

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA UNAN, LEÓN  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIAS  
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA



"Eficacia de extractos botánicos de neem (*Azadirachta indica*), eucalipto (*Eucalyptus* spp.) y chile (*Capsicum annuum*) para el manejo de *Spodoptera frugiperda*, en condición de laboratorio del Campus Agropecuario, UNAN, León, en el periodo de julio a noviembre del 2020.

Trabajo presentado como requisito previo para optar al título de

Ingeniero en Agroecología Tropical

Autor:

Br. Marvin Antonio Gámez

Tutor:

Ing. Pedro Fernando Silva Illescas

León, Nicaragua, 2021

“A la libertad por la universidad”

## **DEDICATORIA**

Esta tesis se la dedico primeramente a Dios por haberme permitido culminar con mis estudios universitarios sin inconvenientes, además de superar las adversidades que se presentaron.

A mi familia quienes me han apoyado incondicionalmente en mi desarrollo hasta llegar a lo que soy hoy, en especial a mi madre por haber luchado para sacarnos adelante a pesar de la distancia y enfermedades que se le presentaron. Además de siempre brindarme su apoyo, cariño y ayuda en los momentos más difíciles que me han ayudado a forjar mi carácter como persona.

Gracias también a mis amigos y compañeros que a lo largo de estos años se han convertido en parte de mi familia, compartiendo innumerables vivencias y aventuras que siempre recordare

## AGRADECIMIENTOS

**A mis padres**, María Félix González y Denis Alberto Aguilar, por haber luchado día tras días en el mundo a pesar de las distancias y padecimiento para darme la oportunidad de culminar mis estudios y alcanzar el título de ingeniería.

**A la Sra.** Susana Sacasa que durante toda mi vida a fungido como una segunda madre, acompañándome desde mi educación primaria hasta la culminación de mis estudios universitarios colmándome de su amor, aprecio y apoyo, a pesar de las limitaciones que su edad pudiera presentarle.

**A la Sra.** Aminta Elena Granera por haberme apoyado durante todas las etapas de mi vida, tanto en mi crecimiento profesional como personal, además de siempre brindarme su apoyo incondicional a pesar de su apretado horario.

**A mi hermano** Marcio Stherling Vallejos por haber sido uno de mis mayores apoyos durante todos mis años de estudio en la universidad e inspirarme a seguir adelante.

**A mi novia** Tamara Chavarria por haberme apoyado en todos los aspectos del desarrollo de esta tesis, además de siempre brindarme su cariño y amor incondicional para mi desarrollo profesional.

**A mis amigos y compañeros** Evert Salgado, Bianka Zapata y María Espino por haberme dado momentos inolvidables en la universidad además de su apoyo incondicional durante todos estos años.

**A mi tutor Msc.** Pedro Silva por darme las herramientas para poder culminar este trabajo investigativo, además de brindarme su tiempo y amistad para el desarrollo del mismo durante todo este tiempo.

**Al Msc.** Luis Medina Gómez por haberme apoyado incondicionalmente en toda la logística y montaje del trabajo de investigación, además de brindarme consejos y sugerencias para la mejora del mismo.

**A la Lic.** Violeta Bravo por su incondicional apoyo en mi desarrollo como persona, donde más que una docente, se convirtió en una amiga más a lo largo de estos años.

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
Indice de tablas .....	v
Indice de figuras.....	vi
RESUMEN .....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS .....	2
III. HIPÓTESIS .....	3
IV. MARCO TEÓRICO.....	4
4.1. Generalidades del gusano cogollero ( <i>Spodoptera frugiperda</i> ) .....	4
4.2. Clasificación taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> según Morales .....	4
4.3. Ciclo de vida, hábitos y comportamiento <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	5
4.4. Hábitos alimenticios de las larvas de <i>S. frugiperda</i> .....	6
4.5. Medio de control.....	7
4.5.1. Control natural.....	7
4.5.2. Control químico .....	7
4.5.3. Control biológico .....	7
4.6. Especies arbóreas usadas en el control.....	8
4.6.1. Generalidades del neem .....	8
4.6.2. Neem y Azadiractina en el control de insectos.....	9
4.6.3. Efectos sobre la Alimentación .....	10
4.6.4. Efectos sobre la fisiología .....	10
4.7. Generalidad del Eucalipto .....	11
4.7.1. Eucalipto en el control de insectos.....	12
4.7.2. Naturaleza y composición de los aceites esenciales de eucalipto .....	12
4.8. Generalidad del chile.....	13
4.8.1. Chile en el control biológico .....	13
4.8.2. Actividad plaguicida.....	14
4.9. Fago disuasión y repelencia .....	14
4.10. Conceptos de concentración letal 50 .....	15

4.10.1.	Por qué se estudia el CL50.....	16
4.10.2.	Términos de concentración de toxicidad de uso común .....	16
V.	MATERIALES Y MÉTODO.....	17
5.1.	Descripción del área de estudio .....	17
5.2.	Materiales utilizados .....	17
5.3.	Diseño experimental.....	17
5.4.	Esquema del diseño experimental.....	18
5.5.	Definición de los tratamientos.....	18
5.6.	Definición de la variable y su medición.....	18
5.7.	Métodos específicos con respecto a las variables:.....	19
5.8.	Establecimiento del ensayo .....	20
5.9.	Origen de muestras .....	21
5.10.	Obtención de extractos .....	21
5.11.	Bioensayos de los tres extractos.....	22
5.12.	Análisis de los resultados.....	22
VI.	Resultados y discusión.....	24
VII.	Conclusión.....	37
VIII.	Recomendaciones.....	38
IX.	Bibliografía.....	39
X.	anexos.....	45

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> clasificación taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	4
<b>Tabla 2</b> esquema del diseño experimental .....	18
<b>Tabla 3</b> Determinación del modelo para la variable repelencia, según el criterio de información de Akaike (AICc) y el peso de Akaike para los factores de planta, repelencia y concentración.....	25
<b>Tabla 4</b> Resumen del Modelo Lineal Generalizado de la variable repelencia, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> por los factores de planta y concentración con una confiabilidad del 95%.....	25
<b>Tabla 5</b> Determinación del modelo para la variable eficacia, según el criterio de Información de Akaike (AICc) y el peso de Akaike para los factores de concentración, planta y bloque.....	28
<b>Tabla 6</b> Resumen del Modelo Lineal Generalizado para la variable eficacia, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> por los factores de planta, concentración y bloque con una confiabilidad del 95%.....	28
<b>Tabla 7</b> Resumen del Modelo Lineal Generalizado para la probabilidad de no empupar, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> por los factores de planta y concentración con una confiabilidad del 95%.....	30
<b>Tabla 8</b> Resumen de los resultados para la concentración letal 50 (CI50) para los extractos acuosos de neem, eucalipto y chile para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> con una confiabilidad del 95%. .....	32

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Repelencia de los extractos acuosos (%). 2a) según plantas y 2b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras. ....	25
<b>Figura 2</b> Índice de repelencia para los extractos acuosos de neem, eucalipto y chile para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i> , las letras c, eu, nm hacen referencia a chile, eucalipto y neem respectivamente, mientras que los valores 20, 40, 60, 80 hace referencia a los valores de 200, 400, 600 y 800 g/L. ....	26
<b>Figura 3</b> Eficacia de extractos acuosos (%). 1a) según planta, 1b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar de las muestras. ....	29
<b>Figura 4</b> Probabilidad de que no ocurra la etapa de pupa para los extractos acuosos (%). 3a) según plantas y 3b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras. ....	31
<b>Figura 5</b> Probabilidad de muerte para los extractos de acuosos, según concentración (g/L) 4a, 4c, 4e y días después de establecido 4b, 4d, 4f . Zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras. ....	33
<b>Figura 6</b> Tiempo letal medio según la concentración, para cada uno de los extractos (chile, neem y eucalipto). ....	36

## RESUMEN

*Spodoptera frugiperda* es una de las principales plagas del cultivo de maíz y requiere alternativas agroecológicas para su manejo, tales como *Azadirachta indica*, *Eucalyptus* spp. y *Capsicum annuum*, que se utilizan en la elaboración de preparaciones botánicas. El objetivo de este ensayo fue estudiar la eficacia, repelencia y concentración letal media, para cuatro concentraciones (200, 400, 600, 800 g/L) en el control de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio. La información se analizó mediante un modelo lineal generalizado y la prueba de Akaike para estimar cuál modelo predecía mejor las variables. Durante el estudio el neem fue el que presentó la mayor repelencia (59%), mientras que chile fue el que presentó un valor más alto de eficacia (70%), situándose el eucalipto en un punto medio en la mayoría de las pruebas. Para la concentración letal media (CL50) (g/L) el chile se alcanzó a los 116, 177 para el eucalipto y el neem con 268. De igual manera la probabilidad de muerte aumenta en concentraciones más altas, lo que se refleja en el tiempo letal medio (TL50) donde se puede observar que es inversamente proporcional a las concentraciones probadas, siendo de 6, 7, 8 días para chile, eucalipto y neem respectivamente. A pesar de que presentan una eficacia aceptable, no se recomienda utilizar los extractos alternativa única de manejo o sustituyente de estas, además de no aplicar el mismo ingrediente activo antes de abarcar 3 productos de distinta categoría de acción según el comité de acción insecticida (IRAC).

