

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA**



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.

Presentado por

Bra. Indira Masiel Coronado Velásquez

Bra. María Luisa Castillo Calderón

Br. Glender de Jesús Delgado García

Tutora: MSc. Carmen Marina Rizo Zeledón

Trabajo presentado como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero en Agroecología Tropical

León, Nicaragua, 2012

INDICE GENERAL

	Pag.
Agradecimiento.....	iii
Dedicatoria	iv
RESUMEN	vii
I. Introducción	1
II. Objetivos.....	4
III. Hipótesis	5
IV. Marco Teórico.....	6
4.1 El gusano cogollero, <i>Spodoptera frugiperda</i> J E Smith	6
4.1.1 Distribución y daño	6
4.1.2 Ciclo biológico del Cogollero	7
4.2 Manejo de <i>S. frugiperda</i> en el cultivo de maíz.....	9
4.3 Virus Entomopatógenos	10
4.3.1 Baculoviridae	11
4.4 Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN	12
4.4.1 Modo de acción	12
4.4.2 Sintomatología	13
4.4.3 Dispersión	13
4.5 Uso de virus para el control de plagas	13
4.6 Formulaciones de VPN	14
4.6.1 Caolín	15
4.7 Insecticidas Botánicos	15
4.7.1 Ventajas y desventajas de usar insecticidas botánicos	16
4.7.2 Modo de acción de los insecticidas botánicos	16
4.8 Neem (<i>Azadirachta indica</i>).....	18
4.8.1 Efectos de los componentes del neem en los insectos	19
4.8.2 Productos disponibles a base de neem.....	20
V. Materiales Y Métodos.....	22
VI. Resultados Y Discusión.....	26
VII. Conclusión	39
VIII. Recomendaciones.....	41
IX. Bibliografía.....	42
X. Anexos.....	46

AGRADECIMIENTO

Damos gracias a Dios, por estar con nosotros en cada paso que damos, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente y por haber puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido nuestro soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Agradecemos hoy y siempre a nuestra familia por el esfuerzo realizado por ellos. El apoyo en nuestros estudios, de ser así no hubiese sido posible. A nuestros padres y demás familiares ya que nos brindaron el apoyo, la alegría y la fortaleza necesaria para seguir adelante.

Agradecemos a nuestros profesores por el aporte de sus conocimientos para nuestra formación profesional, en especial a nuestra tutora MSc. Carmen Marina Rizo Zeledón por la colaboración, paciencia, apoyo incondicional y por ser la principal aportadora para la realización de este trabajo.

A los profesores Miguel Bárcenas, Jorge Luis Rostran, Ivania Baca, Milton Carvajal y al personal del laboratorio de cría de insectos de Noctuidos y virus entomopatógenos en especial doña Cony, doña Carmen y al personal que labora en el CNRA en especial a don Alfonso, por su apoyo en las diferentes etapas del proceso de la investigación.

También agradecemos a nuestros compañeros, amigos y colegas por su valiosa e inolvidable amistad.

Infinitas gracias.

Indira Masiel Coronado Velásquez

María Luisa Castillo Calderón

Glender de Jesús Delgado García

DEDICATORIA

Doy infinitas gracias a Dios, porque paso a paso me ha dirigido y siempre ha estado conmigo y su mano me ha guardado, por ser la fuente de consuelo, confianza y convicción para poder seguir adelante y poder realizar este sueño.

Con mucho amor a mis padres **Onésima Velásquez y Eusebio Valentín Coronado** q.e.p.d, por todos los sacrificios, apoyo incondicional y consejos que con mucho amor me dieron. Por ser ellos los que me motivaron para que fuera una profesional al servicio de la sociedad y de mi país. Aunque no estén conmigo, siempre los llevo en mi corazón y los recordare toda mi vida.

A mis queridos y amados hermanos **Eskarleng, David, Ana, Meleysi, Marling, José Adrian, Luis Manuel, Sobeyda y Lourdes** y a mis sobrinos, por su apoyo.

En especial a mi Tía **Silveria Guzmán**, quién ha sido mi segunda madre. A ella mi agradecimiento eterno por su apoyo incondicional, sus consejos y sus regaños, los que contribuyen a forjarme como una mejor persona.

A mi prima **Marina Gutiérrez**, quién me ha acogido como una hermana.

A todos mis amigos y compañeros, en especial a **Carlos Grijalba** por su ayuda incondicional para realizar mis estudios y culminarlos exitosamente.

Indira Masiel Coronado Velásquez

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, salud y fuerza necesaria para luchar día a día contra cualquier adversidad y así permitirme seguir alcanzando mis metas y sueños.

A mi madre **Luisa Amanda Calderón Valdivia** a la cual le doy gracias infinitas por sus consejos, regaños, su buen ejemplo como madre y sobre todo por el apoyo incondicional que me ha dado, lo cual me ha permitido superarme como persona, como amiga y como madre. A mi padre **Gustavo Alberto Castillo** por sus consejos, apoyo, valores y ejemplo como buen padre.

A mi hijo **Glender Ernesto Delgado Castillo** quien es el motivo principal que me hace luchar cada día por conseguir su bienestar y felicidad.

A mis hermanos quienes también me han apoyado para conseguir esta meta tan importante.

María Luisa Castillo Calderón

DEDICATORIA

Primeramente a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y brindado la salud y la fortaleza para seguir adelante día a día.

A mi madre **Marcelina del Socorro García Castillo**, porque me sacó adelante dándome ejemplos dignos de superación y entrega, por sus consejos, sus valores y apoyo incondicional en todo momento, los cuales me han convertido en una persona de bien. A mis abuelos **Gertrudis Castillo y Ricardo García** q. e. p.d., por ese amor incondicional que siempre me brindaron, por sus consejos y las experiencias vividas junto a ellos, lo cual me lleva hoy a graduarme en esta carrera.

A mi hijo **Glender Ernesto Delgado Castillo** porque es mi gran motivación para salir adelante y alcanzar mis metas en la vida.

A la familia **Zapata Escalante** por todo el cariño y consejos que me han brindado y en especial, por darme un hogar digno y trasmitirme valores que han contribuido a ser la persona que soy hoy en día.

Glender de Jesús Delgado García

RESUMEN

El Virus de la Poliedrosis Nuclear antes de ocasionar la muerte de las larvas inhibe el consumo foliar y el neem además del efecto tóxico tiene acción anti alimentaria. Sin embargo, se desconoce en cuanto se disminuye el daño que causan las larvas en el cultivo después de la ingesta de estos productos. Para ello se realizó este estudio con los siguientes objetivos: Determinar el consumo foliar de las larvas L₁, L₂ y L₃ de *Spodoptera frugiperda* enfermas con virus de la poliedrosis nuclear y contaminadas con neem (*Azadirachta indica*); cuantificar la mortalidad y el tiempo de mortalidad desde el periodo de infección hasta su muerte o pupación. El estudio se realizó en dos etapas: la primera fue la siembra de maíz para alimentar las larvas y la segunda fue el montaje del experimento. El diseño experimental fue un bifactorial, establecido en un Diseño Completamente Aleatorio, siendo cada larva considerada la unidad experimental. Los factores evaluados fueron edad de la larva (L₁, L₂, y L₃) y tipo de insecticida: dos formulados de VPN y de neem, para un total de 15 tratamientos. Para la aplicación de los tratamientos se preparó una solución de virus crudo conteniendo 3.5 ml de solución de virus en 100 ml de agua destilada; Una solución de virus formulado conteniendo 4.71 g en 100 ml de agua destilada; neem artesanal en una solución que contenía 2 ml del producto en 250 ml de agua destilada; neem formulado en una solución que contenía 2 ml del producto en 250 ml de agua destilada y un testigo con agua destilada. Cada tratamiento fue aplicado a 30 larvas de cada estadio larval y fue aplicado mediante el método de inmersión, usando trozos de hojas de maíz de 9 cm², las cuales fueron usadas para alimentar a las larvas con hojas tratadas con cada tratamiento, este proceso se realizó hasta que las larvas alcanzaran su estadio de pupa o murieran. El efecto del virus en las larvas de *S. frugiperda* en disminuir el consumo foliar es mayor que el efecto anti alimentario en el neem en los primeros instares. Los valores obtenidos en el consumo foliar y la mortalidad producida en el virus crudo y formulado fueron similares. En el neem artesanal obtuvo el mayor efecto anti alimentario, en comparación con el aceite de neem. Las larvas de *S. frugiperda* en los diferentes tratamientos e instares (L₁, L₂, L₃) consumen: virus crudo 0.10, 20.64, 20.70 cm²; virus formulado 0.31, 20.74, 40.50 cm²; neem artesanal 8.04, 32.30, 70.56 cm²; aceite de neem 48.4, 66.83, 72.55 cm² en todo su ciclo. La disminución en el consumo foliar durante todo el ciclo en las larvas L₁, L₂ y L₃ tratadas con virus crudo y formulado fue en promedio entre un 82.79-76.95%, respectivamente; en el tratamiento de neem artesanal y aceite de neem fue de un 59.30- 42.74%, respectivamente, en relación con las larvas del testigo durante todo su ciclo de vida.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz originario de América se cultivaba en las zonas de México y América Central por las tribus existentes en los tiempos precolombinos. Actualmente, es sembrado en todos los países de América Latina y constituye junto con el frijol y la calabaza, un alimento fundamental en toda América (FAO 2001). La producción mundial es de 880 millones de toneladas, siendo Estados Unidos el mayor productor con cerca del 45% de la producción total (Wikipedia 2012).

En Nicaragua es uno de los rubros más importantes. En el ciclo agrícola 2010-2011 el área de siembra fue de 206,647ha, con un rendimiento promedio de 1517 kg \cdot ha⁻¹ (MAGFOR 2011). El problema de mayor importancia en la producción de maíz lo constituye el bajo rendimiento que se obtiene por unidad de superficie. Una de las causas es el ataque de las plagas, en particular *Spodoptera frugiperda*, la cual generalmente ataca cuando el cultivo se encuentra en etapa de plántula y vegetativa y ocasiona pérdidas de producción hasta de un 60%, por lo que se recomienda aplicar cuando se alcanza un 40% de cogollos dañados (INTA 1999).

Para el manejo de *S. frugiperda* los agricultores tradicionalmente han usado métodos de control cultural y químico. Este último da buenos resultados, cuando la plaga se encuentra distribuida en todo el cultivo con alta densidad poblacional, pero el uso constante de estos productos conlleva a crear problemas de resistencia de plagas haciendo cada vez más difícil su control, obligando a los agricultores a cambiar sus productos, aumentar la dosis y hacer mezclas de insecticidas para mejorar los resultados de control. Otros métodos alternativos de control eficientes para el manejo de esta plaga son el uso de extractos botánicos con propiedades insecticidas y el uso de control biológico, que se presenta como una alternativa eficaz y libre de riesgo (LEUCONA 1996).

Normalmente, los pequeños productores utilizan hojas y semillas del árbol de neem, para el manejo de muchos insectos plagas que atacan los cultivos. Este insecticida botánico posee muchas bondades, actúa como repelente, ovidisuasivo, inhibe el crecimiento, altera la metamorfosis, reduce la fecundación en las hembras causando esterilidad parcial o total en los huevos y además presenta un efecto fagodisuasiva (Gruber 2004). Sin embargo, se desconoce cuánto disminuye el consumo foliar en las larvas de *S. frugiperda* cuando se aplica el neem en el cultivo ya sea preparado de manera artesanal o formulado.

La UNAN- León ha desarrollado el Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) como una alternativa biológica para manejar plagas. Este virus es un microorganismo que produce enfermedades infecciosas en los tejidos de los insectos, es selectivo, actúa por ingestión, reduce la movilidad y disminuye el consumo de alimento, causando la muerte entre los tres a cinco días después de ser ingerido por las larvas (Rizo y Narváez 2001). Este método de control es muy efectivo si se utiliza de la manera correcta, ocasionando una reducción de las poblaciones de *S. frugiperda* de hasta un 70% (Narváez 2000) y además no afecta el balance natural de los agroecosistemas.

El virus se utiliza en forma cruda sin ningún aditivo o formulado con caolín; Lobo de Souza y Leucona 1989, Alves 1986 y Valicente, 1988, reportan que las larvas de *Spodoptera* disminuyen el consumo foliar como efecto del desarrollo de la enfermedad dentro del intestino medio de las larvas, hasta que finalmente les ocasiona la muerte. Por otro lado, se desconoce el efecto del caolín, que según Díaz *et al.* 2002 señalan que estas partículas minerales presentan propiedades insecticidas. Sin embargo, por falta de conocimiento sobre el modo de acción del virus y del neem, los agricultores manifiestan temores para usar estas alternativas para manejar *S. frugiperda* en el cultivo de maíz, pues al ver siempre las larvas en el cultivo después de haber aplicado VPN, o neem, asumen que siempre están causando daño y por ende disminuyendo los rendimientos, produciendo pérdidas económicas.

Por ello, este estudio pretende determinar el efecto de diferentes formulaciones del VPN y neem en el consumo foliar de larvas de *S. frugiperda* en los estadios larvales susceptibles. Esta información permitirá la planificación adecuada para el manejo de esta plaga, según el tamaño de larva que se encuentre en el cultivo y la capacidad de consumo de las mismas después de ser aplicado con virus o neem, a fin de aumentar la eficiencia de la aplicación y la confianza de los productores a estos productos.

II. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el efecto en el consumo foliar y la mortalidad producida por diversas formulaciones de Neem (*Azadirachta indica*) y VPN en larvas de diferentes instares de *Spodoptera frugiperda* alimentadas con hojas de maíz, bajo condiciones de laboratorio, en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, en el periodo comprendido de febrero a noviembre del 2011.

Objetivos Específicos

- Cuantificar el consumo foliar de las larvas de diferentes edades de *Spodoptera frugiperda* sometidas a los diferentes tratamientos bioinsecticidas.
- Estimar la mortalidad producida por el virus y el neem en las larvas de diferentes edades de *Spodoptera frugiperda*
- Evaluar el tiempo letal de cada uno de los bioinsecticidas en las larvas de diferentes edades de *Spodoptera frugiperda*.
- Comparar la disminución del consumo foliar de larvas infectadas por el virus de la poliedrosis nuclear y contaminadas con neem (*Azadirachta indica*) vs el consumo foliar de larvas sanas.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis de Investigación

- Las larvas de *S. frugiperda* enfermas por virus de la poliedrosis nuclear consumen menor área foliar, debido a que virus al reproducirse en las células del intestino medio de las larvas produce vómitos y se disminuye el apetito.
- Las larvas de *S. frugiperda* al consumir hojas de maíz con el insecticida neem, produce un efecto antialimentario debido a que los ingredientes activos del neem son fagodisuasivos y repelentes.

Ho: Las larvas de *S. frugiperda* enfermas por virus de la poliedrosis nuclear y contaminadas con neem (*Azadirachta indica*) consumen igual área foliar.

Ha: Las larvas de *S. frugiperda* enfermas por virus de la poliedrosis nuclear y contaminadas con neem (*Azadirachta indica*) consumen menor área foliar.

Ho: Los tratamientos bioinsecticidas ocasionan la misma mortalidad en las larvas de *S. frugiperda*

Ha: Los tratamientos bioinsecticidas ocasionan diferente mortalidad en las larvas de *S. frugiperda*

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith

El gusano cogollero es considerado una de las plagas principales en el cultivo de maíz, afectado el rendimiento en un 30 – 60%. Esta plaga afecta al maíz en casi todas las etapas de su crecimiento (Cáceres 2002).

4.1.1 Distribución y daño

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) tiene una distribución amplia desde los Estados Unidos, México, América Central, el Caribe hasta América del Sur (King y Saunders 1984).

Las larvas de *S. frugiperda* se alimentan de varias especies de las familias Fabaceae (*Phaseolus vulgaris* (frijol)), Malvaceae, (*Gossypium hirsutum* (algodón)), Poaceae como *Zea mays* (maíz), *Sorghum bicolor* (sorgo) y *Oryza sativa* (arroz) y Leguminosae (*Glycine max* (soya)). Afecta malezas y otros cultivos como hortalizas, pero en Nicaragua estos son los hospederos más comunes.

Las larvas después de emerger se alimentan del corion del huevo y buscan las plantas y penetran verticalmente el cogollo, las larvas jóvenes hacen una especie de ventanitas en las hojas y las larvas se alimentan vorazmente del cogollo dejando agujeros grandes e irregulares. Este daño es muy notorio ya que las hojas se observan rasgadas y con abundantes excrementos. En el cultivo de maíz causa daño en todas sus etapas: a nivel de plántula como cortador, en desarrollo vegetativo como cogollero, en el llenado del grano como elotero, en el tallo como barrenador. Afecta la flor masculina, resultando una disminución de la cantidad de polen, que puede incidir en la polinización. Es decir, se mantiene en el cultivo desde que nace la semilla hasta que se tapisca la mazorca y ocasiona pérdidas de producción en el cultivo de maíz hasta un 60% (King y Saunders 1984).

4.1.2 Ciclo biológico del Cogollero

Huevo. El número de huevos que deposita cada hembra es de 890. La duración de este estado puede variar entre 3 a 30 días. Los huevos son esféricos, algo aplanados en la parte superior, con 0.5 mm de diámetro aproximadamente y con la superficie externa estriada radicalmente. Su color es blanco amarillento, con cierto brillo nacarado cuando están recién puestos, a medida que la incubación avanza se tornan de un color gris rojizo. Son depositados en grupos compactos formando varias capas generalmente de cien o más huevos individuales, cubiertos por una especie de telaraña compuesta por secreciones de la hembra y escamas de su cuerpo; esta telilla parece proporcionarles cierta protección contra algunos agentes bióticos y abióticos.

Larva. La duración de este estado larval es de 6 a 10 días. Las larvas son eruciformes, con tres pares de patas torácicas, cuatro pares de pseudopatas abdominales y un par anal o telson. Recién salidas de los huevos tienen aproximadamente 1.5 mm de largo, color blanquecino, cabeza negra y el cuerpo cubierto de pelos finos. En estado más avanzado de desarrollo muestra una coloración variable, presentándose formas de color verdoso hasta gris oscuro. En su posición dorsal puede distinguirse una faja media longitudinal de color café oscuro y un par de fajas laterales de color café más claro a ambos lados de la anterior. Presentan un escudo cervical café oscuro; la cabeza es de color café amarillento, más estrecha que el cuerpo y presenta la sutura epicraneana muy destacada y en forma de Y invertida.

En su máximo desarrollo alcanza 34 a 44 mm de longitud en esta especie se presentan seis instares larvales y se observan hábitos canibalísticos entre ellas y con gran número de larvas de otras especies, después del tercer instar. Son la única etapa dañina del insecto. Actúan como “trozadores” en muchos cultivos permanecen ocultos bajo el suelo durante el día, cerca de las plantas que atacan, y durante la noche trozan las plántulas. Cuando las larvas buscan las plantas y penetran

verticalmente el cogollero, donde permanecen ocultas hasta que bajan al suelo para empupar.

Pupa. Miden aproximadamente 18 mm de longitud. En el estado de prepupa dura aproximadamente 2 a 3 días y en pupa de 6 a 10 días. Son del tipo obtecta, de colores café oscuro, lisos y brillantes; el cremáster está constituido por dos espinas pequeñas en forma de “V” invertida. Penetran unos 2.5 cm bajo el suelo, donde practica una galería de unos 7 cm de largo, al final de la cual fabrica su celda pupal, acorta sus segmentos, muda por última vez y se convierte en pupa.

Adulto. La duración promedio es de 12 días; su aspecto es variable, tiene 30 a 35 mm de longitud alar, tórax y abdomen pubescentes y de color ceniciento, siendo el primero más oscuro; las antenas son filiformes. El macho tiene alas anteriores de color pardo oscuro, con una franja conspicua en el margen externo; en la región central de cada una de ellas, cerca al margen costal, muestra una área reniforme y paralelamente hacia el borde anal existe otra mancha elipsoidal de color claro con el centro oscuro; en el borde externo existe una mancha blanca conspicua y en cada ala se presentan otros arabescos. Las alas posteriores son blancas, pero muestran en el borde externo un ribete oscuro. La hembra posee las alas anteriores de color gris, más homogéneo comparado con el macho; se observan en ellas arabescos, aunque menos conspicuos. Muestran hábitos nocturnos, ya que se alimentan, se aparecen y ovipositan durante la noche. Ambos sexos son fácilmente atraídos hacia la luz. Las polillas demuestran un periodo precopulatorio de 1 o 2 días y otro de preoviposición de cerca de 2 días, después de haber emergido de las pupas. Las hembras copulan más de una vez. Son condiciones apropiadas para el desarrollo del insecto el tiempo cálido, húmedo y lluvioso (King y Saunders 1984).

4.2 Manejo de *S. frugiperda* en el cultivo de maíz

Existen diferentes tipos de manejo de las poblaciones de *S. frugiperda* en el cultivo de maíz, entre los cuales se encuentran el control natural, el control mecánico, el control químico, el control biológico mediante agentes biológicos (parasitoides, depredadores y entomopatógenos) e insecticidas botánicos.

El manejo de *S. frugiperda* se ha realizado en la mayoría de los casos con productos sintéticos, estos han sido bastante eficientes. Sin embargo, su uso ha provocado problemas por el desequilibrio causado por la eliminación de los enemigos naturales, la contaminación ambiental, la presencia de altos niveles de residuos en los alimentos y por ende la intoxicación de las personas y el resurgimiento de poblaciones de insectos resistentes a estos químicos (Negrete y Morales 2003).

El control natural se da por la presencia en el campo de parasitoides, microorganismos entomopatógenos y al control físico ejercido por la lluvia en larvas pequeñas, reduciendo las poblaciones de *S. frugiperda*. El control biológico, que es la utilización de agentes reproducidos en laboratorio, entre los cuales están el parasitoide de huevos *Trichogramma pretiosum*, el hongo *Nomuraea rileyi*, la bacteria *Bacillus thuringiensis* y el Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), se presentan como una alternativa para el manejo de altas poblaciones de esta plaga en el cultivo del maíz. Otra alternativa de manejo del cogollero es el uso de insecticidas a base de extractos de plantas que además de ser muy eficientes, baratos, no atacan a los insectos benéficos, se producen fácilmente y no ocasionan contaminación ambiental; contribuyendo de esta manera a solucionar la problemática generada por el uso de insecticidas químicos. (Negrete y Morales 2003).

Los productos botánicos son alternativas útiles y deseables en la mayoría de los programas de manejo de plagas porque pueden ser eficaces y complementar a

menudo las acciones de los enemigos naturales (Schmutterer 1990, citado por Capataz, *et al.* 2007). Sin embargo, muchos agricultores optan por no usarlos debido a que desconfían en su eficiencia y eficacia; desconocen su modo de acción y las dosis a utilizar. Esto hace que el productor se vuelva dependiente de productos químicos por que obtienen mejor control de la plaga (Leyva y Baca 1998).

Los extractos del neem (*Azadirachta indica* A. Juss, familia Meliaceae) son ampliamente explotados para su uso contra una amplia variedad de insectos. En particular el triterpeno azadiractina y sus derivados, presentan efecto antialimentario, repelente, insecticida, regulador del crecimiento y son causantes de esterilidad en hembras adultas (Allan *et al.* 2002, Schmutterer 1990 citado por Capataz, *et al.* 2007).

En Nicaragua en la UNAN- León está disponible un insecticida microbial a base de Virus de la Poliedrosis Nuclear, para el manejo de las poblaciones de *Spodoptera frugiperda*. Este insecticida microbial es altamente específico y no afecta a otros organismos. Los estudios realizados han demostrado su alta efectividad (70% de mortalidad) para el manejo de estas plagas en el cultivo de maíz (Narváez 2000). Sin embargo, por su escasa producción y distribución, existe muy poco conocimiento sobre el modo de acción y efectividad del virus para el control de las plagas, entre los productores.

4.3 Virus Entomopatógenos

Los virus Entomopatógenos pertenecen a 7 familias, las cuales en su mayoría causan infecciones letales. Las familias Reoviridae, Parvoviridae, Picomaviridae y Baculoviridae, ejercen cierto control en los insectos; pero únicamente la familia Baculoviridae es exclusiva para invertebrados (Alves 1986).

4.3.1 Baculoviridae

La familia Baculoviridae consta de un genoma, ADN de doble fila, que infecta a los invertebrados. Son microorganismos que producen enfermedades infecciosas que se multiplican en los tejidos de los insectos hasta, eventualmente, ocasionar su muerte. Son parásitos intracelulares obligados, debido a que solo se reproducen en las células del huésped y necesitan de un organismo vivo para multiplicarse y así diseminarse. En el ambiente pueden estar presentes naturalmente, enfermando a pocos insectos (en forma enzoótica). Utilizándolos como insecticidas virales pueden ocasionar la muerte de poblaciones de plagas de importancia económica.

Estos virus han sido usados como insecticidas biológicos y aplicados a los cultivos con equipos convencionales. Actualmente, cerca de 40 Baculoviridae se han desarrollado para el control de una gran variedad de plagas en los cultivos, pastos, bosques y productos almacenados. Muchos de estos virus han sido registrados como plaguicidas y están disponibles comercialmente (Lecuona y Lobo de Souza 1989).

Los virus del género Baculovirus ofrecen buenas posibilidades de empleo como insecticidas selectivos e inocuos. Son útiles especialmente en combatir plagas de insectos del orden Lepidóptera, que han adquirido resistencia a los plaguicidas químicos. Esos virus representan alternativas en situaciones en las que se está restringiendo el uso de plaguicidas químicos. Además, pueden utilizarse en combinación con plaguicidas químicos, parasitoides, predadores y otros patógenos. En general, son sobre todo, útiles en los programas de control integrado de plagas. De todos los agentes biológicos actualmente en estudio como sustitutos de los plaguicidas químicos, son los Baculovirus, los que por su estructura y sus propiedades, ofrecen las mejores posibilidades de identificación y normalización (FAO 1997).

Existen tres sub grupos, estos son: el sub grupo A, que representa el virus de la poliedrosis nuclear (VPN), el subgrupo B, el virus de la granulosis (VG), y el subgrupo C, como virus de Oryctes (Alves 1986, Evans y Entwistle 1987).

