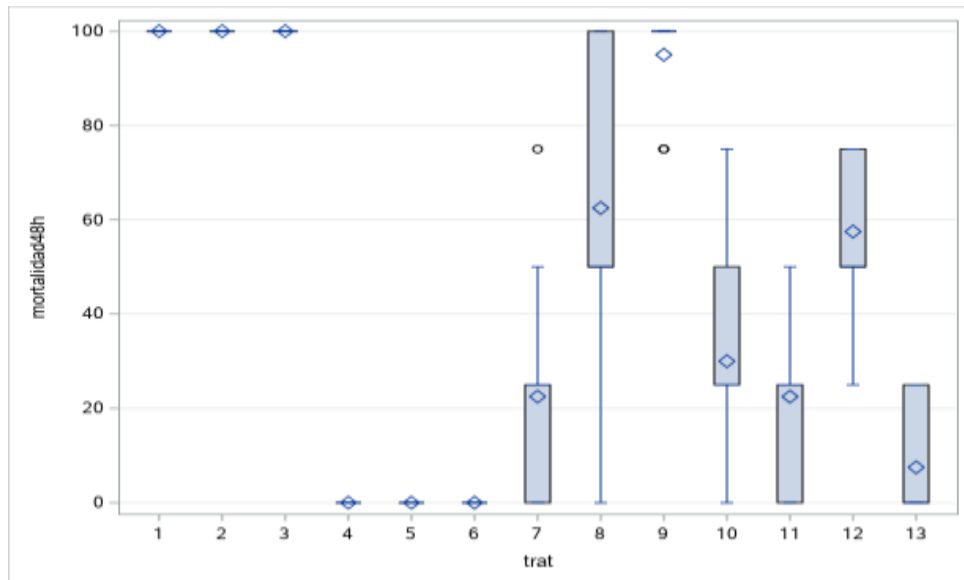
<sup>1</sup>Media ± error estándar

#### 4.7. Gráficos resultados de mortalidad por hora de evaluación

**Gráfico 1.** En esta grafica se muestra la tasa de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en relación a las 24 horas después de la aplicación de los insecticidas, donde los tratamientos 1-2-3 correspondiente al Spinetoram tuvo la mayor mortalidad seguidos de los tratamientos 10-11 que corresponden al Neem.

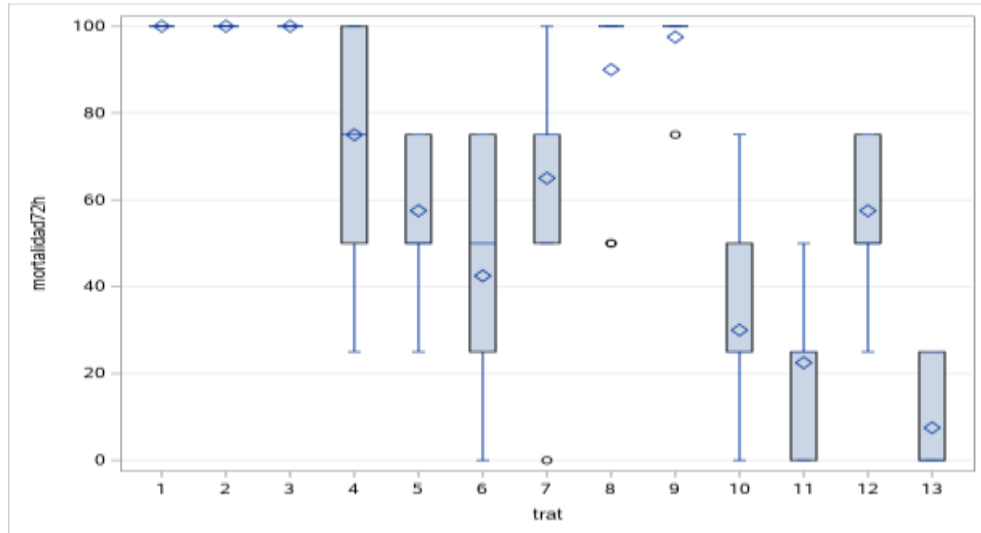


**Gráfico 2.** En esta grafica se muestra la tasa de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en relación a las 48 horas después de la aplicación de los insecticidas, donde los tratamientos 1-2-3 correspondiente al Spinetoram tuvo la mayor mortalidad seguido de los tratamientos 7-8-10-11-12, correspondientes a *B. thurigiensis* y Neem, el tratamiento 13 corresponde al testigo absoluto.