## I. INTRODUCCIÓN

El gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) (Lep.;Noctuidae) es una de las principales plagas recurrentes en cada uno de los ciclos de cultivo de muchas gramíneas de importancia económica donde se destaca el maíz, siempre siendo controlado mediante aplicaciones de productos químicos en dosis altas que a largo plazo han creado una resistencia a los productos químicos debido a su nula variación (Isman, 2015).

En Nicaragua el principal método de control utilizado son los pesticidas sintéticos, esto debido a que, en el país, durante el siglo pasado se experimentó una expansión masiva en las aplicaciones química, con la implementación de una amplia gama de pesticidas de alta toxicidad residual ( Smith & Gangolli, 2002). Por lo tanto, la búsqueda de plaguicidas ecológicos y biodegradables para el manejo de insectos ha sido estimulada como esencial en las últimas cinco décadas (Sengottayan, 2013).

Debido a esto se dedican recursos para encontrar alternativas, generando estudios como el realizado por Sengottayan (2013) donde se describen los efectos de diversos metabolitos secundarios de neem (*Azadirachta indica* ) (Meliácea) y otras plantas de la misma familia en insectos del orden Lepidoptera , incluyendo Noctuidae y Pyralidae donde un total de 23 especies fueron sometidas al estudio, se obtuvieron resultados prometedores en la mayoría de los casos induciendo la muerte o daños fisiológicos en sus procesos metabólicos. A la par han surgido estudios mediante la utilización de árboles aromáticos como eucalipto (Brooker & Kleinig, 2006) y de rápido acceso como el chile en conjunto con ajo u opciones herbales (Koleva *et al.*, 2013).

Aunque desde hace algunos años se ha venido desarrollando una cultura de uso responsable de pesticidas o utilización de pesticidas de origen orgánico, su crecimiento en el mercado no se presenta de manera lo suficientemente rápida como para poder competir con productos de formulación sintética de las empresas multinacionales (Isman, 2015).

Es por esto que se da la necesidad de realizar pruebas con diferentes plantas e ingredientes activos para el control de estas plagas, lo que le permita ejercer prácticas que ahorren costos en productos además de ofrecer beneficios como menor capacidad adaptativa por la variación de los mecanismos de acción(Cuttler & Schmutteres, 1999).

## **II. OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Determinar la eficacia de los extractos botánicos de eucalipto (*Eucalyptus* spp.), neem (*Azadirachta indica*) y chile (*Capsicum annuum*) para el manejo de *Spodoptera frugiperda*, en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, bajo las condiciones de laboratorio en el año 2020.

### **Objetivos específicos**

- Determinar si los diferentes extractos presentan efecto de repelencia o fago disuasión en las larvas del estudio.
- Determinar la Concentración Letal 50 (CL50) de tres insecticidas de origen botánicos.
- Determinar el tiempo letal 50 (TL50) de tres insecticidas botánicos.

### III. HIPÓTESIS

**HI:** Los agentes botánicos presentan una alternativa viable para el control de *Spodoptera frugiperda* siendo el neem el más prominente por su capacidad de interferir en los procesos metabólicos.

**HO:** Ninguno de los tratamientos tendrá diferencias significativas para el manejo de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en los estados larvales con respecto a la mortalidad ni repelencia.

**HA:** Al menos uno de los tratamientos tendrá diferencias significativas para el manejo de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en los estados larvales con respecto a la mortalidad y repelencia.

#### IV. MARCO TEÓRICO

##### 4.1. Generalidades del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

*Spodoptera frugiperda* conocida comúnmente como “cogollero del maíz” (derivado de su forma de daño más conocida) es la plaga del maíz (*Zea mays* Linnaeus) (Poaceae) más importante, ya que ocasiona cuantiosas pérdidas; esta característica, junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones permite que su distribución geográfica sea amplia afectando a una gran cantidad de zonas en diferentes países. Cuando *S. frugiperda* afecta las plantas jóvenes, los daños pueden ser totales, mientras que, si afecta las plantas en estados fenológicos avanzados, pueden reponerse de la defoliación llegando a una producción normal (Casmuz *et al.*, 2010).

##### 4.2. Clasificación taxonómica de *Spodoptera frugiperda* según Morales (2003)

**Tabla 1** clasificación taxonómica de *Spodoptera frugiperda*

Clasificación	
Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Lepidoptera
Suborden:	Glossata
Infraorden:	Heteroneura
Familia:	Noctuidae
Subfamilia:	Amphiryrinae
Género:	<i>Spodoptera</i>
Especie:	<i>S. frugiperda</i>

#### **4.3. Ciclo de vida, hábitos y comportamiento *Spodoptera frugiperda***

Cada hembra oviposita un promedio de  $1,044 \pm 391.8$  huevos a lo largo de su vida, agrupados en masas que promedian los 100 a 150 huevos cada una. Las posturas están cubiertas por hilos de seda y escamas de coloración grisácea. Los huevos son esféricos, blanquecinos, estriados, de 0.5 mm de diámetro. Los lugares en donde estos huevos son depositados no siempre corresponden a la planta que va a servir de alimento para las larvas, ya que cuando ocurren grandes explosiones poblacionales, pueden ser hallados en lugares tan diversos como postes de luz, paredes, alambrados, etc. (Murua & Virla, 2004). Cuando se los encuentra en los cultivos como el maíz, independientemente de su estado fenológico, son colocados sobre las hojas, en la parte media de la planta, preferentemente en el envés y/o en la zona basal de las mismas (Valverde *et al.*, 1995).

Luego de emergidas, las larvas permanecen agrupadas en la parte baja de las plantas, refugiadas entre las hojas. El primer alimento de las mismas es el corion de los huevos, después de lo cual, si el hospedero no es el adecuado, migran a través de un hilo de seda en busca de alimento. Las más jóvenes comen durante el día mientras que en los últimos estadios son más activas de noche. El período larval dura un promedio de 25 días, pasando generalmente por seis estadios (Murua & Virla, 2004).

Para completar su desarrollo, las larvas consumen un promedio total de 179.7 cm<sup>2</sup> de superficie foliar de hojas de maíz y dejan de alimentarse justo antes de alcanzar el último estadio larval (VI) (Rezende & Cruz, 1994). Éstas pasan inadvertidas hasta que alcanzan 20 a 25 mm, cuando son detectadas por sus daños, expresados en hojas que ya están perforadas al momento de desplegarse. Para pupar, se entierran en el suelo, entre 3 y 5 cm de profundidad, donde forman una cámara pupal, en la cual permanecen por 10 días aproximadamente, para posteriormente emerger como adultos. Los imagos copulan y pueden oviponer en el mismo cultivo. El ciclo completo dura aproximadamente entre 35 y 40 días y depende de la temperatura y humedad (Rezende & Cruz, 1994).

#### **4.4. Hábitos alimenticios de las larvas de *S. frugiperda***

El Maíz es afectado en todos sus estados fenológicos, sin embargo, existe una marcada preferencia de las larvas por las plantas más jóvenes. Murúa *et al.* (2006) determinaron que para un mismo lugar y para una misma fecha de evaluación, cultivos con plantas de 14 hojas presentaban un 2% de sus plantas atacadas, mientras que las plantas de ocho o menos hojas tenían un 96% de ataque.

Los hospederos de *S. frugiperda* pueden presentar dos tipos de daño: corta la planta cerca del suelo, ésta puede volver a crecer, pero con un retraso en relación a otras; o la defolia parcial o totalmente. A medida que el cultivo va creciendo (de seis hojas en adelante), el daño se circunscribe al cogollo. Las larvas recién nacidas se alimentan de un lado de la hoja, dejando la capa de epidermis del lado opuesto intacta. A partir del segundo o tercer estadio larval, comienzan a perforar las hojas (Casmuz *et al.*, 2010).