4.4 Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN)

Están compuestos internamente por una capa de proteína llamada cápside, que rodea o protege el ácido nucleico, que representa la porción biológica del virus, pudiendo presentar ADN o ARN. Estos son denominados como nucleocápsides. Estas se pueden encontrar solas o en grupos en una envoltura lipo-proteica, construida a partir del material celular del insecto parasitado. Al conjunto de nucleocápside más la envoltura se le denomina virión o partícula viral. Esta constituye la unidad infectiva del virus. Los viriones están envueltos por una matriz proteica formando el cuerpo de inclusión poliedral (CIP). Los Baculovirus tienen un tamaño aproximado que varían de 0.5 a 15µm (Evans y Entwistle 1987).

4.4.1 Modo de acción

Los virus penetran en los insectos *per os* con la ingestión de alimentos contaminados con los poliedros presentes en los tallos y hojas, siendo el estado larval el que presenta mayor predisposición. También el contagio se puede dar a través de otras vías como el pasaje transovariano y por la contaminación externa del corion, la cual es más frecuente. La contaminación de larvas recién nacidas es facilitada por el hábito de comer el corion de los huevos (Lobo de Souza y Lecuona 1996;Alves 1986).

Después de la ingestión del virus el alimento se mueve directamente al intestino externo en las células epiteliales del intestino medio. En el intestino de los lepidópteros el proceso de disolución de las partículas virales es controlado por la acción del jugo gástrico que tiene un pH altamente alcalino de 9.5 a 11.5 en el que se disuelve la proteína (poliedro) y se libera la partícula viral o virión y se fusiona la partícula viral con la membrana de la célula del intestino, penetran los nucleocápsides a las células y se transporta al núcleo, en el cual se desprende la cápside y se libera el ADN (es la plantilla para replicar el ADN o genoma viral). El virus toma el control de los mecanismos para la producción de macromoléculas celulares (polipéptidos y ácidos nucleídos) y los utiliza para producción de nuevas partículas virales.

4.4.2 Sintomatología

Los síntomas aparecen del tercer al cuarto día de infección de las larvas. Se observan manchas sobre el tegumento, amarillamiento y un aspecto oleoso de la piel, reduciéndose la movilidad y el consumo de alimento, los principales tejidos atacados son: adiposos, epidérmicos, matriz traqueal, glándulas salivares, tubos de malphigy, células sanguíneas, células musculares, glándulas nerviosas y células pericardiales, infectándose por último la hipodermis. Luego los insectos infectados suben a la parte alta de la planta donde mueren colgados de sus patas posteriores. El tegumento se oscurece por la desintegración de los tejidos internos hasta la ruptura del tegumento, el cual es la fuente de inóculo para la infección de otras larvas susceptibles presentes (Lobo de Souza y Leucona 1996; Evans y Entwistle 1987).

En el caso de adultos provenientes de larvas que lograron sobrevivir a una infección de Baculovirus se observan cambios principalmente en la reproducción, reduciendo su fecundidad o bien la viabilidad en la oviposición o en ambos parámetros. Cuando la infección larval tiene lugar en los últimos estadios (Lobo de Souza y Leucona 1996).

4.4.3 Dispersión

Los cadáveres de las larvas muertas representan una fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes en un cultivo. También al avanzar el ciclo del cultivo, tanto el agua de lluvia, como las larvas caídas al suelo, transportan las partículas virales hasta el suelo, donde permanecen y serán el inóculo inicial para futuras infecciones. La dispersión del inóculo ocurre por medio de factores abióticos y bióticos. Los factores abióticos más importantes son el viento, lluvia riego, laboreo, entre otros y los factores bióticos como parásitos, depredadores, adultos del hospedante, detritívoros y aves (Alves 1986).

4.5 Uso de virus para el control de plagas

Los entomovirus son los patógenos más populares en los programas de control integrado, debido a que en muchos casos se ha reportado un excelente control en ciertas plagas. Los agricultores de otros países se han dado cuenta de la bondad de

estos patógenos y se han encargado de colectarlos en campo, almacenarlos y luego dispersarlo en los próximos cultivos y en esta forma asegurar un inóculo uniforme del virus todos los años. Estas prácticas se han llevado a cabo especialmente con los VPN aislados de *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis* y *H. virescens* en diferentes cultivos en el trópico.

En general, el proceso es sencillo las larvas infectadas colectadas en el campo se suspenden en agua (pH 6.0-7.0), luego se licuan para homogenizar la suspensión. Para aplicarlo en el campo la suspensión se filtra con el fin de separar las partes grandes del insecto. También es conveniente agregar un agente humectante. A esta suspensión se le agrega suficiente agua y se asperja sobre el cultivo (Bustillo 1989). También se han hecho investigaciones para formular el virus adicionando ingredientes inertes sin que pierdan viabilidad y patogenicidad.

4.6 Formulaciones de VPN

El proceso de formulación debe preservar la actividad biológica y conferir al producto características de estabilidad durante su almacenamiento, capacidad de permanecer en suspensión en la mezcla del tanque, facilidad de aplicación y favorecer una cobertura apropiada, teniéndose siempre en cuenta que los virus actúan por vía oral.

Los principales virus de insecto que alcanzaron estados de comercialización han sido formulados como polvo mojable o por medio del proceso de liofilización. Otro proceso utilizado ha sido el proceso de co-precipitación de suspensiones concentradas de cuerpos de inclusión en lactosa con acetona. El método de dispersión seco (" spraydrying") probablemente sea el más apropiado para producir formulaciones de polvos mojables más estables. Algunos virus han sido formulados por otros procesos, como el de microencapsulamiento. Se han utilizado co-precipitados del VPN de *H. zea* con acetona y protectores solares, microencapsulados con agentes polimerizantes para obtener cápsulas con diámetros variables entre 10 y 100 micrones, variando con el proceso utilizado. Generalmente, durante el proceso de encapsulamiento se reduce la actividad biológica del virus (Sosa-Gómez y

Moscardi 1996). En Brasil se desarrolló el virus formulado en caolín, el cual es usado para el control de *A. gemmatilis* en el cultivo de soya y el virus de *S. frugiperda* en los cultivos de maíz y sorgo.

4.6.1 Caolín

El caolín se ha utilizado para la formulación de VPN en diferentes países, como Brasil, México, Guatemala y Nicaragua. Este es un mineral aluminosilicato de color blanco, químicamente inerte en un amplio rango de pH, compuesto por finas partículas.

Por otro lado, algunos autores señalan que estas partículas minerales, puede presentar otros efectos en las larvas de los lepidópteros, inclusive la muerte de los insectos. Desde hace varias décadas se vienen desarrollando estudios sobre partículas minerales con el objeto de identificar a aquellas que poseen propiedades insecticidas y determinar sus mecanismos de acción. Uno de los minerales más estudiados y a partir del cual se ha desarrollado una completa tecnología de uso es el caolín.

4.7 Insecticidas Botánicos

Los insecticidas botánicos fueron muy populares entre los años 30 y 40, pero fueron desplazados por los insecticidas sintéticos producidos en países industrializados en los años 50 y 60. Sin embargo, se ha incrementado el interés por usar productos botánicos para el manejo de plagas, debido al impacto negativo de los productos sintéticos en el ambiente, en la salud humana, por las estrictas regulaciones gubernamentales e internacionales y la creciente demanda de productos alimenticios sanos.

Las plantas con propiedades bioplaguicidas no contaminan el medio ambiente, no son tóxicas al hombre ni animales domésticos, pero si pueden ser irritantes, son fáciles de aplicar, no son persistentes, pueden ser selectivos y no dañan los enemigos naturales, no provocan resistencia y son compatibles con otro método de control (Marin 1999).

4.7.1 Ventajas y desventajas de usar insecticidas botánicos

Son sustancias provenientes de plantas, son biodegradables permitiendo fumigar hasta poco tiempo antes de la cosecha, no causan la destrucción de la fauna benéfica y el riesgo que las plagas desarrollen resistencia es mínimo. La fabricación de los insecticidas botánicos se realiza en la misma finca, presentan bajo costo siempre y cuando se disponga del material apropiado y principalmente que las sustancias sean solubles en agua.

Los insecticidas botánicos no tienen acción sistémica por lo que no logran controlar muy bien barrenadores de tallos ni frutos, picudos de cápsulas, tejidos internos y moscas que ponen sus huevos en los frutos. Son de acción más lenta en comparación con los insecticidas sintéticos y tienen una baja persistencia en los cultivos (Gruber 2004).

4.7.2 Modo de acción de los insecticidas botánicos

Según Gruber 2004 se pueden describir tres niveles de modo de acción de las sustancias de origen botánico sobre el insecto.

a) Acción repelente, fagodisuasiva o insecticida. Incluye las sustancias que actúan como repelente, fagodisuasivas (anti-alimentaria) o insecticidas. Conduciendo a la muerte del insecto por vía de intoxicación. Algunas sustancias o compuestos de las plantas actúan en varias formas a la vez. Por ejemplo, los extractos con base de neem actúan como insecticidas y a la vez como repelente y ligeramente como fagodisuasivos.

b) Acción por contacto o por ingestión. Las sustancias que actúan por contacto impactan en el sistema nervioso, que es accesible para esta sustancia en toda la superficie del insecto y por la vía respiratoria, conduciendo rápidamente a la

muerte ejemplo la nicotina, rotenona, pyrethrina. Estos también inhiben la respiración celular produciendo síntomas como parálisis y muerte. Las sustancias repelentes como la del ajo actúan por contacto, pero por contacto en quimiorreceptores del insecto y no por contacto con la cutícula y nervio.

Sustancias que actúan por ingestión como la capsicina (del chile), cuasina (*Quassia amara*), azadiractina (neem) y phenyl-alanin (mucuna) impactan el sistema de digestión, de biosíntesis de las hormonas de muda o en la formación de la cutícula de quitina.

c) Acción sobre órganos y moléculas blanco. Estos actúan sobre distintos órganos, grupos de células, glándulas o hasta determinadas moléculas donde interfiere la sustancia. La Azadiractina actúa en el sistema hormonal, esto es, en las glándulas anexas al cerebro del insecto, también llamada corpora cardíaca y corporaalata, donde se produce la neurohormona PTTH que regula la biosíntesis de las hormonas de metamorfosis y gonadotropie: ecdysona, la hormona juvenil.

Azadiractina inhibe la biosíntesis del PTTH y como consecuencia, no hay biosíntesis de las dos hormonas, donde interfiere el proceso normal de la muda e inhibe la maduración de los huevos. En los primeros estados larvales de los insectos afectados se prologaron por tres semanas en el mismo estadio larval hasta morir, mientras que los estadios L₄ y L₅ llegaron hasta su estado de pupa presentando deformaciones en las alas y otras deficiencias. En los adultos que ingieren gran cantidad de azadiractina presentan una fecundidad reducida.

Se sabe también que el aminoácido no-proteico, el dihidroxy phenylalanin (L-Dopa) interfiere con el aminoácido proteico tyrosin: el insecto lo incorpora por equivocación en la síntesis de su proteína, las cuales resultan inservible y los insectos se mueren por falta de buenas proteínas, esencialmente las que necesitan para formar la cutícula o exoesqueleto de quitina.

4.7.3 Partes de las plantas usadas para la preparación de insecticidas botánicos

Hojas: Estas son las partes más fáciles de aprovechar, porque son muy abundantes en la planta y están disponibles en cualquier época del año. La mejor etapa para cosecharlas es antes del inicio del periodo de floración, aunque es posible en cualquier momento.

Semillas: Es la parte de la planta que concentra la mayor cantidad de propiedades químicas, encontrando aceites esenciales y otros componentes químicos.

Flores: Pocas veces las flores contienen propiedades insecticidas, la cosecha se realiza antes de que la planta haya formado la semilla.

Raíces: algunas plantas como el madero negro (*Glicirina sepium*), zorrillo (*Petiveria alliaca* L) y el ayote (*Cucurbita maximun*) acumulan toxinas en sus raíces. La cosecha se puede realizar en cualquier momento.

Corteza y tallo: se conocen pocas plantas que contengan propiedades de plaguicidas en su corteza o tallos, ejemplo *Quassia amara* (Marin 1999).

4.8 Neem (*Azadirachta indica*)

Es un árbol de raíces profundas, de tamaño mediano y fuste recto, puede alcanzar una altura de 10 a 15 metros y diámetros de 30-80 cm. Su corteza es gris; flores blancas, numerosas en panículas; frutos en drupas oblongas de color amarillo. El neem es una planta de rápido crecimiento, el cual se puede sembrar en cercos perimetrales e internos (INAFOR s.f.).

Esta especie es nativa de los bosques secos de la India, Paquistán, Sri Lanka, Malasia, Indonesia, Tailandia y Burma; introducido a Nicaragua en 1979, está ampliamente distribuido en la zona del pacifico y central. Este árbol soporta altas temperaturas, incluso temperaturas de hasta 44°C, crece entre 50 a 600 msnm, en un rango de precipitación de 450 a 1150 mm/año. Crece muy bien en la mayoría de los suelos incluyendo suelos secos, pedregosos, arcillosos y pocos profundos, no soporta suelos salinos. En Nicaragua comienza a florecer a finales de febrero o inicio de marzo hasta finales de abril, cuando el árbol tiene tres años de edad. La recolección del fruto se realiza a finales del mes de mayo y se prolonga hasta agosto (INAFOR s. f.).