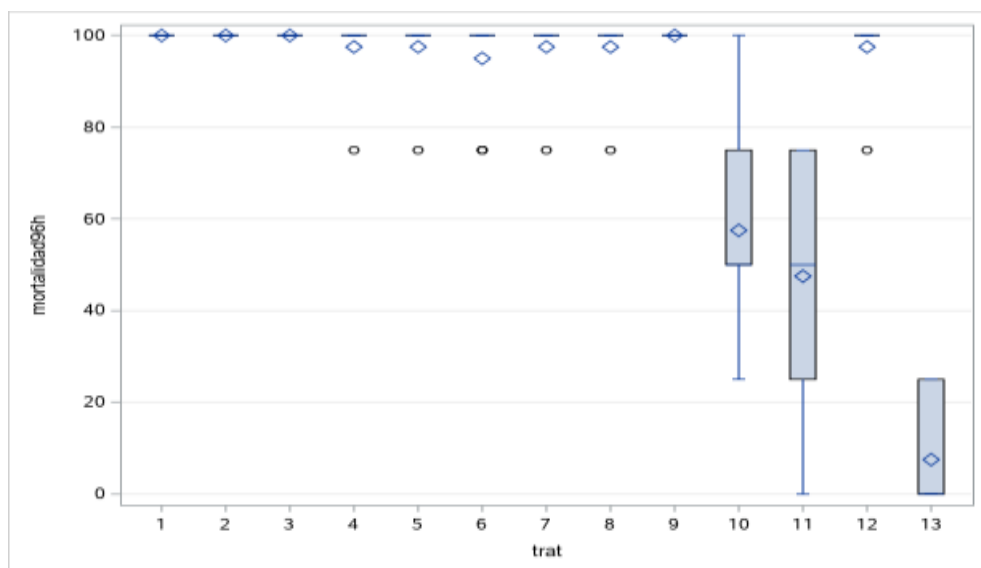


**Gráfico 3.** En esta grafica se muestra la tasa de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en relación a las 72 horas después de la aplicación de los insecticidas, donde los tratamientos 1-2-3 correspondiente al Spinetoram tuvo la mayor mortalidad seguido de los

tratamientos 7-8-9, correspondientes a *B. thuringiensis*, seguidos de los tratamientos 4-5-6 correspondientes a *B. bassiana* y luego 10-11-12 correspondientes al Neem, el tratamiento 13 corresponde al testigo absoluto.



**Gráfico 4.** En esta grafica se muestra la tasa de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* en relación a las 96 horas después de la aplicación de los insecticidas, donde los tratamientos 1-2-3 correspondiente al Spinetoram y los tratamientos 7-8-9, correspondientes a *B. thuringiensis* tuvieron la mayor tasa de mortalidad seguido de los tratamientos 4-5-6 correspondientes a *B. bassiana* y 10-11-12 correspondientes al Neem, el tratamiento 13 corresponde al testigo absoluto.



#### 4.8. Discusión de resultados

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación se manifiesta que el uso del insecticida a base de Neem, fue efectivo y tuvo un alto porcentaje de mortalidad (97,5%), sobre el desarrollo larval de *S. frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.

En referencia a la acción del producto a base de Neem, se logró mayor eficacia para el control de gusano cogollero en relación a la mortalidad a las 96 horas de evaluación con la aplicación a una dosis baja de (1.95ml ----0.39lt), con una mortalidad del 97,5%, esto concuerda con Trujillo *et al* (2008) quienes comprobaron la eficacia de suspensiones celulares de Neem con dosis a 2500 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm y 30000 ppm, en donde se realizaron las lecturas del bioensayo a las cero (0), 12, 18, 25, y 40 h, evidenciando el 50% de mortalidad para cada extracto evaluado. Al igual que Martínez (1999), expresa que el efecto residual de los extractos de Neem dura unos cinco días, afectado las fases juveniles de *S. frugiperda*, es decir sobre el crecimiento, causando la muerte posterior de las larvas.

Gonzales, Gurrola & Hernández (2015). Evaluaron la eficiencia de varios productos biológicos incluyendo el aceite de Neem bajo condiciones de laboratorio, donde el producto comercial elaborado a partir del Neem fue el más efectivo a una dosis del 20,00%, se obtuvo una mortalidad promedio del 86,66%.

En relación al control biológico se logró mayor eficacia para el control de gusano cogollero en relación a la mortalidad a las 96 horas de evaluación con la aplicación de *B. thurigiensis* a una dosis baja de (1.95ml ----0.39lt), con una mortalidad del 100% y *B. bassiana* a una dosis media de (3.90ml ---0.78lt), con una mortalidad del 97,5%; esto hace referencia a Estrada *et al* (2004) quienes manifiestan que *B. bassiana*, antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como son: pérdida de sensibilidad, falta de

coordinación, letargo, inapetencia y parálisis; al igual que *B. thurigiensis* que segrega una toxina que se conoce con el nombre de  $\delta$ - endotoxina de *BT.*, que actúa uniéndose a receptores de las células epiteliales del intestino del insecto produciendo poros y lisis osmótica de las células que finalmente provoca su muerte de larvas de *S. frugiperda* (Rubio & Fereres, 2005).

Gonzales, Gurrola & Hernández (2015). Establecieron en su investigación con productos biológicos bajo condiciones de laboratorio para el control de gusano cogollero, que el insecticida formulado a base de *B. thurigiensis* a una concentración de CL50 de 189,53  $\mu\text{g mL}^{-1}$  fue eficiente donde obtuvieron una mortalidad de (70,66%).

El insecticida formulado a base de *B. bassiana* resultó el menos efectivo para el control de gusano cogollero a una concentración de  $1 \times 10^9$  esporas  $\text{MI}^{-1}$ , obtuvieron una tasa de mortalidad promedio del (49,33%).

Los productos más eficaces para el control de gusano cogollero bajo condiciones de laboratorio en relación al tiempo de acción a las 24 horas de evaluación fueron: el Neem con el 17,5% y Spinetoram con el 100% de tasa de mortalidad, mientras con *B. thurigiensis* y *B. bassiana* no hubo mortalidad en el bioensayo.

## CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones.

1. El insecticida formulado a base de Neem, fue efectivo y tuvo un alto porcentaje de mortalidad (97,5%) sobre el desarrollo larval del *S. frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.
2. El tiempo de acción del insecticida formulado a base de Neem es a partir de las 24 horas, sin embargo, la mayor tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* es a partir de las 96 horas a una dosis baja de (1.95ml ---0.39lt).
3. Los insecticidas biológicos *B. thurigiensis* y *B. bassiana*, también tuvieron un alto porcentaje de mortalidad sobre el desarrollo larval de *S. frugiperda* a una dosis media y dosis baja bajo condiciones de laboratorio.
4. En condiciones de laboratorio la *S. frugiperda* puede ser controlado, aplicando Neem - Organic en una dosis menor al 50% de la dosis recomendad por el fabricante.