Cuando se alimentan en el punto de crecimiento (cogollo), producen un tipo de daño característico que consiste en una fila de perforaciones. Las larvas más grandes causan una intensa defoliación y a menudo dejan solamente las nervaduras y los tallos. Además, comienzan a alimentarse del cogollo destruyendo el potencial de crecimiento de la planta, quiebran las hojas y las plantas pierden su parte distal, reduciéndose así su capacidad fotosintética (Capinera, 1999).

En la última parte de la floración y fecundación del cultivo, la larva puede causar daños a la panoja que se desarrolla dentro de la hoja bandera, pero su importancia es muy relativa. Una vez emergida la panoja, la larva ya no puede alimentarse del cogollo, recurre entonces a las espigas en desarrollo o a las hojas. El daño provocado en los estigmas reduce la polinización y produce una disminución de granos por espiga. Las larvas también se alimentan de los granos, causando pérdidas directas en la mazorca (Bentancourt & Scatoni, 2006).

## **4.5. Medio de control**

### **4.5.1. Control natural**

El principal controlador natural del gusano cogollero son las precipitaciones. Las lluvias generalmente reducen las poblaciones de *S. frugiperda* al llenar de agua la cavidad del cogollo de la planta ahogando a la larva. Cuando se pronostica lluvia, no es necesario aplicar insecticidas en poblaciones bajas de la plaga (ZAMORANO *et al.*, 1996).

### **4.5.2. Control químico**

En Nicaragua el control químico es uno de los más utilizados, siendo un ejemplo de los productos comercializados en Nicaragua el Lorsban® (clorpirifós etil), un organofosforado, que actúa por contacto, ingestión e inhalación. El clorpirifós, aunque moderadamente tóxico tiene efectos neurológicos, trastornos del desarrollo y autoinmunes en exposiciones crónicas (Channing & Varnell, 2011)

### **4.5.3. Control biológico**

#### **Hongos:**

*Beauveria bassiana*: Entre los bioplaguicidas conocidos, los hongos entomopatógenos tienen la particularidad de penetrar al hospedante a través de sus células epicuticulares, las esporas se adhieren e hidratan, posteriormente germinan y penetran la cutícula del insecto. Una vez dentro del insecto, las hifas crecen destruyendo las estructuras internas, además de generar beauvericina y otras toxinas como beauverolides, isarolides y ácido oxálico que destruye el sistema inmune del hospedero (Tellez *et al.*, 2009). Si se presentan condiciones ideales, pueden emerger esporas desde el cadáver para ser propagadas de nuevo. *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) es uno de los hongos más utilizados en el control biológico (Nicolás *et al.*, 2011).

#### **Bacterias:**

*Bacillus thuringiensis*: Entre sus rasgos más característicos está la formación de esporas y la producción de una proteína cristalina, conocida como d-endotoxina o

cristal parasporal, entre otros nombres que se le han dado y a la cual se ha atribuido la actividad insecticida de esta bacteria. Una vez ingeridas, estas son procesadas por enzimas del hospederos generando una toxina activa, esta penetra a través del intestino medio adhiriéndose a la membrana celular generando poros lo que desemboca en un desequilibrio osmótico que conlleva a la rotura celular, posteriormente causando una septicemia (Rosas, 2014).

## **Virus**

VPN (virus de la polihedrosis nuclear): Los virus contaminan a los insectos por vía oral. Normalmente, éstos son ingeridos con los alimentos presentes en los tallos y hojas. La contaminación a través de los huevos de los insectos es posible vía interna por contaminación del corium la cual es más frecuente. La contaminación de larvas recién nacidas es facilitada por el hábito de comer el corium de los huevos (Alves, 1986.).

### **4.5.4 Control cultural**

Dentro del manejo agronómico las prácticas culturales como la remoción de plantas huéspedes, la rotación de cultivos y una fertilización adecuada, entre otras como la aplicación de agua azucarada y la práctica de arenillado son sumamente importantes ya que esto nos permite tener plantas más vigorosas y puede ayudar a disminuir la incidencia de esta plaga

## **4.6. Especies arbóreas usadas en el control**

### **4.6.1. Generalidades del neem**

El neem, (*Azadirachta indica*), y el neem chino, (*Melia azedarach*) (Meliaceae) de la familia Meliaceae son árboles nativos de Asia y Australia meridional, con propiedades insecticidas importantes. Ambas especies se han

usado principalmente con fines ornamentales y se han naturalizado en países tropicales y subtropicales (Villalobos , 1996)

El árbol de neem es un árbol perenne con hojas que pueden alcanzar hasta 30 m de altura, con ramas extendidas que cubren alrededor de 10 m de ancho. Las flores y frutos nacen en racimos axilares y cuando están maduras las drupas elipsoidales lisas son de color amarillo verdoso y comprenden una pulpa dulce que encierra una semilla (Mordue & Nisbet, 1995).

La semilla consiste en una concha y 1-3 granos que contienen azadiractina y sus homólogos. Tanto la corteza y las hojas también contienen moléculas biológicamente activas, pero no altos niveles de azadiractina que se encuentran principalmente en los granos de semillas (Mordue & Nisbet, 1995).

La azadiractina, es un complejo de limonoides tetranortri-terpenoide de las semillas de neem, es el componente principal responsable tanto de efectos de reducción alimentaria y efectos tóxicos como la paralización metabólica en los insectos. Otros limonoides y compuesto son repelentes, antisépticos, anticonceptivos, antipiréticos y otras propiedades antiparasitarias se encuentran en el árbol, por ejemplo, hojas, flores, corteza, raíces en otro lugar que contiene azufre (Mordue & Nisbet, 1995).

#### **4.6.2. Neem y Azadiractina en el control de insectos**

La complejidad de la estructura molecular de azadiractina impidió su síntesis para el uso de pesticidas. Extractos de semillas de neem que contienen azadiractina junto con varias moléculas estructuralmente relacionadas han formado la base del uso de neem en el control de insectos (Isman, 2015), hasta hace poco estos problemas habían significado que los insecticidas de neem no habían generado gran impacto en el mercado. Los tiempos, sin embargo, también pueden estar cambiando. Pesticidas neem también pueden tener un papel útil que desempeñar en la gestión de la resistencia. Se ha demostrado que los efectos de neem en la reducción de los niveles de enzimas de desintoxicación (debido a su bloqueo de la

síntesis de proteínas) pueden hacer que los insecticidas más eficaces en cepas resistentes de insectos (Mordue & Nisbet, 1995)

Insecticidas de neem son eficaces principalmente como reguladores de crecimiento, generadores de esterilidad reduciendo la cantidad de individuos y en algunos casos como repelentes, contra un amplio espectro de insectos. Extractos de neem crudo se han utilizado en un nivel de pequeña granja local durante algún tiempo en los países donde neem crece autóctono o donde se han establecido plantaciones (Mordue & Nisbet, 1995).

#### **4.6.3. Efectos sobre la Alimentación**

Los insectos de diferentes órdenes difieren notablemente en sus respuestas de comportamiento a la azadiractina. Los insectos del orden Lepidoptera son extremadamente sensibles a la azadiractina y muestran reducciones alimenticias considerables dependiendo de las especies. El caso de los Coleoptera y Hemiptera son sensibles a la azadiractina conductualmente con hasta el 100% de reducción de alimentación, esto logrado a 100-600 ppm, aunque hay algunas especies de áfidos que también muestran sensibilidad conductual por ejemplo el pulgón de la fresa (Simmonds & Blaney, 1990).

*Spodoptera littoralis* Hubner (rosquilla negra de África), *S. frugiperda* y *Helicoverpa armigera* Hubner (Lep. Noctuidae) (antiguo gusano mundo) también responden de manera rápida a bajas concentraciones de azadiractina y son reducidos sus índices de alimentación en las muestras impregnadas con el compuesto a concentraciones de 0.1-10 ppm en dependencia de la especie (Simmonds & Blaney, 1990).

#### **4.6.4. Efectos sobre la fisiología**

Los efectos fisiológicos de la azadiractina son mucho más consistentes que los efectos anti alimentarios, y el resultado de la interferencia con el crecimiento y

la muda, la interferencia con la reproducción y la interferencia con los procesos celulares (Mordue & Nisbet, 1995).