Durante los últimos 25 años se han aislados por lo menos 25 diferentes ingredientes activos del neem y al menos 9 afectan el crecimiento y el comportamiento de los insectos. Los ingredientes típicos de *Azadirachta indica* son triterpenoides, también llamados limonoides, de los cuales la azadiractina, nimbin y salannin son los más importantes, con efectos específicos en las diferentes fases de crecimiento de los insectos. La composición y proporción entre azadiractina, nimbin y salannin depende de la parte del árbol por lo que los efectos de extracto varían según la materia prima. Generalmente en las semillas la concentración de los tres ingredientes es la más alta, pero depende de las condiciones ambientales y el tratamiento durante el procesamiento del extracto.

4.8.1 Efectos de los componentes del neem en los insectos

Los nimbinos y salannininos causan efecto repelente y anti alimentarios dependiendo del estado de desarrollo del insecto; afectando insecto de órdenes Coleóptera, Homóptera, Heteróptera, Orthoptera. La azadiractina causa inhibición del crecimiento, alteran metamorfosis, actúa como repelente, fagodisuasivo, ovidisuasivo, regulador de crecimiento, desorden hormonal en diferentes etapas del proceso de crecimiento del insecto, afecta las hormonas de la muda, reduce la fecundidad de las hembras y puede causar la esterilidad parcial o total de los huevos.

También actúa como repelente manteniendo a los insectos alejados de las áreas donde pueden causar daño. Cuando los insectos ingieren esta sustancia cesan de comer y mueren después de varios días, por tanto los insectos no son capaces de desarrollarse normalmente y presentan deformaciones ya sea en la piel, alas, patas y otras partes del cuerpo. Estos efectos se pueden notar en el estado larval ya que en este es cuando más se alimentan. El efecto residual dura de dos a siete días y es efectivo para varias clases de plaga, entre ellas *Bemisia tabaci*, *Liriomyza sativae*, *Keiferia lycopersicella*, *Spodoptera spp*, *Helicoverpa zea*, *Heliothis virescens* y *Aculops lycopersici* (Gruber 2004).

4.8.2 Productos disponibles a base de Neem

Extracto acuoso de semillas molida. Para elaborar este insecticida se trituran las semillas de neem con un molino ya sea manual o eléctrico. Hasta formar una harina lo más fina posible para lograr una mejor mezcla. La mezcla de las semillas de neem molidas con el agua debe hacerse varias horas antes de la aplicación, preferiblemente de 10 a 12 horas, para un mejor desprendimiento de la sustancia. Generalmente se recomienda de 25 a 50 gramos de semillas molidas por litro.

Aceite crudo. Este se obtiene prensando las semillas de neem descascaradas, ya que estas contienen el 40% de aceite de su masa total. Existen métodos de extracción caseros, prensas eléctricas, solventes orgánicas.

Aceite formulado. Existen en el mercado formulaciones concentradas que contienen el 50% del aceite de neem, emulsificadores orgánicos y agua. Para su aplicación se mezcla con agua a una proporción de 5cc (0.25% de aceite) o 10cc (0.5% aceite) por litro de agua.

Torta de Neem. Este es el residuo de la obtención de aceite de neem a través del prensado y contiene los principios activos en forma más concentrada. La dosis

recomendada es de 15gr por litro. Esta es útil para incorporarlas al suelo del semillero para el control de plagas utilizando de 1-2 libras por tarea como repelente.

Extracto alcohólico. Su preparación es a partir de la torta de semillas de neem descascaradas que resulta de la separación del aceite de neem. Este se obtiene a través del uso de solventes, como etanol y alcohol etílico, para su extracción se requiere equipo sofisticado y costoso (Gruber 2004).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Campus Agropecuario de la UNAN-León, ubicado al sur este de la ciudad de León, de la entrada a La Ceiba 1km al este. En el periodo de febrero a noviembre del 2011.

5.1 Descripción del estudio

El estudio se realizó en dos fases. La primera consistió en la siembra de maíz (*Zea mays*) en maceteras y elaboración de los bioinsecticidas. La segunda en el montaje del experimento bajo condiciones de laboratorio, donde se registró la temperatura y humedad.

Los bioinsecticidas probados fueron el VPN crudo y formulado con caolín, el Neem artesanal y una formulación en aceite. En cada bioensayo se aplicó una sola dosis a larvas de diferentes instares.

5.1.1 Descripción del material biológico usado

Se utilizó la variedad de maíz H INTA-991, la cual se obtuvo del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). Las larvas de *S. frugiperda* de los estadios L₁, L₂ y L₃ se obtuvieron del laboratorio de cría de Noctuidae. El virus crudo y virus formulado con caolín se obtuvo de una cepa aislada desde 1987 en el Laboratorio de Virus Entomopatógenos de la UNAN- León. Se utilizó aceite de neem puro 100% emulsionable, producido por la UNAN-León, disponible en el comercio y el neem artesanal fue preparado macerando la semilla con agua y dejando fermentar por 24 horas.

5.1.2 Preparación de los Bioinsecticidas

Virus formulado

Para realizar el virus formulado con caolín, se descongelaron y pesaron 33 LE, seguidamente se procedió a macerar las larvas, se filtró y mezcló con 4.66g de caolín (en una proporción de 1:1) hasta formar una masa fina. Esta masa fue extendida sobre un plástico negro en una bandeja, colocando una capa fina para facilitar el secado, el cual se realizó por tres días a temperatura ambiente.

Virus crudo

Para elaborar el virus crudo se descongelaron 22 LE y se agregaron 5cc de agua, seguidamente se maceraron las larvas con una espátula, hasta que quedaran completamente trituradas, luego se procedió a filtrarse con una tela fina, hasta obtener la solución de virus crudo.

Aceite de neem y neem artesanal

El neem artesanal fue preparado como el productor lo realiza en el campo, macerando las semillas con agua dejándolo por 24 horas. El aceite de neem, fue obtenido en la UNAN-León.

5.2 Descripción del experimento

El maíz se sembró, de manera escalonada, en maceteras colocadas dentro de jaulas de nylon de 1m x 50cm x 40cm, ubicadas en un túnel, para evitar la defoliación. Las hojas de cada planta fueron cortadas a los 20 días después de la siembra para usarlas en el bioensayo.

El diseño experimental fue un bifactorial, establecido en un Diseño Completamente Aleatorio, siendo cada larva considerada la unidad experimental. Los factores fueron edad de la larva (L_1 , L_2 , y L_3) y tipo de insecticida: dos formulados de VPN y de neem, para un total de 15 tratamientos. Cada tratamiento fue aplicado a 30 larvas de cada estadio larval.

Para la aplicación de los tratamientos se preparó una solución de virus crudo conteniendo 3.5 ml de solución de virus en 100 ml de agua destilada; Una solución de virus formulado conteniendo 4.71 g en 100 ml de agua destilada; Neem artesanal en una solución que contenía 2 ml del producto en 250 ml de agua destilada; Neem formulado en una solución que contenía 2 ml del producto en 250 ml de agua destilada y un testigo con agua destilada.

Para realizar cada bioensayo se utilizaron 150 platos petri, previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% y alcohol 90% antes del ensayo. Antes de cortar los trozos de hojas se procedió a desinfectarlas con una solución de hipoclorito de sodio al 1%, luego enjuagadas con agua y secadas con papel toalla. Se cortaron trozos de hojas de 3 x 3cm, utilizando un molde metálico y un bisturí. La técnica usada fue por inmersión, la cual se realizó introduciendo cada trozo de hoja de maíz dentro del beaker que contenía la solución del tratamiento a evaluar. Luego cada una fue colocada dentro de un plato petri. Se colocaron dos trozos de algodón impregnado con agua, para evitar que se secase, en cada extremo de la nervadura de la hoja y finalmente se colocaba la larva, rotulando cada plato con el tratamiento y réplica correspondiente.

Después de 24 horas se retiró la hoja y se procedió a dibujar, en papel milimetrado, el área consumida. Seguidamente, si la larva sobrevivía, se le colocó un nuevo trozo de hoja limpia sin tratamiento, cuando era consumida en la totalidad se procedía a

colocar otro trozo de hoja. Este proceso se realizó hasta que la larva murió o alcanzó su estado de pupa según el tratamiento aplicado.

7.5 Variables a medir

Las variables que se midieron fueron: porcentaje de mortalidad por día de las larvas de diferentes edades en cada tratamiento, el tiempo de mortalidad en días y el consumo foliar de las larvas de cada edad (L_1 , L_2 y L_3), expresado en cm^2 por cada tratamiento a partir del cual se estimó el porcentaje de disminución del consumo foliar con respecto al consumo de las larvas del testigo.

7.6 Análisis de datos

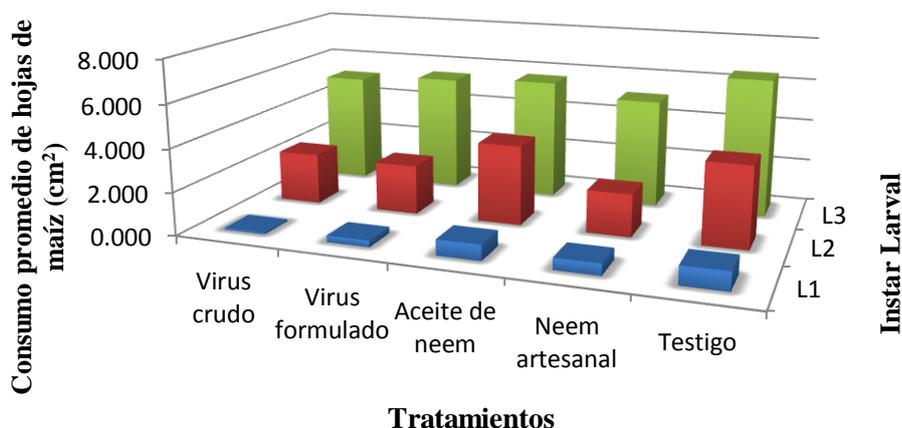
Los resultados fueron analizados en el programa estadístico SPSS, se realizó un análisis de varianza univariado para un bifactorial distribuido en un DCA. El modelo aditivo lineal es $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$, para determinar las diferencias entre tratamientos y la prueba de Duncan (separación de medias) para cada factor. Se realizó un análisis de correlación para determinar la relación entre el tiempo de vida y el consumo foliar de hojas de maíz.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Consumo foliar de las larvas L₁, L₂ y L₃ de *Spodoptera frugiperda* después del tratamiento con Virus de la Poliedrosis Nuclear y Neem

6.1.1 Consumo foliar de las larvas, 24 horas después de aplicado los tratamientos

En la Gráfica 1 se muestra el consumo foliar en las primeras 24 horas después de aplicado los tratamientos. Se observa que la capacidad de consumo foliar incrementa de manera directa con la edad de la larva, lo que es de esperarse ya que las larvas más grandes requieren más alimento y por lo tanto consumen más hojas de maíz. Este hecho se observó en todos los tratamientos.



Grafica 1. Consumo foliar de larvas de *S. frugiperda*, 24 horas después de ser alimentadas con hojas contaminadas con virus y neem. Laboratorio de control Biológico. 2011.

Las larvas del primer instar larval consumen un rango promedio entre 0.08 a 0.85 cm², en los diferentes tratamientos, como se muestra en la Gráfica 1. En las larvas alimentadas con hojas con virus crudo y formulado disminuye el consumo en un 90.33% y en 64.8%, respectivamente, en comparación con el consumo de las larvas

del testigo, seguido de las larvas que se alimentaron con neem artesanal y aceite de neem las cuales disminuyen su consumo entre 37.41% y 15.27% respectivamente, al compararlo con el testigo.

Las larvas del segundo instar consumen un rango promedio entre 2.30 y 3.78 cm² en los distintos tratamientos como se muestra en la Gráfica 1, siendo también mayor el consumo en las larvas del tratamiento testigo que en los tratamientos con virus y neem. Se observa una disminución del consumo de 37.89% y 39.17% en los tratamientos con virus crudo y formulado, respectivamente, al compararlo con el consumo de las larvas del testigo. Además, se observó que el consumo en las larvas alimentadas con hojas inmersas en neem artesanal fue de 1.98cm², disminuyendo el consumo un 47.52% menor que el de las larvas alimentadas con hojas infectadas con virus crudo y formulado, que fue de 2.3 cm². Capataz, *et al.* 2007 señala que la menor ingesta de las larvas alimentadas con neem artesanal es a consecuencia de que en esta forma de preparación del neem, se da un mayor efecto repelente además del antialimentario, debido a la presencia de diferentes sustancias que actúan de manera independiente junto con la azadiractina como la nimbina, salanina y 3-trigloilazadiractina y otras. Por otro lado, el consumo foliar en las larvas del tratamiento aceite de neem fue de 3.71cm², muy similar al consumo de las larvas del testigo, puesto que la disminución del consumo fue del 2.01%. Esto es a consecuencia de que el proceso de extracción del aceite de neem elimina las otras sustancias que inhiben la alimentación en las larvas.