## 5.2. Recomendaciones.

1. Con los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda utilizar el insecticida formulado a base de Neem para el control de *S. frugiperda* por su alta tasa de mortalidad 97,5%
2. Se recomienda implementar en el M.I.P., el control biológico como alternativa para el control de *S. frugiperda*, por su alta efectividad y tasa de mortalidad.
3. Se recomienda realizar el ensayo en campo abierto con las aplicaciones de los insecticidas formulados a base de Neem, *B. thuringiensis* y *B. bassiana* con las dosis que se obtuvieron la mayor tasa de mortalidad en los resultados, esto para corroborar los resultados obtenidos en laboratorio.

## CAPITULO VI. BIBLIOGRAFÍA

- Abad Flores P1, Rosa M Egúsquiza Ch1, Mario Alcarraz C2, Juan C Woolcott H1, Elena Benavides R3, Juan Godoy A3, Doris Huerta C1, Yisella Jesus M1, Alejandro Patiño G. (2011). Biodiversidad de *Bacillus thuringiensis* aislados de agroecosistemas peruanos y evaluación del potencial bioinsecticida. *Ciencia e Investigación* 2011; 14(1): 29-34 Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM 2011. Edición electrónica: ISSN 1609-9044.
- Ángulo, J.M. 2000. Manejo del gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas. En línea. Consultado 12 de marzo el 2012. Disponible en <http://www.turipana.org>.
- Asturias, M. (2004). Maíz, de alimento sagrado a negocio del hambre. Acción Ecológica Red por una América latina libre de transgénicos Quito- Ecuador.
- Baca, L. (2016). La producción de maíz amarillo en el Ecuador y su relación con la soberanía alimentaria. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Facultad de Economía
- Carlos Mariños<sup>1</sup>, Julia Castro<sup>2</sup> y Diana Nongrados<sup>2</sup>. Efecto biocida del «barbasco» *Lonchocarpus utilis* (Smith,1930) como regulador de larvas de mosquitos. *Rev. Perú biol.* v.11 n.1 Lima ene./jul. 2004
- Castañet-Martínez, Camilo E.; Moreno-Reyes, Sandra *Bacillus thuringiensis*: Características y uso en el control de *Aedes aegypti* ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. 50, núm. 3, septiembre-diciembre, 2016, pp. 37-42 Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba.
- Castro Santana, J.L. 2012. Manejo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz. Tesis Ing. Agr. Bogotá, Colombia. 213-342 p.



- Caviedes, G. (2019). Producción de semilla de maíz en el Ecuador: retos y oportunidades. Universidad San Francisco de Quito.
- Chiriboga, P., Gómez, B., Garcés, E. (2015). Beauveria bassiana, HONGO ENTOMOPATÓGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS (YSAÚ). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). PARAGUAY.
- Coronado, I., Castillo, M., Delgado, G. (2012). Efecto del Virus de la Poliedrosis Nuclear y de Neem (Azadirachta indica) en el consumo de hojas de maíz (Zea mays) y la mortalidad en larvas de diferentes instar de Spodoptera frugiperda, en condiciones de laboratorio. Campus Agropecuario UNAN-LEON. 2011.
- Croplife. (2015). <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/gusano-cogollero>
- De la Cruz-Martínez V, Andrés-Meza P, Del Rosario Arellano J, Leyva Ovalle OR, Murguía González J, Serna-Lagunes R, Espinosa-Calderón A, Sierra Macías M, Tadeo-Robledo M, Gómez-Montiel NO, Rodríguez Montalvo FA, Cebada-Merino M. (2018). Uso de feromona en el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*. Campo Experimental Iguala. INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). Km 2.5 carretera Iguala-Tuxpan, Iguala de la Independencia, Gro., Méx. CP. 40000.
- Devine, Gregor J., Eza, Dominique, Oigusuku, Elena, & Furlong, Michael J.. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 25(1), 74-100. Recuperado en 26 de junio de 2020, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342008000100011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100011&lng=es&tlng=es).

- Documents Mex. (04 de 07 de 2015). Obtenido de <http://documents.mx/documents/la-historia-del-maiz-en-el-ecuador.html>.
- Gómez. H., Zapata. A., Torrez. E., Tenorio. M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Perú – 2014.
- Ingeborg Zenner De Polanía, Helber a., Arévalo Rodolfo Mejía. (2007). El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas - vol. 1 - no.1 - pp. 103-113.
- IPES / FAO 2010. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana.
- Jenny Malpartida-Zevallos<sup>1</sup>, Mónica Narrea-Cango<sup>2</sup> y William Dale-Larraburre<sup>3</sup>. (2013). PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYÁ *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) EN LABORATORIO. Scielo. Ecología Aplicada, 12(2), 2013. SSN 1726-2216. Depósito legal 2002-5474. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú.
- Juan Carlos Rodríguez-Soto<sup>1</sup>, Marco Leoncio Salazar Castillo<sup>1</sup> & Marisol Contreras Quiñones<sup>1</sup>. (2018). Efecto de diferentes surfactantes sobre larvas III de *Spodoptera frugiperda* Smith bajo condiciones de laboratorio y de campo. Laboratorio de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ.
- Lorena Ramírez<sup>1</sup> Natalia Ramírez<sup>1</sup>, Luz Stella Fuentes<sup>2</sup>, Jaime Jiménez<sup>2</sup>, Javier Hernández-Fernández 1. (2010). Estandarización de un bioensayo y evaluación preliminar de tres formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). 1Facultad de Ciencias, Carrera de

Biología Ambiental, “Genética, biología molecular y bioinformática”, Laboratorio de Biología Molecular, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, D.C., Colombia. Rev. colomb. biotecnol., Volumen 12, Número 1, p. 12-21, 2010. ISSN electrónico 1909-8758. ISSN impreso 0123-3475.