En todas las especies estudiadas la dosis y efectos de respuesta pueden ser vistos como la reducción del crecimiento, aumento de la mortalidad, mudas anormales y retardos de mudas. Estos efectos están relacionados con la interrupción del sistema endocrino en el control del crecimiento y la muda. Los efectos de muda son debido a una interrupción en la síntesis y la liberación de la hormona de la muda (ecdisona) y otras clases de hormonas (Mordue & Nisbet, 1995).

Sus efectos pueden ser descritos como de tipo primario y de orden anti-alimenticio teniendo como blanco la boca y otros quimiorreceptores, mediante una simulación celular disuasiva e inhibición del proceso de absorción de azúcar. Subsecuentemente los efectos secundarios y de orden también anti-alimenticio, pero actuando a nivel intestinal causando una peristalsis mediante el bloqueo de la producción de enzimas digestivas en la inhibición intestinal de la síntesis de proteínas en diversos tejidos.

Pero los más determinantes siendo los efectos fisiológicos ya que bloquea la división celular posterior a la metafase en la meiosis y mitosis. A nivel cuticular causa alteraciones en la hormona juvenil de insecto por bloqueo de la liberación de péptidos morfogenéticos que conducen a defectos de muda, además de causar alteraciones que conducen a la reducción del número de huevos viables y la progenie viva.

#### **4.7. Generalidad del Eucalipto**

El eucalipto o eucaliptus (*Eucalyptus* spp.) (Myrtaceae) es un género de árboles (y algunos arbustos) que posee alrededor de 500 especies, la mayoría oriundas de Australia y Nueva Guinea. En el caso de su desarrollo vegetativo sobresalen las especies *E. diversicolor* ("karri"), *E. saligna* ("eucalipto

sauce”) y *E. obliqua* con algo más de 50 m de altura, siendo caso especial el de *E. renanas* cuya altura alcanza hasta los 100 m (Granados-Sánchez & López-Ríos, 2007).

Las hojas jóvenes de los eucaliptos son sésiles, ovaladas, grisáceas y de forma falciforme. Estas se alargan y se tornan de un color verde azulado brillante de adultas; contienen un aceite esencial, de característico olor balsámico, que es un poderoso desinfectante natural. En aromaterapia se emplea por la parte emocional como un estimulante con efecto despejante, y por la parte química como antiviral, expectorante y nasal (Brooker, 2006).

#### **4.7.1. Eucalipto en el control de insectos**

Especies del género *Eucalyptus* proporcionan biomasa de combustible, reducen niveles de dióxido de carbono en la atmósfera directamente y realizan una variedad de servicios indirectos a través de sus aceites esenciales utilizado como repelente de insectos plagas y como agente pesticida. El aceite de eucalipto ha sido conocido por cientos de años como antibacteriano, fungicida y antiséptico por naturaleza (Kleinig & Brooker, 1999).

#### **4.7.2. Naturaleza y composición de los aceites esenciales de eucalipto**

El aceite de eucalipto es una mezcla compleja de una variedad de mono terpenos y sesquiterpenos, fenoles aromáticos, óxidos, éteres, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas. Los diferentes compuestos obtenidos de los aceites de eucalipto identificados por (Watanabe & Shono, 1996) nos indican que algunos poseen marcadas propiedades que ayudan al control de plagas. Esto varía según la especie, la temporada, ubicación, clima, tipo de suelo, edad de las hojas, régimen de fertilidad, método utilizado para el secado del material vegetal, y el método de extracción (Brooker & Kleinig, 2006).

El aceite de eucalipto fue calificado por la Autoridad de Drogas y Alimentos de estados unidos como no tóxico (USEPA, 1993). Incluso el Consejo de Europa ha

aprobado el uso del aceite de eucalipto como agente saborizante en alimentos (5 mg/kg) y dulces y productos de confitería (15 mg/kg) (Council of Europe, 1992).

Se pueden desglosar sus principales activos como son el 1,8-cineol, de usos principales en la perfumería y medicina, el citronelol y encamanol que es un mono terpenoide natural que se encuentra en el aceite de citronela también que cuenta con la propiedad de repeler insectos además de presentar una fuerte actividad antifúngica, sumando el limoneno un terpeno que es utilizado como insecticida para pulgones, hormigas, cochinillas, moscas y es seguro ya que no es toxico para humanos (Koziol, 2015).

#### **4.8. Generalidad del chile**

El chile es una variedad de pimiento picante (*Capsicum annuum* L.) (Solanaceae) cuyo fruto es una baya que contiene altos porcentajes de capsaicina y otros compuestos similares, colectivamente llamados capsaicinoides, mientras que las variedades no picantes carecen de ellos. Cuando son consumidos por humanos, los capsaicinoides se unen a los receptores de dolor de la boca y la garganta que son responsables de la sensación de calor, estos receptores envían al cerebro el mensaje de que se está consumiendo algo caliente; este responde a esta sensación de calor elevando el pulso cardíaco, incrementando la sudoración y liberando endorfinas (Koleva *et al.*,2013).

Se han comercializado productos basados en esta sustancia para tratar las semillas destinadas a los comederos para aves contra ardillas y otras alimañas sin afectar a los pájaros. La capsaicina también es un mecanismo defensivo contra los hongos microbiales que entran por picaduras hechas en la piel por diversos insectos (Duke, 1990).

##### **4.8.1. Chile en el control biológico**

Los productos que contiene capsaicina principalmente se han utilizado para repeler insectos desde la antigüedad. En las diferentes literaturas citadas han puesto en manifiesto las capacidades de la capsaicina en generar efectos letales

sobre diferentes invertebrados, por lo cual no es de extrañar su uso en la agricultura ecológica (Koleva *et al.*, 2013).

#### **4.8.2. Actividad plaguicida**

Debido a la capacidad antimicrobiana de la capsaicina, Walter (1995), por primera vez, sugirió un pesticida a base de capsaicina que es un pesticida seguro para el medio ambiente. A partir de 1995, muchos productos insecticidas y rodenticidas a base de capsaicina han sido registrados en la EPA (Agencia de Protección Ambiental, EE. UU.). A finales de 2001, se registraron alrededor de 195 materiales activos como bio plaguicidas. Como parte de un manejo cultural, se puede repeler el gorgojo y pulgón, con 2-3 cucharadas de ají seco molido en una bolsa de tela puesto en la bolsa de almacenamiento de arroz o maíz. (Koleva *et al.*, 2013).

#### **4.9. Fago disuasión y repelencia**

A partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos, aparecen los insecticidas botánicos que ofrecen seguridad para el ambiente y son una eficiente opción agronómica (Céspedes *et al.*, 2000)

Algunas de estas plantas han sido estudiadas científicamente y otras siguen vigentes por leyenda popular (Duke, 1990). La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal exhiben un efecto insectistático más que insecticida, es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Esto lo pueden hacer de varias maneras (Celis & Mendoza, 2008):

**Reguladores de crecimiento.** Efecto que se manifiesta de diversas formas. Por un lado, se presentan moléculas que inhiben la metamorfosis, al evitar que esta se produzca en el momento preciso. Otros compuestos hacen que el insecto tenga una metamorfosis precoz y se desarrolle así en una época poco favorable. También se ha observado que determinadas moléculas pueden alterar la función de las

hormonas que regulan estos mecanismos, de modo que se producen insectos con malformaciones, estériles o muertos (Celis & Mendoza, 2008).

**Inhibidores de la alimentación.** Es el modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. Un inhibidor de alimentación es un compuesto que, luego de una pequeña prueba, hace que el insecto se deje de alimentar y muera por inanición. Muchos de los compuestos que muestran esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África e India (Cuttler & Schmutteres, 1999).

**Repelentes.** El uso de plantas como repelentes es muy antiguo, pero no se le ha brindado la atención necesaria para su desarrollo. Esta práctica se realiza con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes, como el chile y el ajo. Un ejemplo se observa en las prácticas realizadas por indígenas de Costa Rica, que espolvorean con ají los recipientes en los que almacenan maíz y frijol para que no se infesten de plagas (Celis & Mendoza, 2008).

#### **4.10. Conceptos de concentración letal 50**

En 1927, J.W. Trevan intentó encontrar una fórmula para estimar la relativa potencia de envenenamiento de drogas y medicinas usadas en esa época. Desarrolló la prueba CL50 porque el uso de muerte como "meta" permite comparaciones en químicos que envenenan al cuerpo en muchas formas diferentes. A partir del trabajo temprano de Trevan, otros científicos han desarrollado diferentes enfoques para métodos más directos y rápidos de obtener el CL50 (CCSSO, 2019).