En el caso de las larvas del tercer instar el rango de consumo promedio fue entre 5.078 a 6.473 cm², siendo mayor el consumo en las larvas del tratamiento testigo, de igual manera que en las larvas L₂. El neem artesanal produce el mayor efecto antialimentario, consumiendo 5.07 cm², seguido del virus crudo donde las larvas consumen 5.16 cm²; estos valores representan una disminución del consumo de 21.55% y 20.24%, respectivamente.

Por otro lado, se puede observar que el consumo es menor en los instar larval L₁, L₂ y L₃ en el tratamiento de virus crudo y virus formulado en comparación con el testigo, pero el efecto en la disminución del consumo es mayor en las larvas L₁ y disminuye en la medida que aumenta la edad de la larva, lo cual es lo esperado ya que el VPN causa una disminución de consumo durante el proceso de desarrollo de la enfermedad en las larvas, ya que la multiplicación de los virus ocurre primero en el intestino (Leucona 1989) y este proceso de multiplicación del virus en las células es más rápida cuando la larva es más pequeña (menos células por unidad de superficie) (Alves 1986). Por lo que a pesar de que el VPN no actúa de inmediato como los insecticidas sintéticos, el daño de defoliación que ocasionan las larvas al cultivo es menor desde las primeras 24 horas después de ingerir vía oral el virus.

Tabla 1. Consumo foliar promedio (\pm DS) por tratamiento y por edad de larvas de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio. Laboratorio de Control Biológico.2011.

Tratamiento	Promedio de consumo (cm ²)			Promedio/tratamiento
	L ₁	L ₂	L ₃	
Virus crudo	0.083 \pm 0.09	2.389 \pm 1.68	5.163 \pm 2.73	2.545 a
Virus formulado	0.302 \pm 0.18	2.303 \pm 1.54	5.459 \pm 3.61	2.688 a
Aceite de neem	0.727 \pm 0.51	3.710 \pm 1.80	5.656 \pm 3.55	3.364 b
Neem artesanal	0.537 \pm 0.58	1.987 \pm 1.14	5.253 \pm 3.65	2.562 a
Testigo	0.830 \pm 0.99	3.786 \pm 1.65	6.473 \pm 3.33	3.706 b
Promedio /instar	0.495 a	2.834 b	5.603 c	

*Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan (P= 0.05)

Al analizar el efecto del tratamiento neem artesanal y aceite de neem, se observa una disminución del consumo con respecto al testigo, tanto en las larvas L₁, L₂ y L₃, presentando un mayor efecto antialimentario el neem artesanal, con una disminución con respecto al consumo de las larvas del testigo de 37.41%, 47.52 % y 21.55%, respectivamente, tal como se señaló anteriormente.

Al comparar el efecto antialimentario entre los tratamientos es evidente que el virus crudo es el que causa una mayor disminución del consumo foliar en los tres instares al compararlos con las larvas del testigo y que el neem artesanal causa un mayor efecto antialimentario en los instares L_2 y L_3 . Al analizar las diferencias entre las medias de consumo por edad y por tratamiento, se muestra en la Tabla 1 que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos o tipos de insecticida ($p=0.05$, $\text{sig}= 0.00$, $\text{gl}=4$, $F=5.133$) (ver anexo 2), de igual manera las diferencias entre las medias de consumo por la edad de las larvas muestra diferencias estadísticamente significativa ($P= 0.05$, $\text{sig}= 0.00$, $\text{gl}= 2$, $F= 205.456$) (ver anexo 2), por lo que se rechaza la H_0 de igualdad entre los tratamientos y entre las edad de las larvas.

Al analizar la interacción bioinsecticidas y edad de la larva ($p=0.05$, $\text{sig}= 0.553$, $\text{gl}= 8$, $F= 0.857$) (ver anexo 2), no muestra diferencias significativas, por lo tanto se acepta la hipótesis de igualdad para la interacción, lo que indica que al menos una de las combinaciones no presentó un efecto diferente. Esto se debe a que el virus actúa de manera similar en las diferentes edades en las larvas después de 24 horas de aplicado los bioinsecticidas.

El resultado de la prueba de separación de medias se determina que los tratamientos virus crudo, virus formulado y neem artesanal comparten igualdad estadística, y el tratamiento aceite de neem comparte igualdad estadística con el testigo como se muestra en la Tabla 1.

6.1.2 Consumo foliar total durante el resto del ciclo de vida, después de aplicado los tratamientos

El consumo foliar acumulado durante todo el ciclo de vida de las larvas, se observa en la Gráfica 2, la cual muestra que se mantiene la tendencia del incremento de la ingesta de hojas en la medida que aumenta la edad de las mismas en todos los

tratamientos. Lo que coincide con lo encontrado por Baca 1992, que señala que la cantidad de alimento ingerido en los estadios larvales L_1 y L_2 , es $0.26 - 0.60\text{cm}^2$, pero que a partir del instar L_3 hay un incremento hasta alcanzar mayores proporciones de consumo. Por otro lado, es notorio que el consumo promedio de las larvas está directamente relacionado con el tiempo de sobrevivencia de las mismas como se muestra en la Tabla 2.

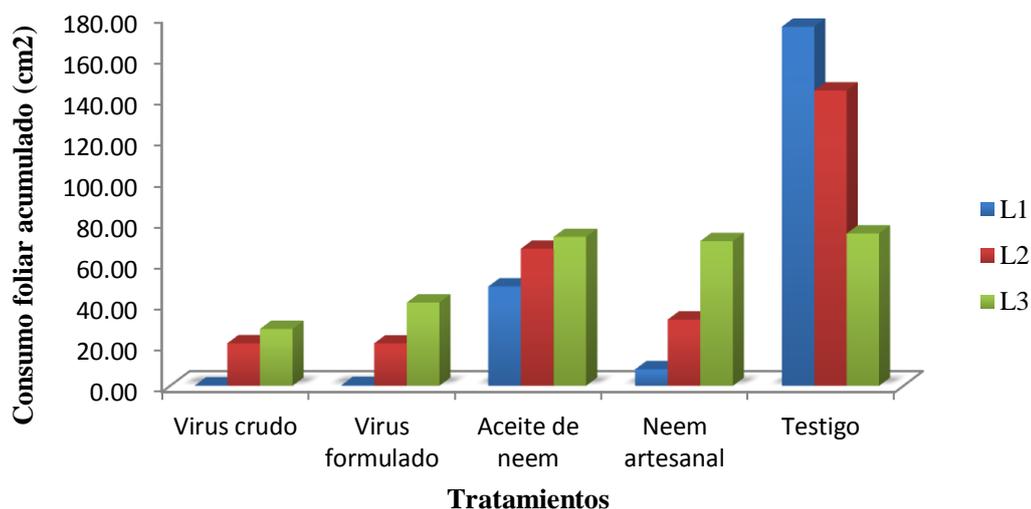
Las larvas L_1 del tratamiento virus crudo y virus formulado consumen 0.10 y 0.31cm^2 , respectivamente, como se muestra en la Gráfica 2. Estos valores indican que se disminuye el consumo en $99.94\% - 99.82\%$ durante todo el ciclo de vida, con respecto a las larvas del tratamiento testigo, lo cual es debido, al efecto anti alimentario producido por el desarrollo más rápido de la enfermedad viral en las larvas pequeñas y por otro lado, a que su tiempo de vida después de aplicado el tratamiento es de alrededor de tres días, como se muestra en la Tabla 2. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Valicente 1988, donde demuestran que una larva infectada por VPN consume un 93.1% menos que las larvas sanas de *Spodoptera frugiperda* la que consume $126.9\text{cm}^2 \pm 40.96$ y que una larva contaminada con VPN consume 8.8cm^2 .

Por otro lado, los valores de consumo foliar y de la mortalidad producida por el virus crudo y formulado son similares, los que indica que el caolín aparentemente no tiene efecto aditivo de mortalidad, lo contrario a lo señalado por Díaz, *et al.* 2002 quienes mencionan que el caolín presenta efectos abrasivos que alteran la epicutícula del insecto por abrasión o alteración estructural, produciendo una desecación y muerte de las larvas.

En relación al efecto del neem artesanal en el consumo de las larvas L_1 , se observó que las larvas del tratamiento neem artesanal consume 8.04cm^2 y las larvas del tratamiento aceite de neem consumen 48.41cm^2 en todo su ciclo, mostrando un

mayor efecto anti alimentario las larvas alimentadas con el neem artesanal tal como ocurrió en las primeras 24 horas, lo que confirma que la mezcla de ingredientes en la formulación artesanal es más efectiva, esto podría ser porque la concentración de los ingredientes activos es mayor o que presentan otros compuestos secundarios que la de la formulación en aceite tal como señala Gutiérrez 2010. Además, Capataz *et al.* 2007 señalan que el suministro de insecticidas elaborados a partir de neem depende de la extracción de las semillas de neem, las cuales son difíciles de obtener en cantidad y calidad para asegurar un alto contenido de azadiractina y sus derivados; esto podría ser debido a que el extracto acuoso de neem puede penetrar o ser ingerido más fácilmente en el cuerpo de las larvas de *S. frugiperda* que el aceite de neem (Gutiérrez 2010).

Las larvas L₁ del tratamiento testigo llegan a consumir hasta 175.07 cm², durante todo su ciclo de vida, lo cual confirma un efecto de los tratamientos en la disminución del consumo foliar, como se muestra en la Gráfica 2.



Gráfica 2. Consumo foliar acumulado durante el ciclo de vida de las larvas de *S. frugiperda* alimentadas con hojas de maíz con distintos tratamientos. Laboratorio de Control Biológico. 2011.

Por otro lado, la larva L₂ consume 20.64 y 20.74 cm² en los tratamientos con virus formulado y virus crudo, respectivamente. El consumo de las larvas fue entre 32.30 y 66.83 cm² en los tratamientos con neem artesanal y aceite de neem, respectivamente, lo que indica que el efecto del virus en disminuir el consumo foliar de las larvas, es mayor que el efecto antialimentario del neem. Al compararlo con el consumo de las larvas del testigo la disminución fue de 85.76 y 85.69% en las larvas alimentadas con virus crudo y formulado, respectivamente; mientras que, el consumo disminuye un 77.72 y 53.89% en las larvas alimentadas con neem artesanal y aceite de neem.

Tabla 2. Relación entre el consumo y el tiempo de sobrevivencia de larvas L₁, L₂ y L₃ alimentadas con hojas contaminadas con Virus y Neem.

Consumo foliar por larva por tratamiento por tiempo de sobrevivencia (cm²)								
Instar larval	Tratamiento	Nº larvas	Consumo foliar por días de sobrevivencia					
			0-3	3-5	5-7	7-15	15-21	21- mas
L₁	Virus crudo	30	0.10	0	0	0	0	0
	Virus formulado	30	0.30	0	0	0	0	0
	Neem artesanal	30	1.06	0.6	0.6	2.1	2.1	1.57
	Aceite de Neem	30	7.36	4.5	5.4	16.23	10.59	4.3
	Testigo	30	25.8	17.74	16.8	63.36	43.24	8.10
L₂	Virus crudo	30	20.71	0	0	0	0	0
	Virus formulado	30	20.63	0	0	0	0	0
	Neem artesanal	30	24.39	6.06	1.83	0	0	0
	Aceite de Neem	30	24.46	6.9	6.9	25.5	3.01	0
	Testigo	30	27.21	15.44	14.7	56.9	29.56	0
L₃	Virus crudo	30	23.15	4.36	0.17	0	0	0
	Virus formulado	30	20.99	12.9	6.60	0	0	0
	Neem artesanal	30	23.9	20.04	26.57	0	0	0
	Aceite de Neem	30	20.4	17.12	35.02	0	0	0
	Testigo	30	20.6	16.03	35.26	1.97	0	0

En el caso de las larvas L₃ consumen 27.70 cm² en el tratamiento virus crudo y el consumo se incrementa a 40.56 cm² en las larvas del tratamiento con virus formulado, esto indica que el consumo está relacionado con la edad de las larvas y con el tiempo que tarda el virus en actuar, como se observa en la Tabla 2.

Mientras que, el consumo de las larvas del tratamiento con neem tanto en aceite como en la formulación artesanal es similar a las larvas del testigo, consumiendo un total de 72.55, 70.56 y 74.24 cm² respectivamente, tal como se muestra en la Gráfica 2. Esto indica que la edad de la larva es un factor importante, pues a mayor edad menor es el efecto anti alimentario de los tratamientos.

A pesar de que el tamaño de la larva L₃ es mayor en comparación con los demás instares y que consume más por día que una larva L₁ y L₂, el valor acumulado del consumo en las larvas sanas del testigo fue de 73.86cm², esto se explica porque el tiempo de vida hasta que inicia el estadio de pupa (días consumiendo hojas) es menor en relación a una larva L₁ y L₂.