- Magali Ordóñez-García<sup>1</sup>, Claudio Rios-Velasco<sup>2</sup>, David Ignacio Berlanga-Reyes<sup>2</sup>, Carlos Horacio Acosta-Muñiz<sup>2</sup>, Miguel Ángel Salas-Marina<sup>3</sup> y Octavio Jhonathan Cambero-Campos<sup>4</sup>. (2015). Reporte Preliminar de Entomopatógenos del “Gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Chihuahua, México. Entomología Mexicana Vol. 2: 241-246.
- Marcos T. García González<sup>1</sup>, Justo Antonio Rojas Rojas<sup>1</sup>, Leónides Castellanos González<sup>2</sup> y Dianen Enjamio Jiménez<sup>3</sup>. (2010). Policultivo (maíz-calabaza) en el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith) en Fomento, Sancti Spiritus Cuba. 37(1): 57-64.
- María Berenice González-Maldonado<sup>1,2</sup>, J. Natividad Gurrola-Reyes<sup>1,3</sup> E. Isaías Chaírez-Hernández<sup>1,4</sup>. (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Colombiana de Entomología 41 (2): 200-204 (Julio - diciembre 2015).
- María Elena Realpe <sup>1</sup>, Carlos Arturo Hernández <sup>2</sup>, Clara Inés Agudelo. (2002). Especies del género *Bacillus*: morfología macroscópica y microscópica. Grupo Microbiología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.
- Urretabizkaya, N. (2018). Manejo Integrado de plagas asociadas al cultivo de maíz. Estrategias de control. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Protección Vegetal. FCA-UNLZ.
- Yamilé Baró Robaina, <sup>1</sup> Deise M. Fontana Capalbo<sup>2</sup> Y Rosely Dos Santos Nascimento<sup>2</sup>. (2009). caracterización de cepas de *Bacillus thuringiensis* berliner y actividad biológica

hacia *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidóptera: noctuidae) y *Anticarsia gemmatalis* hübner (lepidóptera: noctuidae). Scielo. fitosanidad v.13 n.3 ciudad de la habana jul.-sep. 2009.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Pie de cría de larvas de *S. frugiperda*. Babahoyo - Los Ríos, 2021.



**Anexo 2.** Distribución de los tratamientos con sus repeticiones en laboratorio. Babahoyo - Los Ríos, 2021.



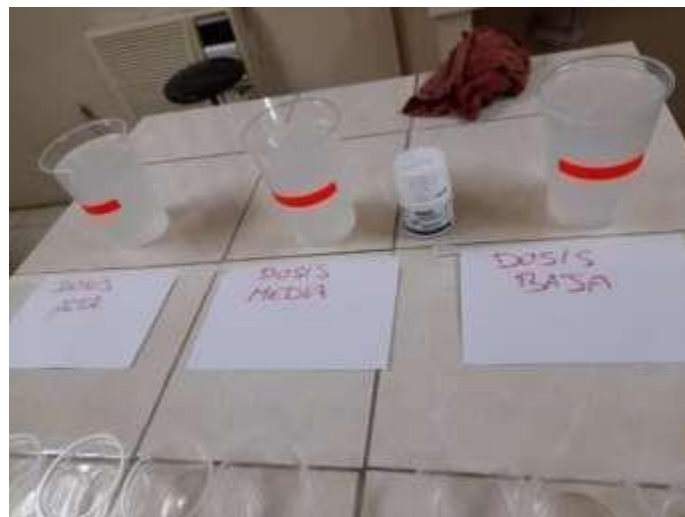
**Anexo 3.** Maíz sembrado bajo condiciones de invernadero para la alimentación de las larvas de *S. frugiperda*. Babahoyo - Los Ríos, 2021.