Es la medida estándar de la toxicidad del medio circundante. La mitad de la muestra de población (50%) de una prueba en un animal específico en un período determinado muere a causa de la exposición. La medición CL50 se hace en microgramos o miligramos de material por litro, o partes por millón (ppm), de aire o agua. Cuanto menor sea la cantidad, más tóxico es el material (CCSSO, 2019). También conocida como la concentración letal media o concentración crítica de la población 50. La CL50 y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadístico (CCSSO, 2019).

#### **4.10.1. Por qué se estudia el CL50**

Los productos químicos pueden tener un alto rango de efectos en nuestra salud. Dependiendo de cómo se utilizará el químico, se pueden requerir muchas clases de pruebas de toxicidad. Por lo tanto, para comparar la potencia tóxica o intensidad de diferentes químicos, los investigadores deben medir el mismo efecto. Una forma de realizar pruebas de letalidad (las pruebas CL50) es midiendo qué tanto de un químico se necesita para provocar muerte. Este tipo de prueba se conoce también como prueba "cuantal" porque mide un efecto que "ocurre" o "no ocurre" (CCSSO, 2019).

#### **4.10.2. Términos de concentración de toxicidad de uso común**

En términos general el CL01 es la dosis letal necesaria para matar al 1% de la población de individuos del ensayo, así mismo para el CL100 es la erradicación total del 100% de la población dentro del estudio, en el caso CLLO significa la concentración más baja a la que se produce el efecto de muerte, CLLO La dosis más baja que provoca un efecto tóxico

## **V. MATERIALES Y MÉTODO**

### **5.1. Descripción del área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, ubicada a 1.5 km al este de la entrada carretera a La Ceiba. Específicamente en los laboratorios del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB), en el periodo de julio a noviembre del año 2020.

### **5.2. Materiales utilizados**

En general, en estas pruebas de toxicidad se usó cristalería de laboratorio además de suministros y equipos, para mantener los organismos bajo las condiciones adecuadas y controlar las condiciones de prueba. (Temperatura, humedad, iluminación).

- Platos Petri: para contener las larvas con la dieta utilizada y la dosis de del insecticida.
- Atomizador: esencial para la aplicación del insecticida en las dietas del estudio.
- Bandejas: donde estarán colocadas las muestras del estudio para su debido ordenamiento e identificación.
- Contenedores: para los extractos acuosos de neem, eucalipto y chile en diferentes concentraciones.
- Dieta: La dieta a base de harina de frijol, multivitamínicos y conservantes que sirvió como medio del bioplaguicidas, a la vez que alimento para la larva fue producida en el laboratorio de Cría de noctuidos de la UNAN-León.

### **5.3. Diseño experimental**

La investigación fue de carácter experimental, donde su ejecución constó de un diseño de bloques completos aleatorio (BCA) donde cada uno de los tratamientos fue dado por la combinación de la planta por la concentración. El estudio se efectuó en cuatro bloques definidos por cuatro momentos diferentes de evaluación, que

contuvieron los 15 tratamientos, con 5 unidades experimentales para un total de 75 unidades por bloque y un espacio muestral de 300 unidades durante el estudio.

#### 5.4. Esquema del diseño experimental

Tabla 2 esquema del diseño experimental

Tratamiento	Planta	Concentración	bloque			
			1	2	3	4
T1	Neem	80%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T2	Neem	60%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T3	Neem	40%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T4	Neem	20%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T5	Neem	0%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T6	Eucalipto	80%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T7	Eucalipto	60%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T8	Eucalipto	40%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T9	Eucalipto	20%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T10	Eucalipto	0%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T11	Chile	80%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T12	Chile	60%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T13	Chile	40%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T14	Chile	20%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos
T15	Chile	0%	5 individuos	5 individuos	5 individuos	5 individuos

#### 5.5. Definición de los tratamientos

Se evaluaron 15 tratamientos de los 3 extractos evaluados (neem, eucalipto, chile), subdivididos en 5 concentraciones (800, 600, 400, 200 y 0 g/L) de cada uno, todas de carácter orgánico con el fin de presentar opciones de baja toxicidad en el manejo de la plaga:

#### 5.6. Definición de la variable y su medición

Para medir la variable de concentración se determinó mediante la fórmula de porcentaje de relación masa-volumen planteada por (Petrucci & Herring, 2011) donde:

$$\% \frac{m}{v} = \frac{\text{Masa de soluto (g)}}{\text{Volumen de solución (L)}} * 100$$

Para la eficacia fue calculada mediante las formula de (Abbott, 1925):

$$E = \left( \frac{\%mTr - \%IT}{100 - \%IT} \right) \times 100$$

Dónde: E es Efectividad, IT es la infestación en el testigo y ITr la Infestación en el tratamiento

### **5.7. Métodos específicos con respecto a las variables:**

#### **Mortalidad:**

Se realizó un censo (debido a que es posible observar la totalidad del espacio muestral) esto se realizó hasta que la larva cumplió los requisitos de muerte (inmovilidad, deshidratación) o inició su etapa de pupa (periodo menor a 21 días). Esta se midió en valores cuantificables dicotómicos que en este caso asignando 1= larva muerta, 0=larva viva. Durante el muestreo se afirmó la muerte larval cuando no se apreciaba reacción alguna al ser estimulados con un alfiler entomológico en su observación. Esto debido a como explica Machado (1991), la inspección visual no garantiza con certeza el estado de la muerte larval de ningún insecto.

Debido a que los insecticidas botánicos son acción lenta se tomó la decisión de evaluar solo un muestro de manera diario, realizándolo en el periodo de las 9am de manera rutinaria, digitándolo en hojas de muestreos y posteriormente de manera digital.

#### **Eficacia:**

Utilizando los datos de mortalidad, se calculó la eficacia para cada uno del tratamiento de manera diaria mediante la fórmula de Abbott anteriormente descrita. Esta nos permitió conocer de manera más clara el alcance insecticida de los compuestos utilizados.

El ensayo de repelencia se llevó a cabo en un área separada del estudio principal utilizando una arena de libre elección (esquema en anexo) de carácter dual, de material transparente esto para que permitiera la observación y toma de datos de las mismas, teniendo una cantidad de 84 repeticiones totales, 7 por cada tratamiento.

## **Repelencia:**

El efecto de repelencia de los aceites esenciales se testeó mediante la metodología planteada por (El-Sayed & Mostafa, 2018) usando las cuatro concentraciones de cada uno de los tratamientos, donde cada muestra de dieta tratada se colocó con otra sin tratar (control) en un recipiente a 10 cm de distancia el uno del otro. Después de una hora de tratamiento, se liberó una larva y después se recabaron datos a lo largo del día, después se contabilizó el número de insectos por tratamiento con los datos obtenidos se calculó el índice de repelencia (IR) de (Mazzonetto & Vendramim, 2003),

$$IR = \frac{2G}{G + P}$$

Donde los valores de IR indican si es un tratamiento atrayente (IR >1), neutro (IR = 1) o repelente (IR < 1).

## **CL50 (Concentración letal media) :**

Se estimó utilizando los datos de mortalidad total obtenidos con cada uno de los extractos evaluados, mediante la función dose.p del paquete MASS en el programa R statics.

## **Tiempo letal 50**

Se estimo utilizando los datos de mortalidad en conjunto con las fechas de muestreo, para establecer una relación y predecir el tiempo letal promedio para cada una de las plantas en sus distintas concentraciones mediante el programa r statics.

## **5.8. Establecimiento del ensayo**

Antes del ensayo se inició con la recolección del material vegetal para el proceso de preparación de los extractos acuosos utilizando la metodología descrita por (Vogel, *et al.* 1997) se seleccionaron hojas de los cuatro puntos cardinales de árboles ubicados dentro de la misma zona geográfica esto para asegurar la homogeneidad de los compuestos.

## 5.9. Origen de muestras

**Neem:** se recolectaron hojas siguiendo la metodología antes descrita, de las cortinas rompe vientos, disponibles en el Campus Agropecuario de la UNAN-León con una edad aproximada de 20 años.

**Eucalipto:** La recolección de material vegetal para el caso de eucalipto se realizó en el ensayo de clones establecido por el INTA en la misma zona con una antigüedad aproximada de 3 años siguiendo la metodología anteriormente descrita.