Se puede observar que el consumo foliar, independientemente del instar larval, es menor en los tratamientos virus crudo y virus formulado en comparación con el aceite de neem y neem artesanal, lo que confirma que el virus aunque no mata inmediatamente, disminuye el consumo y por ende el daño foliar causado en un cultivo, esto permite diseñar un plan de manejo de *Spodoptera* considerando el daño que ocasiona, aún después de ser aplicado el virus. Estudios en campo realizados por East *et. al.* 1989, en el cultivo del repollo han demostrado que al conocer el consumo foliar de los insectos plagas han disminuido el número de aplicaciones de insecticidas.

Al comparar el efecto antialimentario entre los tratamientos durante todo el ciclo de vida de las larvas, después de aplicado los tratamientos, se observa un comportamiento similar al consumo a las 24 horas. Es evidente que el virus crudo es el que causa una mayor disminución del consumo foliar en los tres instares al compararlos con las larvas del testigo y que el neem artesanal causa un mayor efecto antialimentario en los instares L₁ y L₂. Al analizar las diferencias entre las medias de consumo por edad y por tratamiento, se muestra en la Tabla 3 que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos o tipos de insecticida ($p=0.05$, $\text{sig}=0.00$, $\text{gl}=4$, $F=152.620$) (ver anexo 3), de igual manera las diferencias entre las medias de consumo por la edad de las larvas muestra diferencias estadísticamente significativa ($p=0.05$, $\text{sig}=0.014$, $\text{gl}=2$, $F=4.316$) (ver anexo 3), por lo que se rechaza la H₀ de igualdad entre los tratamientos y entre las edad de las larvas, lo que indica que el efecto de los tratamientos y de la edad tiene diferencias significativas entre ellos.

Tabla 3. Consumo foliar promedio acumulado (\pm DS), durante todo el ciclo de vida por tratamiento y por edad de las larvas de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio. Laboratorio de Control Biológico.2011.

Tratamiento	Promedio de consumo (cm ²)			
	L ₁	L ₂	L ₃	
Virus crudo	0.10 \pm 0.11	20.71 \pm 3.13	27.70 \pm 6.22	16.17 a
Virus formulado	0.31 \pm 0.17	20.64 \pm 3.17	40.56 \pm 15.63	20.50 a
Aceite de neem	48.41 \pm 83.73	66.82 \pm 57.47	72.55 \pm 22.22	62.59 c
Neem artesanal	8.037 \pm 41.40	32.30 \pm 12.62	70.56 \pm 25.94	36.96 b
Testigo	175.07 \pm 50.76	143.91 \pm 54.62	74.24 \pm 19.10	131.07 d
	46.38 a	56.88 b	57.12 b	

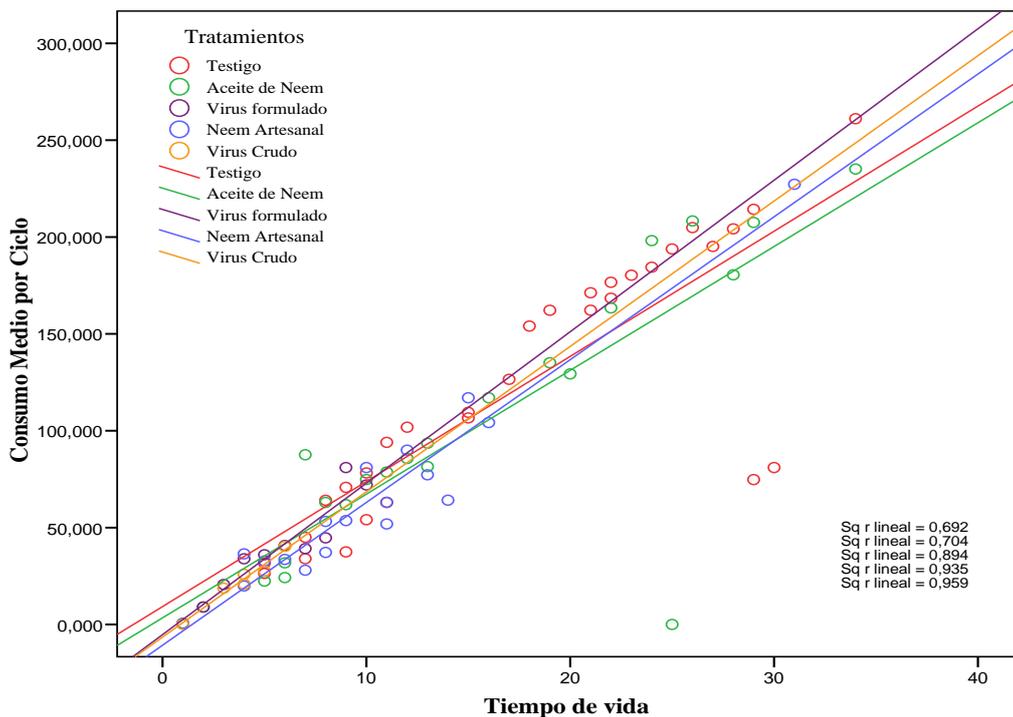
*Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan ($P=0.05$)

Cuando se analiza la interacción se determinó que hay diferencias estadísticas significativas ($p=0.05$, $\text{sig}=0.00$, $\text{gl}=8$, $F=24.362$) por lo que se rechaza la hipótesis de igualdad para la interacción, lo que indica que al menos una de las combinaciones edad * bioinsecticida tiene un efecto diferente.

La prueba de separación de medias determina que los tratamientos virus crudo y virus formulado comparten igualdad estadística, o sea el efecto en la disminución del consumo es similar; el efecto del neem artesanal, aceite de neem y testigo son diferentes estadísticamente a los demás tratamientos, como se muestra en la Tabla 3

6.3 Relación entre el tiempo de vida y el consumo foliar de larvas L_1 , L_2 y L_3 de *S. frugiperda* alimentadas con hojas contaminadas con Virus y Neem

Como se muestra en la Gráfica 3 existe una correlación positiva entre el tiempo de vida y el consumo foliar en las larvas, lo que indica una alta asociación entre estas variables, dependientes la una de la otra. El consumo foliar de las larvas alimentadas con virus crudo muestra una alta correlación ($R = 0.95$), y el virus formulado mostró una $R=0.894$, lo que indica que ambos tratamientos tienen una influencia significativa en la duración del ciclo de vida y el consumo foliar.



Gráfica 3. Correlación entre el tiempo de vida (días) y el consumo promedio por ciclo de las larvas sometidas a los diferentes tratamientos. Los círculos representan los valores observados en los tratamientos y las líneas el ajuste del modelo para cada tratamiento.

De igual manera las larvas alimentadas con neem artesanal mostraron una alta correlación con un $R = 0.935$, mientras que, las larvas alimentadas con aceite de neem el coeficiente de correlación es positivo pero menor, con $R = 0.704$. Las larvas del testigo presentaron una correlación media con un $R = 0.692$, con respecto al tiempo de vida y el consumo. Estos resultados confirman que existe una dependencia entre el efecto de los tratamientos con respecto al consumo y al tiempo de vida de las larvas de las diferentes edades evaluadas en este estudio.

En relación al tiempo de sobrevivencia se observa que las larvas L_1 del tratamiento testigo sobreviven en promedio un rango de 15 a 21 días, las larvas L_2 y L_3 sobrevivieron un rango promedio de siete a 15 días, lo que corresponde al ciclo normal de *S. frugiperda* bajo las condiciones de la cría de noctuidos del laboratorio de control biológico. Con respecto a la mortalidad en las larvas del testigo, esta se dio por contaminación con virus, lo que normalmente ocurre por la manipulación de las mismas, se observó además que la mortalidad incrementa según la edad de la larva, en las larvas L_1 fue de 13.3%, las L_2 16.6% y en las L_3 fue de 36.6%.

En la Tabla 4 se muestra el efecto del virus crudo y formulado en el tiempo de sobrevivencia de las larvas y la mortalidad ocasionada por los mismos. Se observa que las larvas L_1 sobrevivieron en promedio tres días y la mortalidad de las larvas fue de 100% en ambos tratamientos; así mismo en las larvas L_2 la mortalidad fue también de un 100%, pero la muerte ocurrió en un rango promedio de tres a cinco días después de la aplicación de los tratamientos virus crudo y formulado. Estos valores de mortalidad y tiempo letal del virus coinciden con lo encontrado por Valicente 1988, que menciona que el 91% de las larvas infectadas con VPN mueren en un intervalo de cinco días.

En cambio en las larvas L_3 la mortalidad fue también de 100% pero esta se da de manera fraccionada en el tiempo, ocurriendo un 43.4% entre los tres a cinco días y

un 56.6% entre los cinco a siete días en el tratamiento virus crudo, de una manera similar es el comportamiento de la mortalidad en el tratamiento virus formulado, donde ocurre un 10% de mortalidad entre los tres a cinco días y un 36.6% de los cinco a los siete días muriendo el 53.4% de las larvas después de los siete a los 15 días después de aplicado el tratamiento, para un total de 100% de mortalidad. Esto indica que el virus mantiene su patogenicidad y virulencia en las larvas L₁, L₂ y L₃, pero que a mayor edad, más tiempo tarda el virus en provocar la muerte de la larva y por tanto, mayor será el daño foliar producido por las larvas en el cultivo.

Tabla 4. Mortalidad y sobrevivencia de larvas L₁, L₂ y L₃ alimentadas con hojas contaminadas con virus y neem

Mortalidad y sobrevivencia									
Instar larval	Tratamiento	Nº de larvas	Porcentaje de mortalidad por intervalo de tiempo (días)						% Sobrevivencia
			0-3	3-5	5-7	7-15	15-21	21-mas	
L₁	Virus crudo	30	100						0
	Virus formulado	30	100						0
	Neem artesanal	30	96						3.33
	Aceite de Neem	30	73.3	0	0	0	0	3.33	23.33
	Testigo	30	0	0	0	10	3.33		86.6
L₂	Virus crudo	30	0	100					0
	Virus formulado	30	0	100					0
	Neem artesanal	30	0	30	36.6	23.4			10
	Aceite de Neem	30	0	0	60				40
	Testigo	30	0	0	6.6	10			83.3
L₃	Virus crudo	30	0	43.4	56.6				0
	Virus formulado	30	0	10	36.6	53.4			0
	Neem artesanal	30	0	3.3	0	40	3.4		53.3
	Aceite de Neem	30	3.3	0	6.6	46.6			43.3
	Testigo	30	0	0	0	36.6	0	0	63.3

Este hecho sugiere que se debe aplicar el virus en el cultivo de maíz cuando la población de *S. frugiperda* se encuentra en el primer y segundo instar larval que es cuando, por efecto del virus en las larvas, el consumo foliar disminuye entre un 99 a

85% como se señaló anteriormente y por tanto, el daño foliar no ocasionaría pérdidas económicas considerables.

Lo que coincide con lo encontrado por Gonçalves *et al.* 2006, quienes mencionan que ocurre un aumento progresivo del consumo foliar de las larvas de *S. frugiperda* en el cultivo de maíz y los mayores consumos ocurren en los últimos instares. De igual manera Meneses *et al.* 2006, realizó un estudio para determinar el nivel de daño de *S. frugiperda* en arroz y demuestra que el control de esta plaga se debe realizar en los primeros instares ya que en los últimos instares el consumo es más destructivo y señala además, que el efecto de los tratamientos va a ser mayor en tanto menor sea el instar larval, por lo que se debe hacer un plan de manejo en los primeros instares.

Al analizar el efecto del neem en la mortalidad de las larvas, se observa en la Tabla 4, que en las larvas L₁ el neem artesanal produce una mortalidad de 96% y que esta ocurre en un período de tres días. En cambio, la mortalidad producida por el aceite de neem es de 76.6% ocurriendo un 73.3% a los tres días y un 3.33% después de los 21 días. En las larvas L₂ la mortalidad producida por el neem artesanal fue de 90% y esta ocurre entre los tres a los 15 días, mientras que, el aceite de neem produce una mortalidad de 60% entre los cinco a siete días. En las larvas L₃ el neem artesanal produce una mortalidad de 46.7% y esta ocurre entre los tres a 21 días.

Estas diferencias entre el tiempo que tarda en provocar la muerte en las larvas las dos formulaciones de neem, se deban posiblemente a diferencias en el contenido de azadiractina y de las otras moléculas asociadas a la misma, como se mencionó anteriormente, que provocan la intoxicación y muerte inmediata o una inhibición para alimentarse por las sustancias desagradables por tanto las larvas crecen lentamente (Gutiérrez 2010). Por otro lado, se observó en este estudio que las larvas que morían tardíamente mostraban un proceso de muda alterado, de manera que la larva moría estrangulada por la muda y su crecimiento fue lento.