**Anexo 4.** Recolección de las hojas de maíz para la inmersión de los insecticidas. Babahoyo - Los Ríos, 2021.



**Anexo 5.** Preparación de los insecticidas para el ensayo. Babahoyo - Los Ríos, 2021.



**Anexo 6.** Colocación de las larvas en los respectivos recipientes. Babahoyo - Los Ríos, 2021.

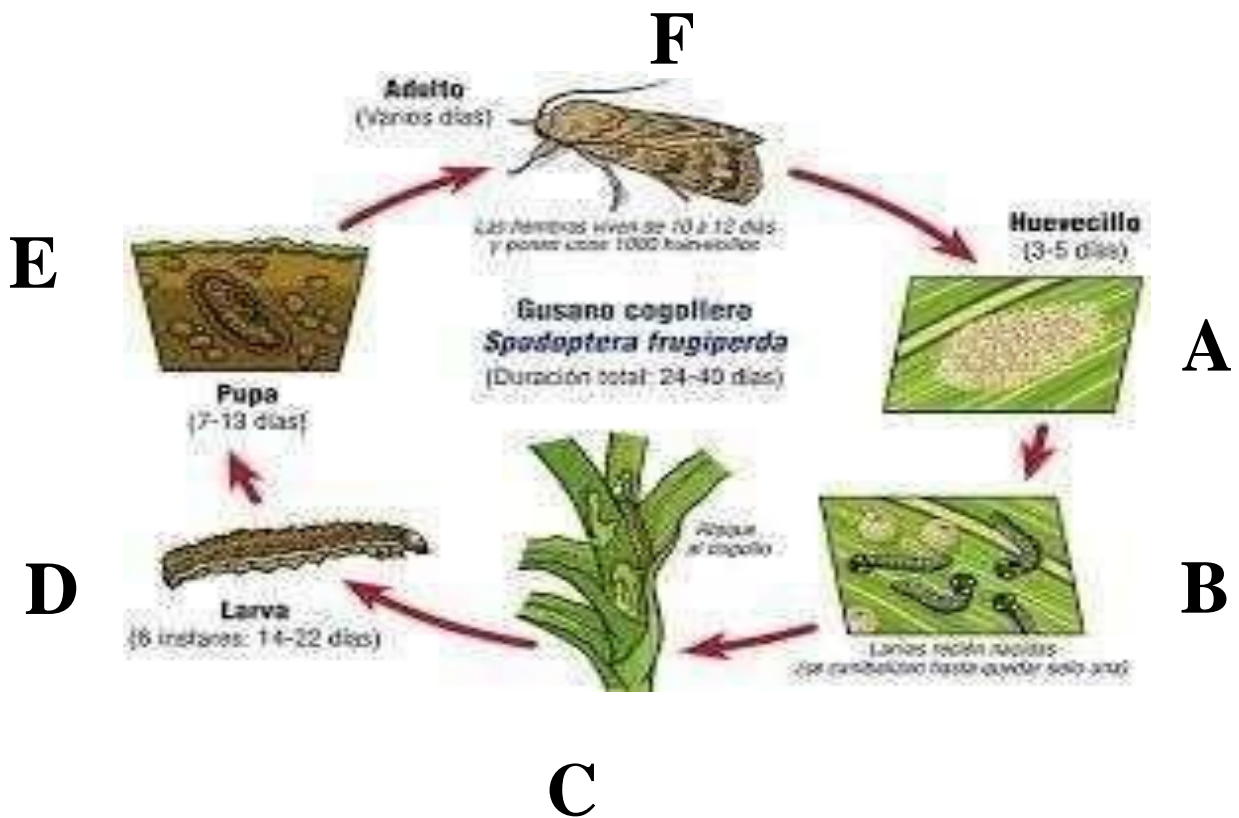


**Anexo 7.** Colocación del diámetro de hoja impregnado con los diferentes tratamientos para la alimentación de la larva de *S. frugiperda*. Babahoyo - Los Ríos, 2021.





Imagen 1. Se presenta el ciclo biológico completo del gusano cogollero.



(Angulo, 2000)

Imagen 2. Se presenta un cuadro con insecticidas sintéticos para el control de *Spodoptera frugiperda*.

CLORPIRIFOS	NANOFOS	RED SURCOS	ME	II		1
ALFACIPERMETRINA	FASTAC	BASF	CE	II		3
CLORFLUAZURON	ISHIPRON	INSUAGRO	CE	III		15
GAMMACIALOTRINA	FIGHTER PLUS	DOW	SC	III		3
CLORPIRIFOS	SHOOTER	CHEMINOVA	CE	II		1
CLORPIRIFOS + CIPERMETRINA	SHOOTER PLUS	CHEMINOVA	CE	II		1+3
CLORANTRANILIPROLE	CORAGEN	DUPONT	SC	IV		28
LUFENURON	LUCIFER	RED SURCOS	ME	IV		15
LUFENURON	BRETON	CHEMINOVA	EW	III		15
NOVALURON	RIMON	ADAMA	CE	III		15
LUFENURON	MATCH	SYNGENTA	CE	IV		15
CLORPIRIFOS	PYRINEX ME	ADAMA	CS	III		1
CLORPIRIFOS	PYRINEX	ADAMA	CE	II		1
TRIFLUMURON	ALSYSTYN	BAYER	SC	IV		15
ALFAMETRINA	ALFAPLUS	FMC	CE	II		3
ZETAMETRINA	MUSTANG	FMC	EW	II		3
CLORPIRIFOS	LORSBAN	DOW	CE	II		1
LAMBDAALOTRINA	LAMDEX	ADAMA	CE	II		3
LUFENURON	COMPACT	NUFARM	CE	III		15
SPINOSAD	TRACER	DOW	SC	IV		5
LAMBDAALOTRINA	KARATE ZEON	SYNGENTA	CS	II		3
LAMBDAALOTRINA	KENDO	SYNGENTA	CE	II		3
BENZOATO EMAMECTINA + LUFENURON	CURYOM FIT	SYNGENTA	WG	II		6+15
NOVALURON	QUESTOR	FMC	CE	IV		15
ZETAMETRINA	FURY	FMC	EW	II		3
LAMBDAALOTRINA	KAISO	NUFARM	WG	II		3
DELTA METRINA	DECIS FORTE	BAYER	CE	II		3
METOMIL	METHOMEX	ADAMA	SP	I		1
LAMBDAALOTRINA	ZENITH	RED SURCOS	ME	II		3
RYNAXYPYR	AMICOR	SUMMIT AGRO	SC	IV		28
GAMMACIALOTRINA	ARCHER PLUS	CHEMINOVA	CS	III		3
FLUBENDIAMIDE	BELT	BAYER	SC	III		28
CLORPIRIFOS	CLORPIRIFOS 48	NUFARM	CE	II		1
SPINETORAM	EXALT	DOW	SC	IV		5
LAMBDAALOTRINA	LAMBDAALOTRINA	NUFARM	CE	II		3
CLORPIRIFOS + CIPERMETRINA	LORSBAN PLUS	DOW	CE	II		1+3
TEFLUBENZURON	NOMDLT	BASF	SC	III		15
IMIDACLOPRID + BETACIFLUTRINA	SOLOMON QTEC	BAYER	SC	II		4+3

(Urretabizkaya, 2018).