**Chile:** El fruto de chile se obtuvo de proveedores externos debido a la no disponibilidad del cultivo en la zona.

## 5.10. Obtención de extractos

Obtenidas las muestras de material vegetal se procedió con un lavado con agua potable para eliminar rastros de contaminación para posteriormente proseguir con el proceso de secado, este se realizó en la zona de empaque del edificio CNRA (Centro Nacional de Referencia en Agroplasticultura) del Campus Agropecuario de la UNAN-León, utilizando tela malla para evitar que el viento arrastrara las hojas, teniendo un periodo de secado aproximado de 21 días continuos.

De manera posterior se utilizó una trituradora eléctrica disponible en el laboratorio de suelo de la UNAN-León, para realizar el molido de las hojas en un polvo fino. Una vez obtenido el polvo base se procedió al pesado de las cantidades necesarias para la realizar la solución acuosa para cada una de las concentraciones a probar obtenidas con la fórmula de masa/volumen (Petrucci & Herring, 2011).

El extracto acuoso se obtuvo luego de pesar 800 g, 600 g, 400 g, 200 g del polvo base de cada uno de los tratamientos (neem, eucalipto y chile) con 1000 ml de agua donde se dejaron en maceración durante un periodo de 24 horas a temperatura ambiente para cada uno de los extractos posteriormente se procedió a realizar un filtrado con malla común para eliminar cualquier residuo. Los extractos

botánicos se agitaron manualmente cada 12 h por 3 días durante el proceso de extracción (Alegre *et al.*, 2017).

Estos se almacenaron en botellas debidamente esterilizadas con antelación, en lugares frescos, secos y resguardados de la luz del sol para evitar posibles deterioros de las mismas soluciones.

#### **5.11. Bioensayos de los tres extractos**

Se procedió a una desinfección del área del laboratorio donde se realizó el estudio mediante una solución de hipoclorito de sodio al 3 % y agua para reducir en la mayor medida las posibles contaminaciones por bacterias u hongos. El mismo tratamiento se les dio a los recipientes a utilizar en este estudio, siendo debidamente lavados con agua y la solución de hipoclorito de sodio, dejando un periodo respectivo de secado para evitar acumulaciones de agua.

Se separaron en grupos de cinco platos Petri enumerados respectivamente como corresponden los bloques del tratamiento en estudio, una vez colocado el primer bloque se procedió a la colocación de las larvas, los individuos que sirvieron como muestra del estudio se obtuvieron del pie de cría de *S. frugiperda* en los laboratorios CIRCB de la UNAN-León, de donde se trasladaron al área designada para el experimento. Al iniciar la manipulación de los individuos se utilizaron guantes de látex estándar.

Se colocaron individualmente en cada recipiente plástico, debido a que estos insectos presentan hábitos de canibalismo cuando escasea el alimento (Bentancourt & Scatoni, 2006)

#### **5.12. Análisis de los resultados**

La base de datos se recopiló en un archivo de Excel, donde se recopilaban los datos dicotómicos, de manera diaria y unitaria agrupando las variables con su respectiva condición de tratamiento y días después del establecimiento, siguiendo los anteriores parámetros para su análisis, esto para poder realizar los análisis de CL50 y TL50.

Se utilizó el criterio de información de Akaike y el peso de Akaike para verificar que el modelo predice mejor las variables.

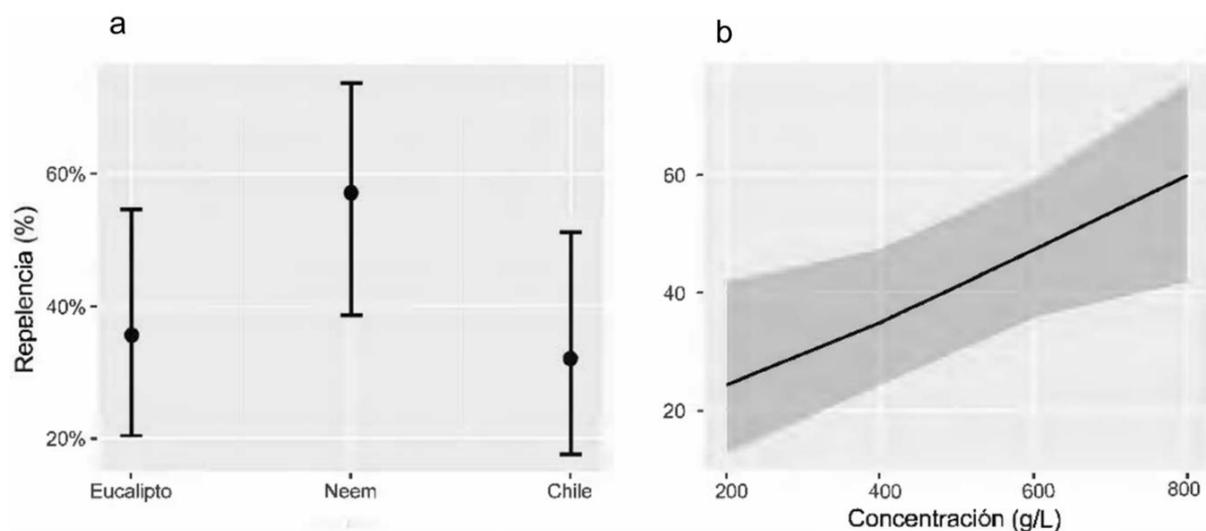
Los datos de las variables cuantitativas mortalidad, eficacia y fago disuasión fueron procesados en el programa de Microsoft Office Excel 2019. Para el análisis estadístico los datos obtenidos se exportaron al programa R donde se ejecutó el análisis estadístico mediante modelos lineales generalizados y la implementación de los programas MASS y Ecotox, además se realizaron gráficos para representar algunos resultados.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Repelencia

En la variable repelencia, quien presentó un menor índice es el chile situándose ligeramente superior al 30%, seguido por el eucalipto situándose entre el 38%. El extracto de neem logró sobrepasar el 59% dejando una marcada diferencia con respecto a los anteriores. La repelencia presentó un crecimiento lineal, iniciando ligeramente por encima del 20% a la concentración de 200 g/L, en la concentración de 400 g/L con un 44% y mediante esta podemos observar que aun usando la concentración de 800g/L se logró alcanzar el 60% (Figura 1).

Mediante el índice planteado por Mazzonetto y Vendramim (2003) se determinaron los valores para los extractos botánicos y sus concentraciones, donde todos obtuvieron valores repelentes (menor a 1), siendo las concentraciones máximas (800 g/L) de neem, eucalipto y chile las que obtuvieron valores más alto (0.85, 0.73, 0.55) , lo que nos indica que como es de esperarse a medida que aumenta la concentración de cada uno de los extractos aumenta su efecto repelente sobre el insecto.



**Figura 1** Repelencia de los extractos acuosos (%). 2a) según plantas y 2b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras.

**Tabla 3** Determinación del modelo para la variable repelencia, según el criterio de información de Akaike (AICc) y el peso de Akaike para los factores de planta, repelencia y concentración.

Modelo	AICc	dAICc	df	weight
Glm Eucalipto	37.505	0.000	2	0.455
Glm Neem	38.081	0.576	2	0.341
Glm Chile	39.104	1.599	2	0.204
Glm Concentracion	112.083	74.578	2	0.000
Glm Sumatoria de planta	116.386	78.881	3	0.000

Nota: \*menor valor de AICc y mayor peso determinan el mejor modelo.