VII. CONCLUSIONES

- Las larvas de *S. frugiperda* en los diferentes tratamientos e instares (L₁,L₂,L₃) consumen: virus crudo 0.10, 20.64, 20.70 cm²; virus formulado 0.31, 20.74, 40.50cm²; neem artesanal 8.04, 32.30, 70.56cm²; aceite de neem 48.4, 66.83, 72.55 cm² en todo su ciclo.
- La mortalidad producida en larvas de *S. frugiperda* en el instarL₁ del tratamientos virus crudo y formulado es 100%, neem artesanal 96%, aceite de neem 76.6%. En el instar L₂fue de 100% en las larvas alimentadas con virus crudo y formulado, 90% con neem artesanal y 60% con aceite de neem. Las larvas L₃alimentadas con virus crudo y formulado fue de 100%, con el neem artesanal46% y con aceite de neem 56.5 %.
- El tiempo de mortalidad en larvas infectadas con virus de la poliedrosis nuclear (virus crudo, virus formulado) fue de tres a cinco días en el instar L₁,L₂ y en las larvas L₃fue de cinco a siete días. En el tratamiento con aceite de neem y neem artesanal el mayor porcentaje de mortalidad fue a los tres días en el instar L₁; respectivamente, en el instar L₂ ocurre de los tres a los 15 días y en el instar L₃ el tratamiento aceite de neem de los tres a 15 días, y de tres a 21días el neem artesanal.
- La disminución de consumo foliar fue mayor en las larvas ambos tratamientos con virus, disminuyen en promedio entre un 82.79-76.95% en todo su ciclo; las larvas del los tratamientos con neem fue de un 59.30-42.74% en relación con las larvas del testigo.
- El efecto del virus en las larvas de *S. frugiperda*, en disminuir el consumo foliar en hojas de maíz es mayor que el efecto anti alimentario que produce el neem en los primeros instares.

- Los valores obtenidos en el consumo foliar y la mortalidad producida en el virus crudo y formulado fueron similares. El neem artesanal produjo el mayor efecto anti alimentario, en comparación con el aceite de neem.

VIII. RECOMENDACIONES

- Aplicar el virus en el cultivo de maíz cuando la población de *S. frugiperda* se encuentre entre el primer y segundo instar que es cuando la plaga es más susceptible y el proceso de multiplicación del virus en las células es más rápido.
- Usar neem artesanal ya que esta mezcla es más efectiva, debido a diferencias en el contenido de azadiractina y de las otras moléculas asociadas a la misma, causando una mayor mortalidad y un efecto antialimentario mayor en los primeros instar larvales.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Alves, SB. 1986. Controle microbiano de insectos. Sao Paulo, Brasil. Editora Monole. 407 p.
- Baca, I. 1992. Determinación del área foliar consumida por *Spodoptera frugiperda* en los diferentes estadios larvales en hojas de maíz (*Zea mays*) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Lic. Biología. León, Nicaragua. 28p.
- Bustillo, AE. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles. Utilización de agentes microbiales. Tegucigalpa, Honduras. p. 215-216
- Cáceres, VA. 2002. Efecto del Ácido Bórico, Neem y Tinopal en la dieta de *Spodoptera frugiperda* sobre la tasa de infectividad por el Virus de la Poliedrosis nuclear. (en línea). Honduras. consultado el 20 de octubre del 2010. Disponible <http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis-infolib/2002/T1493.pdf/>
- Capataz, J; Orozco, F; Vergara, R; Hoyos, R. 2007. Efecto anti alimentario de los extractos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda* J.E Smith, en condiciones de laboratorio. (en línea) Colombia. Consultado el 20 de octubre 2010. Disponible en <http://dreadlyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfced.jsp?Cve=179914076006>
- Díaz B.; Garzo E.; Duque M.; González P.; Fereres A. 2002. Partículas de caolín: efecto sobre la mortalidad y desarrollo de *Trichoplusia ni* Hubner. (en línea) Santa Fe. Argentina. Consultado 14 de febrero 2012. Disponible en <http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/.../BSVP-28-02-177-183.pdf>
- Evans, HF; Enwistle, P. 1987. Viral diseases. *In* Epizootiology Of insect diseases. p. 257-315.

- East, D.A., J. V. Edelson & B. 1989. Cartwright, Relative cabbage consumption by the cabbage looper (Lepidoptera: noctuidae), Beet Armyworm (Lepidoptera: noctuidae), and Diamondback moth (Lepidoptera: plutellidae). J. Econ. Entomology. 82(5): 1367-1368
- FAO (Organización de las Naciones Unidas Para la agricultura y la alimentación).1997. Estudio FAO: Producción y Protección Vegetal. Resistencia de las plagas a los plaguicidas y Evaluación de las pérdidas agrícolas. Roma, Italia.6ed. p.37
- FAO (Organización de las Naciones Unidas Para la agricultura y la alimentación).2001.El Maíz en los Trópicos: Mejoramiento y producción. (en línea).Roma, Italia. Consultado el 15 de febrero del 2012. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s00.htm>
- Gonçalves, MA; Grützmacher, AD; João M; Härter, W; Bartz das, M.2006. Consumo Foliar e preferência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH,1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) por cultivares de milho e sorgo. (en línea) Brasil. Consultado 16 febrero 2012 Disponible en <http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v12n4/artigo06.pdf>
- Gutiérrez, S. C. 2010.Efecto del Neem (*Azadirachta indica*) (A. Juss) en el desarrollo biológico y el metabolismo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* (Smith))(lepidóptera-Noctuidae)en maíz.(en línea) Montecillo, Texcoco. México. Consultado el 15 de febrero del 2012. Disponible en http://www.biblio.colpos.mx:8080/.../Gutierrez_Garcia_SC_DC
- Gruber, A. K; Lopez, J. A.2004. Control biológico de insectos mediante extractos botánicos. In Carballo M et al. Control biológico de plagas agrícolas. Managua Nicaragua.p.137-159.

- INAFOR (Instituto Nacional Forestal).s. f. Maderas nicaragüenses: neem *Azadirachta indica* .Managua, Nicaragua. 8p.
- INTA (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria).1999. Cultivo de maíz. Guía Tecnológica N°4. Managua, Nicaragua. 21p.
- King A. and Saunders, J. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. 46p.
- Lecuona y Lobo de Souza. 1989. Virus Entomopatógenos. In Microorganismos patógenos empleados en el control Microbiano de insectos plagas. Ed Talleres Gráficos Mariano Mas. Argentina.p.73-86
- Lecuona, RE. 1996 .Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Buenos Aires, Argentina.338 p.
- Leyva, F; Baca, P. 1998. Plaguicidas botánicos un proceso de investigación entre técnicos y productores. VII Congreso Internacional de Manejo integrado de Plagas, VII Taller Latino Americano y del Caribe de Mosca Blanca y Geminivirus, XXXVIII Reunión anual de la sociedad Americana de Fitopatología División del Caribe(ASP-CD),(1998, Managua, Nicaragua) [Memoria]Managua, Nicaragua. p. 42
- Lobo de Souza, M, Lecuona, R.E.1996. Virus Entomopatógenos. In Lecuona, RE. Microorganismos patógenos usados en el control microbiano de insectos plagas. Buenos Aires, Argentina. p.73-87
- MAGFOR (Ministerio Agropecuario y Forestal). 2011. Informe Anual Sectorial 2011. (en línea). Managua, Nicaragua. Consultado 23Febrero 2012.Disponible en <http://WWW.magfor.gob.ni/>
- Marin R.1999. Manual de Agricultura Orgánica. León Nicaragua.p.84

- Meneses R.; Triana M. 2006. Determinación del nivel de daño de *Spodoptera frugiperda* en tres variedades de arroz.(en línea)Cali, Colombia. Consultado el 15 de febrero del 2012. Disponible en <http://www.magon.cu/websites/WebArroz/Publicaciones/PublicPP1.html>
- Narvaez, C. 2000. Evaluación de patogenicidad e infectividad de virus de la poliedrosis nuclear (VPN) en *Spodoptera frugiperda*: J. E. SMITH (Lepidoptera: noctuidae).Tesis M.Sc. UNAN- León, Nicaragua.
- Negrete F; Morales J. 2003.El gusano cogollero de Maíz (*Spodoptera frugiperda*). (en línea). Monteneria, Colombia. Consultado 20 octubre 2010. Disponible en <http://WWW.Agronet.gob.co/>
- Rizo, C.M; Narváez, C. 2001. Uso y producción de virus de la Poliedrosis nuclear en Nicaragua. Revista de Manejo Integrado de plagas, CATIE, Costa Rica. N°61:p.90-96
- Sosa-Gómez, D. R; Moscardi, F.1996. Utilización de virus en campo. In Lecuona. R.E. Microorganismos patógenos usados en el control microbiano de insectos plagas. Buenos Aires, Argentina.p.261-276
- Valicente, FH. 1988. Consumo foliar da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) infectada con virus de granulose ou de poliedrose nuclear. Anais da sociedade entomológica do Brasil. Separata, Brasil
- WIKIPEDIA.2012. *Zea mays*. (en linea). Consultado el 09 de mayo 2012.Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Zea_mays

ANEXOS

Anexo1. Resultados de correlación

Estadísticos descriptivos

	Media	Desviación típica	N
Consumo por Ciclo	53.4601	60.26500	450
Días vivo	8.07	7.785	450

Correlaciones

		Consumo por Ciclo	Días vivo
Consumo por Ciclo	Correlación de Pearson	1	.954(**)
	Sig. (bilateral)		.000
	N	450	450
Días vivo	Correlación de Pearson	.954(**)	1
	Sig. (bilateral)	.000	
	N	450	450

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

TESTIGO

Variables introducidas/eliminadas (b,c)

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Tiempo de vida(a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = Testigo

Resumen del modelo (b)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,832(a)	,692	,682	37,233563

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Tratamiento = Testigo

ANOVA (b,c)

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	90451,664	1	90451,664	65,245	,000(a)
	Residual	40203,809	29	1386,338		
	Total	130655,472	30			

Coefficientes(a,b)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	9,232	15,660		,590	,560
	Tiempo de vida	6,459	,800	,832	8,077	,000

a Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

b Tratamiento= Testigo

Aceite de neem**VARIABLES INTRODUCIDAS/ELIMINADAS (b,c)**

Modelo	VARIABLES INTRODUCIDAS	VARIABLES ELIMINADAS	Método
1	Tiempo de vida (a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = aceite de neem

Resumen del modelo (b)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,839(a)	,704	,690	39,964272

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Tratamiento = aceite de neem

ANOVA (b, c)

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	79721,321	1	79721,321	49,915	,000(a)
	Residual	33540,003	21	1597,143		
	Total	113261,324	22			

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = aceite de neem

Coefficientes(a,b)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	3,418	15,954		,214	,832
	Tiempo de vida	6,389	,904	,839	7,065	,000

a Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

b Tratamiento = aceite de neem

Virus formulado

Variables introducidas/eliminadas (b,c)

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Tiempo de vida (a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = virus formulado

Resumen del modelo(b)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,945(a)	,894	,881	8,652532

.a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Tratamiento = virus formulado

ANOVA(b,c)

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	5043,374	1	5043,374	67,365	,000(a)
	Residual	598,930	8	74,866		
	Total	5642,304	9			

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = virus formulado

Coefficientes(a,b)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	-5,250	5,911		-,888	,400
	Tiempo de vida	7,819	,953	,945		

a Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

b Tratamiento = virus formulado

Neem artesanal

Variables introducidas/eliminadas (b,c)

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Tiempo de vida (a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = neem artesanal

Resumen del modelo (b)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,967(a)	,935	,931	13,267833

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Tratamiento = neem artesanal

ANOVA (b, c)

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	40407,954	1	40407,954	229,544	,000(a)
	Residual	2816,566	16	176,035		
	Total	43224,520	17			

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = neem artesanal

Coefficientes(a, b)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	-10,710	5,898		-1,816	,088
	Tiempo de vida	7,372	,487	,967	15,151	,000

Virus crudo**Variables introducidas/eliminadas (b,c)**

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Tiempo de vida (a)	.	Introducir

a Todas las variables solicitadas introducidas

b Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

c Tratamiento = Virus Crudo

Resumen del modelo (b)

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,979(a)	,959	,948	2,997544

a Variables predictoras: (Constante), Tiempo de vida

b Tratamiento= Virus Crudo

ANOVA (b,c)

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	835,030	1	835,030	92,933	,001(a)
	Residual	35,941	4	8,985		
	Total	870,971	5			

Coefficientes(a,b)

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	-6,517	3,225		-2,021	,113
	Tiempo de vida	7,503	,778	,979	9,640	,001

a Variable dependiente: Consumo Medio por Ciclo

b Tratamiento = Virus Crudo

Anexo 2. Análisis de varianza a las 24 horas

Análisis de varianza univariante Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
instar larval	1,00	L1	150
	2,00	L2	150
	3,00	L3	149
Bioinsecticidas	1,00	Virus crudo	90
	2,00	Virus formulado	90
	3,00	Aceite de neem	90
	4,00	Neem artesanal	89
	5,00	Testigo	90

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

instar larval	Bioinsecticidas	Media	Desv. típ.	N
L1	Virus crudo	,0827	,08606	30
	Virus formulado	,3020	,18261	30
	Aceite de neem	,7270	,51203	30
	Neem artesanal	,5370	,58098	30
	Testigo	,8297	,98585	30
	Total		,4957	,62393
L2	Virus crudo	2,3887	1,68351	30
	Virus formulado	2,3033	1,53670	30
	Aceite de neem	3,7100	1,80114	30
	Neem artesanal	1,9867	1,14211	30
	Testigo	3,7857	1,64997	30
	Total		2,8349	1,73333
L3	Virus crudo	5,1627	2,73075	30
	Virus formulado	5,4587	3,60866	30
	Aceite de neem	5,6563	3,54930	30
	Neem artesanal	5,2531	3,64737	29
	Testigo	6,4727	3,33077	30
	Total		5,6030	3,37540
Total	Virus crudo	2,5447	2,77802	90
	Virus formulado	2,6880	3,09517	90
	Aceite de neem	3,3644	3,06641	90
	Neem artesanal	2,5624	2,94471	89
	Testigo	3,6960	3,19212	90
	Total		2,9720	3,04210