**Imagen 3.** Se presenta algunos enemigos naturales de insectos como control biológico.



[\(https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/\)](https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/)



[\(https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/\)](https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/)



[\(https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/\)](https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/)

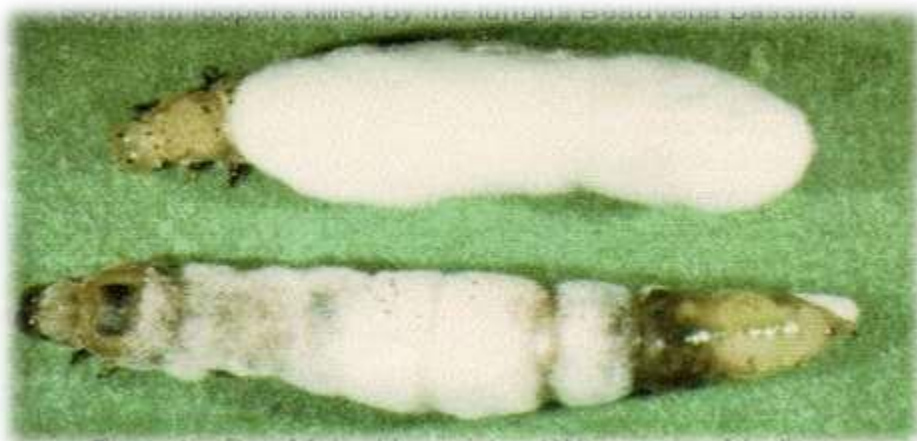


(<https://agrotendencia.tv/agropedia/control-biologico/>)

**Imagen 4.** Larva infectada por *Beauveria bassiana* en ambiente natural.

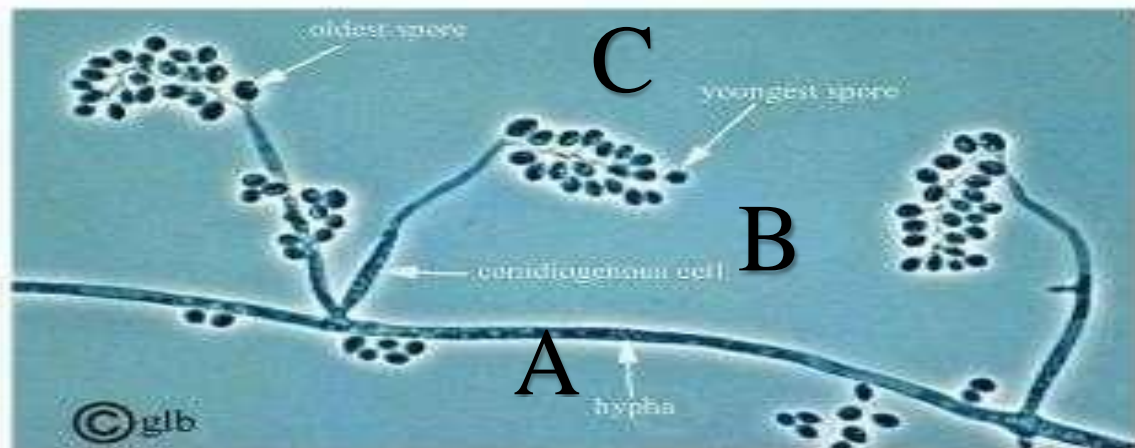


([https://es.123rf.com/photo\\_25862798\\_insectos-infecci%C3%B3n-beauveria-bassiana-zombi-en-las-plantas-en-la-naturaleza.html](https://es.123rf.com/photo_25862798_insectos-infecci%C3%B3n-beauveria-bassiana-zombi-en-las-plantas-en-la-naturaleza.html))



([https://es.123rf.com/photo\\_25862798\\_insectos-infecci%C3%B3n-beauveria-bassiana-zombi-en-las-plantas-en-la-naturaleza.html](https://es.123rf.com/photo_25862798_insectos-infecci%C3%B3n-beauveria-bassiana-zombi-en-las-plantas-en-la-naturaleza.html))

**Imagen 5.** Observación microscópica del micelio del hongo, conidióforos y esporas.



(Chiriboga, Gómez & Garcés, 2015).

**Imagen 6.** Larvas inoculadas de *Dione juno*, demostrando disminución en su alimentación al segundo día (Concentración  $10^8$  conidias mL<sup>-1</sup>).

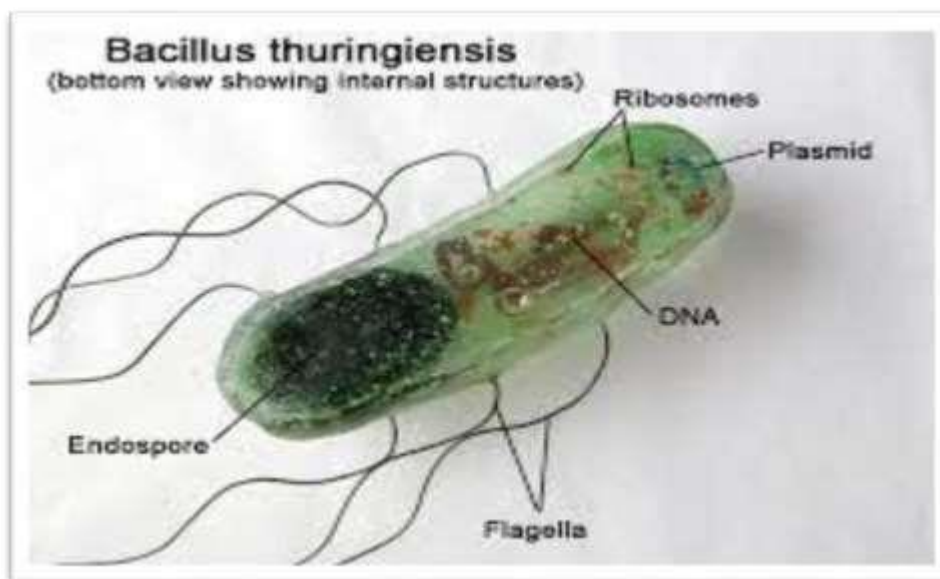


(Zevallos et al., 2013)

**Imagen 7.** Observación de la bacteria *B. thuringiensis* a través de un microscopio, aplicando la técnica de tinción de Gram.