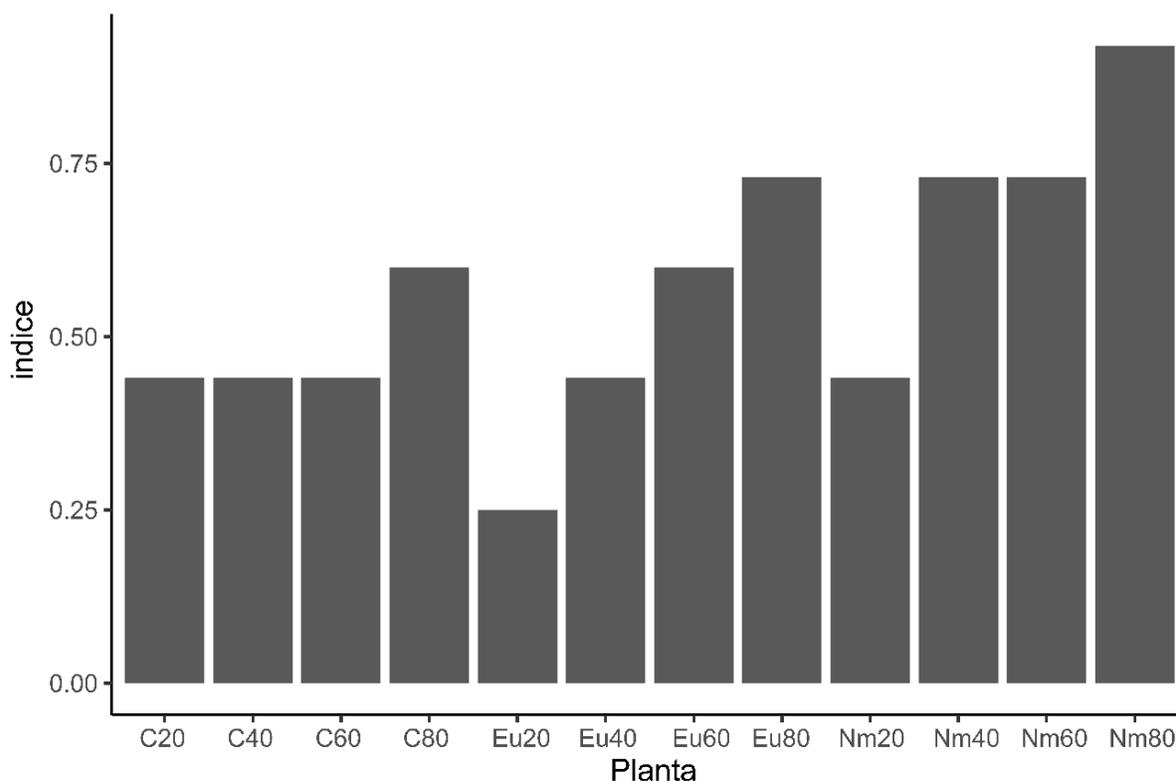
Mediante el criterio de información Akaike (tabla 3) pudimos verificar la calidad relativa del modelo a utilizar para el conjunto de datos obtenido, donde pudimos apreciar que el factor que tiene mayor peso es la concentración por sobre el factor planta.

**Tabla 4** Resumen del Modelo Lineal Generalizado de la variable repelencia, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de *Spodoptera frugiperda* por los factores de planta y concentración con una confiabilidad del 95%.

Variabes	Estimado	Error estándar	Estadístico	Valor p	Límite inferior	Límite superior
(Intercept)	-2.17	0.73	-2.96	0.00	-3.71	-0.81
Concentración	0.03	0.01	2.47	0.01	0.01	0.05
Planta Eucalipto	0.17	0.59	0.29	0.77	-0.98	1.34
PlantaNeem	1.13	0.58	1.93	0.05	0.01	2.31

Nota: \*en la prueba comparativa para cada factor se excluye la primera variable según el orden alfabético.

Posteriormente podemos constatar que no existió una diferencia estadísticamente significativa para el factor planta, siendo la concentración (0.01) la única que muestra una diferencia con respecto a la repelencia (Tabla 4).



**Figura 2** Índice de repelencia para los extractos acuosos de neem, eucalipto y chile para el control de *Spodoptera frugiperda*, las letras c, eu, nm hacen referencia a chile, eucalipto y neem respectivamente, mientras que los valores 20, 40, 60, 80 hace referencia a los valores de 200, 400, 600 y 800 g/L.

El menor exponente fue el extracto de chile debido a que la capsaicina actúa a nivel del receptor TRPV1 en los humanos lo que genera una sensación de dolor, causando rechazo hacia el mismo, mientras que los artrópodos aunque cuenta con algunos de estos receptores (TRP, TRPgamma, TRPL) (UIFBC, 2020) no precisan receptores específicos para la molécula de capsaicina causando que no presenten una reacción de alerta para el mismo, siendo en este caso una probabilidad menor al 30% de repelencia (figura 2).

El caso particular del eucalipto siendo el que presentó el segundo lugar en repelencia, donde Batish *et al.* (2008) nos indica que este contiene un gran número de terpenos, Mono terpenos, limonoides y otros aceites aromáticos que se encuentran en especies similares (*E saligna*, *E viminalis*, *E globulus*), aunque no todos estos presentan efectos alelopáticos o en caso contrario repelentes. Caso opuesto por el citronelal y el 1,8 cineol anteriormente mencionado que puede encontrarse en concentraciones variables, los que pueden ser responsable del efecto repelente (Céspedes *et al.*, 2000).

Donde se obtuvo la mayor repelencia superando por amplio margen a las anteriores rozando casi el 60%, es para el extracto de neem donde su molécula activa la azadiractina resulta toxica tanto por contacto, inhalación e ingestión, lo que se constata en el estudio realizado por Capataz *et al.* (2007) donde mediante ensayos de repelencia y fagodisacuación en ejemplares de *S frugiperda* del segundo instar larval lograron medir un máximo de 99% y un mínimo de 70% de repelencia aun a bajas concentraciones (0.03 mg/L) de ingrediente activo.

De igual manera Radhika *et al.* (2018) nos indican que en caso de aun ser ingerida por el insecto esta causa efectos neurotóxicos y daños metabólicos como necrosis celular, rotura de la membrana plasmática, hipertrofia celular, formación y expansión de los espacios intercelulares (Scudeler & Carvalho , 2013), causándole la muerte además mediante la afectación a la síntesis de la hormona juvenil (HJ) (Esparza *et al.*,2004), lo que asegura que de una u otra manera el extracto tiene un impacto positivo para el control de la misma.

## **Eficacia**

Para la variable eficacia se obtuvieron resultados promedio para todos los extractos superiores al 50%, siendo el menor valor para extracto de eucalipto logrando alcanzar un 58% de eficacia, seguidamente el extracto de neem presentó el segundo valor más alto del estudio alcanzado valores mayores al 60%. Finalmente el extracto de chile fue el más efectivo superando el 70%.

La eficacia aumentó de manera lineal conforme incrementó la concentración de los extractos. La línea de tendencia indica que la eficacia superó el 50% aun antes de alcanzar la concentración de 200 g/L siendo esta la concentración más baja. Las concentración intermedias (400-600 g/L) oscilaron entre el 58% al 65%, siendo la concentración máxima (800 g/L) la única en superar el 70%.

**Tabla 5** Determinación del modelo para la variable eficacia, según el criterio de Información de Akaike (AICc) y el peso de Akaike para los factores de concentración, planta y bloque.

Modelo	AICc	Peso
abbot ~ 1 + Concentración + planta + bloque	412.40	0.59
abbot ~ 1 + Concentracion + bloque	413.19	0.40
abbot ~ 1 + bloque	422.62	0.00
abbot ~ 1 + planta + bloque	422.66	0.00
abbot ~ 1 + Concentracion	437.37	0.00
abbot ~ 1 + Concentracion + planta	439.05	0.00
abbot ~ 1	442.03	0.00
abbot ~ 1 + planta	443.79	0.00

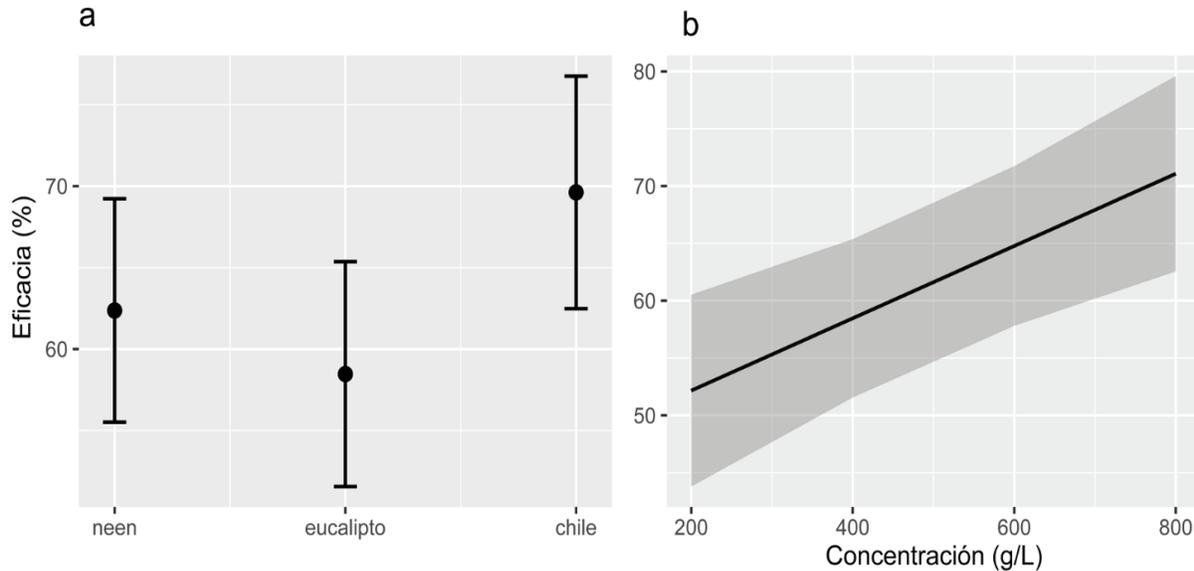
Nota:\*menor valor de AICc y mayor peso determinan el mejor modelo.