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error(a)

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

F	gl1	gl2	Significación
42,149	14	434	,000

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	2084,214(a)	14	148,872	31,338	,000
Intersección	3979,188	1	3979,188	837,627	,000
Instar larval	1952,055	2	976,027	205,456	,000
Bioinsecticidas	97,546	4	24,387	5,133	,000
Instar larval * Bioinsecticidas	32,563	8	4,070	,857	,553
Error	2061,737	434	4,751		
Total	8111,883	449			
Total corregida	4145,951	448			

a R cuadrado = ,503 (R cuadrado corregida = ,487)

1. instar larval

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

instar larval	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
L1	,496	,178	,146	,845
L2	2,835	,178	2,485	3,185
L3	5,601	,179	5,250	5,952

2. Bioinsecticidas

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

Bioinsecticidas	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
Virus crudo	2,545	,230	2,093	2,996
Virus formulado	2,688	,230	2,236	3,140
Aceite de neem	3,364	,230	2,913	3,816
Neem artesanal	2,592	,231	2,138	3,046
Testigo	3,696	,230	3,244	4,148

3. Bioinsecticidas * instar larval

Variable dependiente: Consumo a 24 horas

Bioinsecticidas	instar larval	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
Virus crudo	L1	,083	,398	-,699	,865
	L2	2,389	,398	1,607	3,171
	L3	5,163	,398	4,381	5,945
Virus formulado	L1	,302	,398	-,480	1,084
	L2	2,303	,398	1,521	3,085
	L3	5,459	,398	4,677	6,241
Aceite de neem	L1	,727	,398	-,055	1,509
	L2	3,710	,398	2,928	4,492
	L3	5,656	,398	4,874	6,438
Neem artesanal	L1	,537	,398	-,245	1,319
	L2	1,987	,398	1,205	2,769
	L3	5,253	,405	4,458	6,049
Testigo	L1	,830	,398	,048	1,612
	L2	3,786	,398	3,004	4,568
	L3	6,473	,398	5,691	7,255

Pruebas post hoc

Instar larval

Subconjuntos homogéneos

Consumo a 24 horas

Duncan

instar larval	N	Subconjunto		
		2	3	1
L1	150	,4957		
L2	150		2,8349	
L3	149			5,6030
Significación		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Bioinsecticidas

Subconjuntos homogéneos

Consumo a 24 horas

Duncan

Bioinsecticidas	N	Subconjunto	
		2	1
Virus crudo	90	2,5447	
Neem artesanal	89	2,5624	
Virus formulado	90	2,6880	
Aceite de neem	90		3,3644
Testigo	90		3,6960
Significación		,681	,309

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Pruebas post hoc

Subconjuntos homogéneos
Consumo a 24 horas

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
L1+Virus Crudo	30	.0827				
L1+Virus Formulado	30	.3020				
L1+Neem Artesanal	30	.5370				
L1+Aceite de neem	30	.7270				
L1+Testigo	30	.8297				
L2+ Neem Artesanal	30		1.9867			
L2+ Virus Formulado	30		2.3033			
L2+ Virus Crudo	30		2.3887			
L2+ Aceite de neem	30			3.7100		
L2+Testigo	30			3.7857		
L3+ Virus Crudo	30				5.1627	
L3+ Neem Artesanal	29				5.2531	
L3+ Virus Formulado	30				5.4587	5.4587
L3+ Aceite de neem	30				5.6563	5.6563
L3+Testigo	30					6.4727
Sig.		.245	.506	.893	.432	.089

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 29.931.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Anexo 3. Análisis de Varianza del Consumo total

Análisis de varianza univariante
Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
Bioinsecticidas	1.00	Virus crudo	90
	2.00	Virus formulado	90
	3.00	Aceite de neem	90
	4.00	Neem artesanal	90
	5.00	Testigo	90
Instar larval	1.00	L1	150
	2.00	L2	150
	3.00	L3	150

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Consumo total

Bioinsecticidas	Instar larval	Media	Desv. típ.	N
Virus crudo	L1	.1013	.11292	30
	L2	20.7127	3.13279	30
	L3	27.6987	6.22438	30
	Total	16.1709	12.43454	90
Virus formulado	L1	.3070	.17823	30
	L2	20.6370	3.17897	30
	L3	40.5587	15.63768	30
	Total	20.5009	18.86956	90
Aceite de neem	L1	48.4060	83.73397	30
	L2	66.8250	57.47004	30
	L3	72.5497	22.22089	30
	Total	62.5936	60.24109	90
Neem artesanal	L1	8.0370	41.40554	30
	L2	32.2957	12.62570	30
	L3	70.5557	25.94598	30
	Total	36.9628	38.72585	90
Testigo	L1	175.0690	50.76460	30
	L2	143.9090	54.62440	30
	L3	74.2393	19.10256	30
	Total	131.0724	61.05457	90
Total	L1	46.3841	81.79083	150
	L2	56.8759	58.76137	150
	L3	57.1204	26.94588	150
	Total	53.4601	60.26500	450

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error(a)

Variable dependiente: Consumo total

F	gl1	gl2	Significación
28.629	14	435	.000

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Consumo total

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	1062773.671(a)	14	75912.405	58.144	.000
Intersección	1286092.566	1	1286092.566	985.059	.000
bioinsecticidas	797044.727	4	199261.182	152.620	.000
Instar Larval	11270.326	2	5635.163	4.316	.014
bioinsecticidas * Instar Larval	254458.618	8	31807.327	24.362	.000
Error	567935.822	435	1305.600		
Total	2916802.059	450			
Total corregida	1630709.493	449			

a R cuadrado = .652 (R cuadrado corregida = .641)

1. Tratamiento

Variable dependiente: Consumo total

Bioinsecticidas	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
Virus crudo	16.171	3.809	8.685	23.657
Virus formulado	20.501	3.809	13.015	27.987
Aceite de neem	62.594	3.809	55.108	70.079
Neem artesanal	36.963	3.809	29.477	44.449
Testigo	131.072	3.809	123.587	138.558

2. Instar Larval

Variable dependiente: Consumo total

instar larval	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
L1	46.384	2.950	40.586	52.183
L2	56.876	2.950	51.077	62.674
L3	57.120	2.950	51.322	62.919

3. Bioinsecticidas * instar larval

Variable dependiente: Consumo total

tratamiento	instar larval	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
Virus crudo	L1	.101	6.597	-12.865	13.067
	L2	20.713	6.597	7.747	33.679
	L3	27.699	6.597	14.733	40.665
Virus formulado	L1	.307	6.597	-12.659	13.273
	L2	20.637	6.597	7.671	33.603
	L3	40.559	6.597	27.593	53.525
Aceite de neem	L1	48.406	6.597	35.440	61.372
	L2	66.825	6.597	53.859	79.791
	L3	72.550	6.597	59.584	85.516
Neem artesanal	L1	8.037	6.597	-4.929	21.003
	L2	32.296	6.597	19.330	45.262
	L3	70.556	6.597	57.590	83.522
Testigo	L1	175.069	6.597	162.103	188.035
	L2	143.909	6.597	130.943	156.875
	L3	74.239	6.597	61.273	87.205

Pruebas post hoc

Tratamiento

Subconjuntos homogéneos

Consumo total

Duncan

tratamiento	N	Subconjunto			
		2	3	4	1
Virus crudo	90	16.1709			
Virus formulado	90	20.5009			
Neem artesanal	90		36.9628		
Aceite de neem	90			62.5936	
Testigo	90				131.0724
Significación		.422	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

El término error es la Media cuadrática (Error) = 1305.600.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90.000

b Alfa = .05.

**Subconjuntos homogéneos
Consumo total**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	1	
L1+Virus Crudo	30	.1013								
L1+Virus Formulado	30	.3070								
L1+Neem Artesanal	30	8.0370	8.0370							
L2+Virus Formulado	30		20.6370	20.6370						
L2+ Virus Crudo	30		20.7127	20.7127						
L3+ Virus Crudo	30		27.6987	27.6987						
L2+ Neem Artesanal	30			32.2957	32.2957					
L3+Virus Formulado	30			40.5587	40.5587					
L1+Aceite de neem	30				48.4060					
L2+Aceite de neem	30					66.8250				
L3+ Neem Artesanal	30					70.5557				
L3+Aceite de neem	30					72.5497				
L3+Testigo	30					74.2393				
L2+Testigo	30						143.9090			
L1+Testigo	30								175.0690	
Sig.		.427	.054	.056	.104	.477	1.000			1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30.000.

**Instar larval
Subconjuntos homogéneos
Consumo total**

Duncan

instar larval	N	Subconjunto	
		2	1
L1	150	46.3841	
L2	150		56.8759
L3	150		57.1204
Significación		1.000	.953

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

El término error es la Media cuadrática (Error) = 1305.600.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 150.000

b Alfa = .05.

Anexo 5. Fotos del Bioensayo

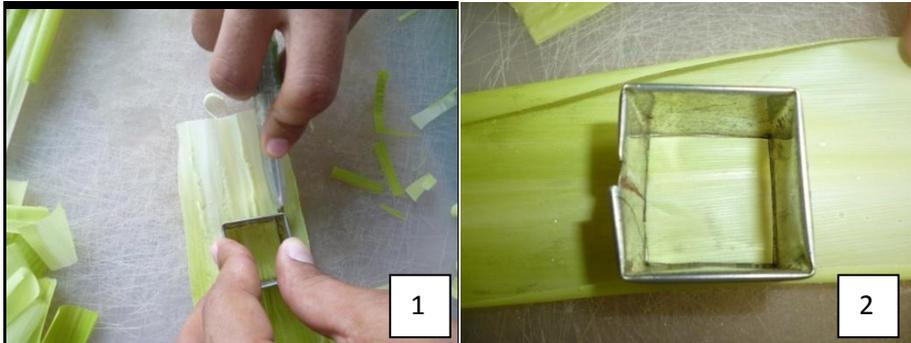


Foto 1 y 2. Corte de las hojas de maíz realizadas con bisturí y un molde metálico de 3x3cm. Laboratorio de Control Biológico UNAN-León. 2011.



Foto 3. Preparación de material para el Bioensayo. Laboratorio de Control Biológico de la UNAN-León. 2011.



Foto 4 y 5. Introducción por inmersión de los trozos de hoja en la solución de virus y neem. Laboratorio de Control Biológico de la UNAN-León. 2011.

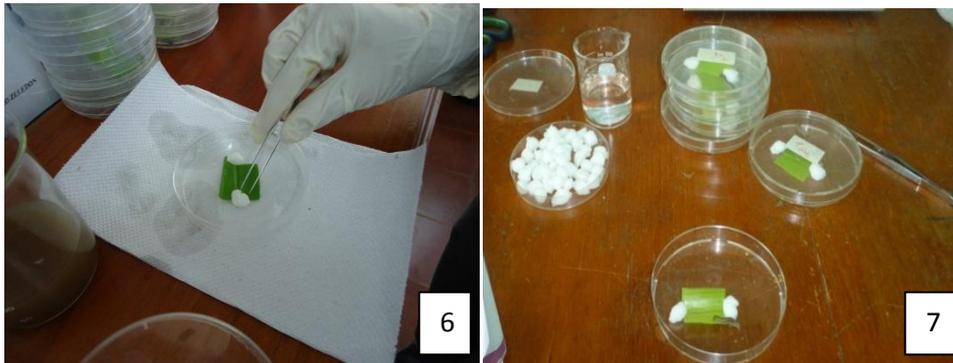


Foto 6 y 7. Montaje de los bioensayos en el Laboratorio de Control Biológico de la UNAN-León. 2011.

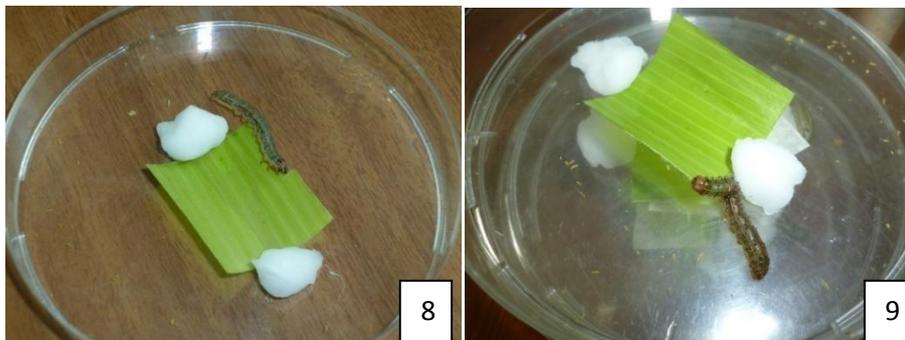


Foto 8 y 9. Larvas de *Spodoptera frugiperda* del tercer instar, alimentándose de hojas de maíz. Laboratorio de Control biológico de la UNAN-León. 2011.