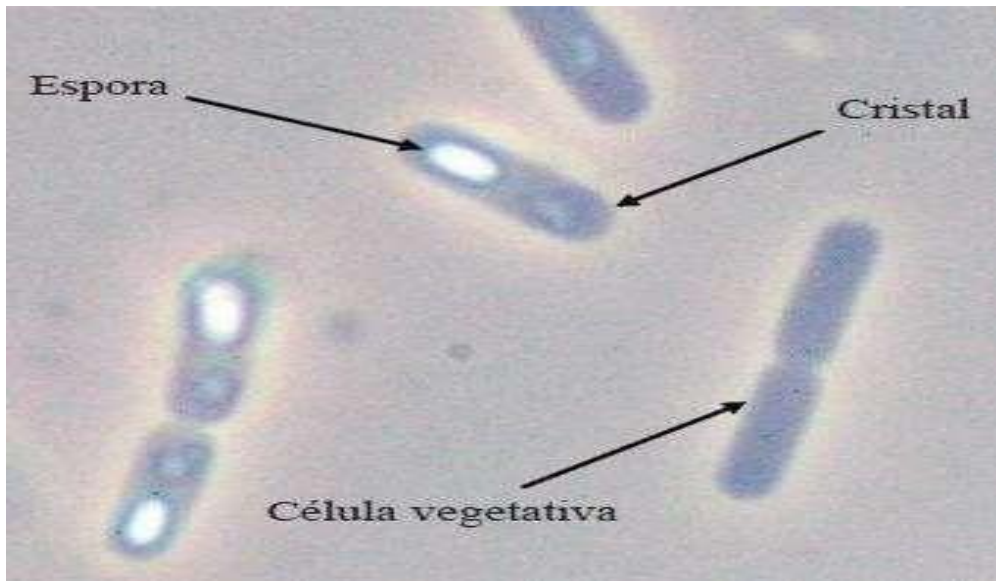


(Flores et al., 2011)



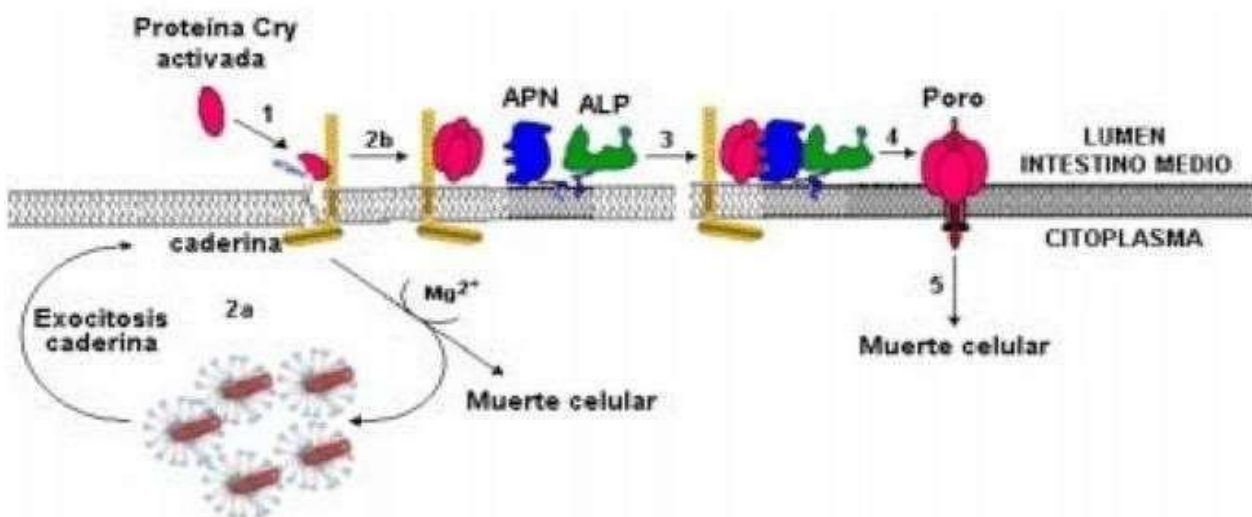
(<https://calebdr7.wixsite.com/agrobiotecnologia/single-post/2015/12/01/el-bioplaguicida-m%C3%A1s-famoso-bacillus-thuringiensis>)

**Imagen 8.** Cultivo de *B. thuringiensis* en fase estacionaria de crecimiento, visto en microscopio de fase a 1000X.

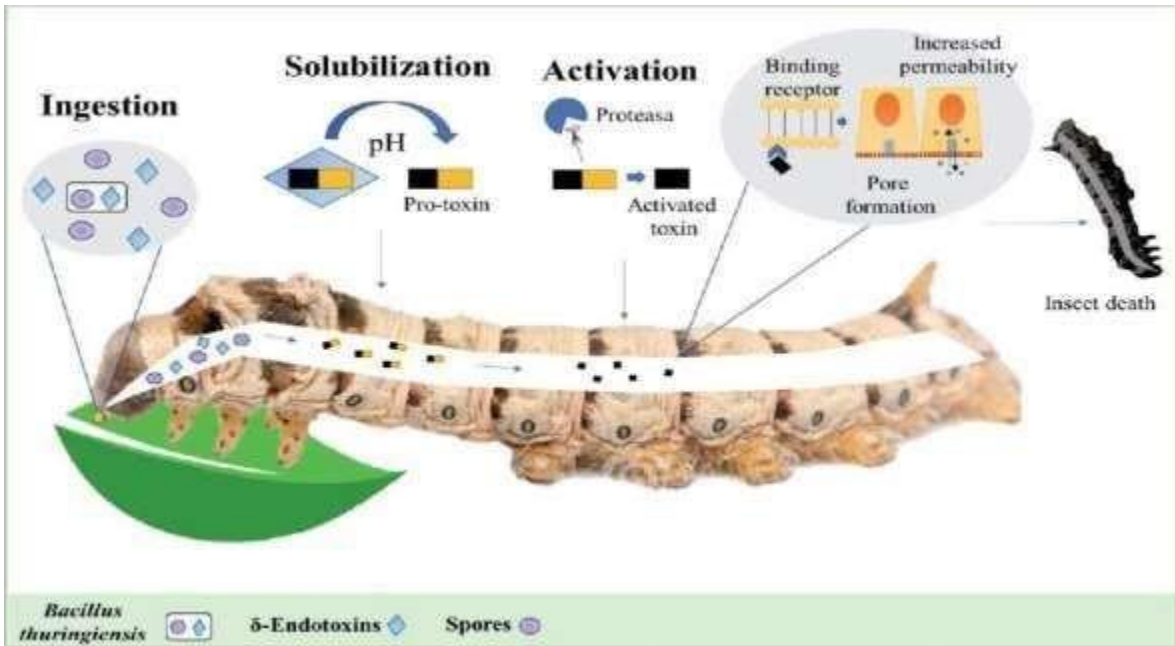


(Vitelli et al., 2010)

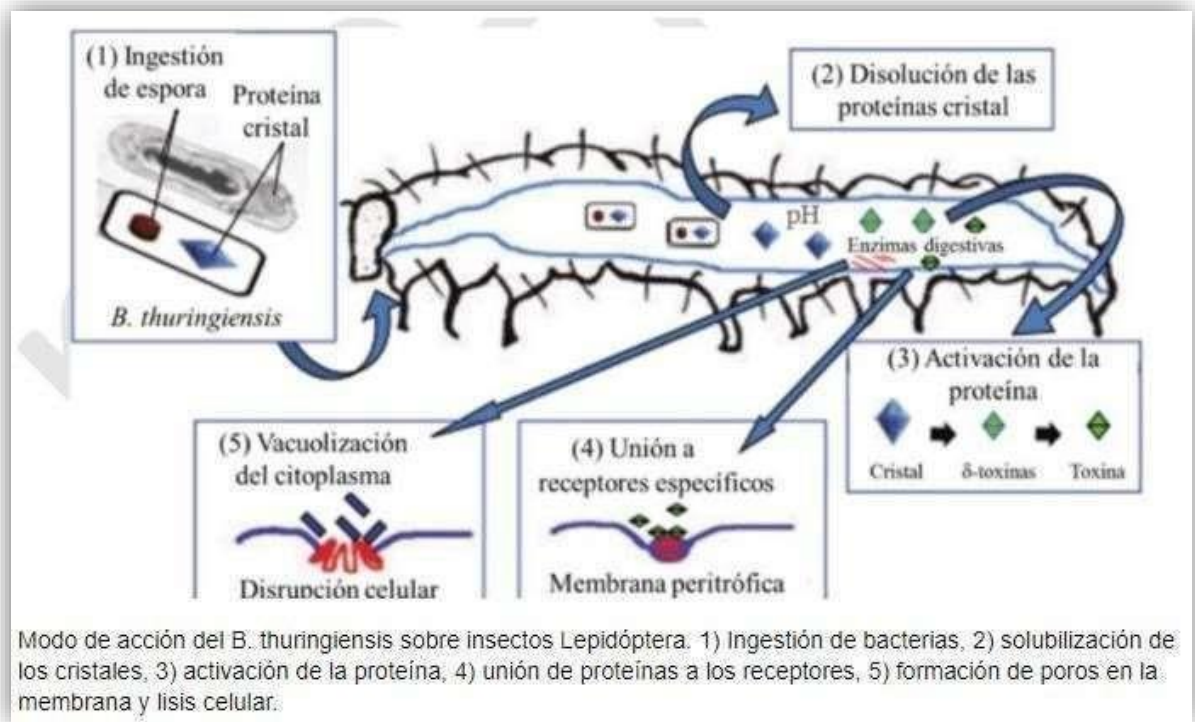
**Imagen 9.** Mecanismo de acción de proteínas Cry en insectos lepidópteros. 1) Unión de la toxina a caderina y clivaje desde su extremo C-terminal para generar la forma monomérica activa.



(Bravo et al. y Zhang et al, 2008)



(Fernández, Ramírez & Galán, 2019)



(Mena & Hernández, 2017)

**Imagen 10.** Diferentes biopreparados orgánicos.



(FAO, 2018)



(FAO, 2018)





(FAO, 2018)



(FAO, 2018)

**Imagen 11.** Insecticidas formulados a base de neem.



[\(https://agroactivocol.com/producto/sanidad-vegetal-alimentos-saludables/insecticida-extracto-de-nim-2/\)](https://agroactivocol.com/producto/sanidad-vegetal-alimentos-saludables/insecticida-extracto-de-nim-2/)



[\(https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-727388132-insecticida-extracto-de-neem- JM\)](https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-727388132-insecticida-extracto-de-neem- JM)

**Imagen 12.** Componentes limonoides (triterpenos) encontrados en el árbol de neem y los tejidos en donde se concentran.

Componentes limonoides	Tejidos donde se concentran
Azadirona	Aceite de las semillas
Amorastaitina	Hojas frescas
Vepinina	Aceite de las semillas
Vilasinina	Hojas del neem.
Geduninina	Aceite de las semillas y de la corteza.
Nimbina	Las hojas y las semillas
Nimbolina	En las semillas
Salanina	Las hojas y las semillas

(Saxena 1996).