Tabla 6 Resumen del Modelo Lineal Generalizado para la variable eficacia, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de *Spodoptera frugiperda* por los factores de planta, concentración y bloque con una confiabilidad del 95%.

Variables	Estimado	Error estandar	Estadistico	Valor p	Limite inferior	Limite superior
(Intercept)	78.10	7.03	11.11	0.00	64.32	91.88
Concentracion	0.03	0.01	3.63	0.00	0.01	0.05
Planta Eucalipto	-11.15	4.78	-2.34	0.02	-20.52	-1.79
Planta neen	-7.25	4.78	-1.52	0.14	-16.62	2.11
Bloque	-10.55	1.76	-5.98	0.00	-14.00	-7.09

El análisis del modelo comprobó que existe una diferencia significativa para los factores planta (0.02), bloque y concentracion (0.00) (tabla 6). La importancia de estos factores en la eficacia de los extractos se comprobó mediante el criterio de

información de Akaike ya que el modelo “concentración+planta+bloque” obtuvo el menor valor de AICc (412.40) y el mayor peso de Akaike (0.59)(tabla 5)



**Figura 3** Eficacia de extractos acuosos (%). 1a) según planta, 1b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar de las muestras.

Para el extracto de eucalipto la efectividad fue menor que en otros estudios (González *et al.*, 2016). La variación presentada puede adjudicarse a las distintas concentraciones de aceites esenciales dentro de las plantas, principalmente debido al contenido de mono terpenoides como el citronelal (Duke, 1990) que actúa activamente en el sistema de los insectos. El extracto de neem presentó el segundo valor más alto (60%) aunque en reiterados estudios se han obtenido valores del 87% de efectividad debido a la alta toxicidad de su principio activo azadiractina (Esparza *et al.*, 2004) (Figura 3).

Esta variación puede ser atribuida a que los extractos se realizaron procesando el tejido foliar, no las semillas junto con los frutos que tienden a tener concentraciones más altas del mismo. En el caso del extracto de chile se obtuvieron rangos similares al estudio desarrollado por Koleva *et al.* (2013) donde se evaluaron extractos concentrados de capsaicina en *Myzus persicae* S. (Hem.: Aphididae), con resultados entre los rangos de 38% - 97%. Considerando que la capsaicina cuenta

con un efecto metabólico más directo en la síntesis de quitina para la muda del insecto es de esperarse que impida que este logre alcanzar su instar larvales superiores.

### Posibilidad de empuje

Para la variable empuje la probabilidad del que suceso no ocurra para el extracto acuoso de chile fue la mayor obteniendo un porcentaje superior al 70%, siendo seguido por el extracto de neem que obtuvo un 60% y como menor exponente el extracto de eucalipto con un 58% cabe destacar que el extracto de neem y eucalipto presentaron resultados en extremo similares.

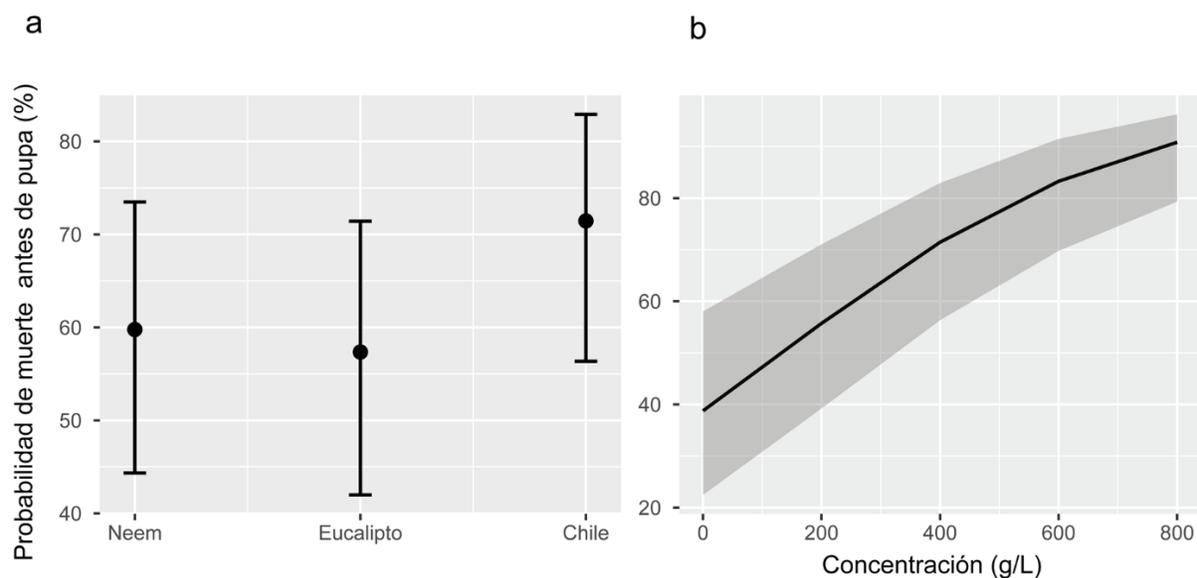
De igual manera la probabilidad aumentó a medida que incrementó la concentración de los extractos. Para 200 g/L se obtuvieron valores superiores al 56%, siendo superada por amplio margen por las concentraciones intermedias (400-600 g/L) que obtuvieron 72% y 82% respectivamente, solo superadas por la concentración máxima (800g/L) que obtuvo una probabilidad superior al 91%.

**Tabla 7** Resumen del Modelo Lineal Generalizado para la probabilidad de no empupar, utilizando los extractos de neem, eucalipto y chile para el control de *Spodoptera frugiperda* por los factores de planta y concentración con una confiabilidad del 95%.

Variables	Estimado	Error estandar	Estadistico	Valor p	Limite inferior	Limite superior
(Intercept)	1.56	0.71	2.19	0.03	0.19	3.00
Planta Eucalipto	-0.68	0.48	-1.41	0.16	-1.65	0.25
Planta Neem	-0.57	0.48	-1.19	0.24	-1.54	0.37
Concentración	0.00	0.00	4.90	0.00	0.00	0.01
Bloque	-1.38	0.40	-3.41	0.00	-2.21	-0.61

*Nota: \*en la prueba comparativa para cada factor se excluye la primera variable según el orden alfabético.*

El análisis del modelo para calcular la probabilidad de que el suceso de empupe no ocurra, nos indica que existe una diferencia estadística para los factores bloque (0.00) y concentración (0.00) donde podemos afirmar que para los distintos extractos se puede apreciar una diferencia tanto a medida que incrementa la concentración como a media que aumenta el tiempo de elaboración de los extractos siendo directamente proporcional el tiempo de elaboración con respecto a la probabilidad de que el insecto llegue a pupa. (Tabla 7).



**Figura 4** Probabilidad de que no ocurra la etapa de pupa para los extractos acuosos (%). 3a) según plantas y 3b) según concentración (g/L). Barras y zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras.

Esta variable esta directamente relacionado con la variable eficacia ya que en dependencia de que tan eficaz sea el efecto insecticida de los extractos evaluados, la cantidad de larvas vivas que puedan llegar a convertirse en adulto por medio del proceso de pupa disminuye. Es así que por medio de los analisis y comparaciones representamos la posibilidad de que este evento no ocurra, obteniendo resultados importante por su aplicabilidad en campo, ya que nos permite estimar el impacto en su multiplicacion vertical (Machado, 1991), pudiendo predecir

que comportamiento poblaciones se puede esperar para las generaciones consiguientes de la especie en condiciones de libertar (Figura 4).

### Concentracion letal 50

Para el caso de la CL50 el extracto que obtuvo un menor valor fue chile generando la mortalidad del 50% de poblacion con 116 g/L, pero obteniendo a su vez el error estandar mas alto (1.13), caso contrario el extracto de neem que requiere la cantidad mas alta de 268 g/L, pero obteniendo un error estandar menor (0.48), situandose como punto medio el extracto de eucalipto con 177 g/L con un error estandar de 0.78 (tabla 8).

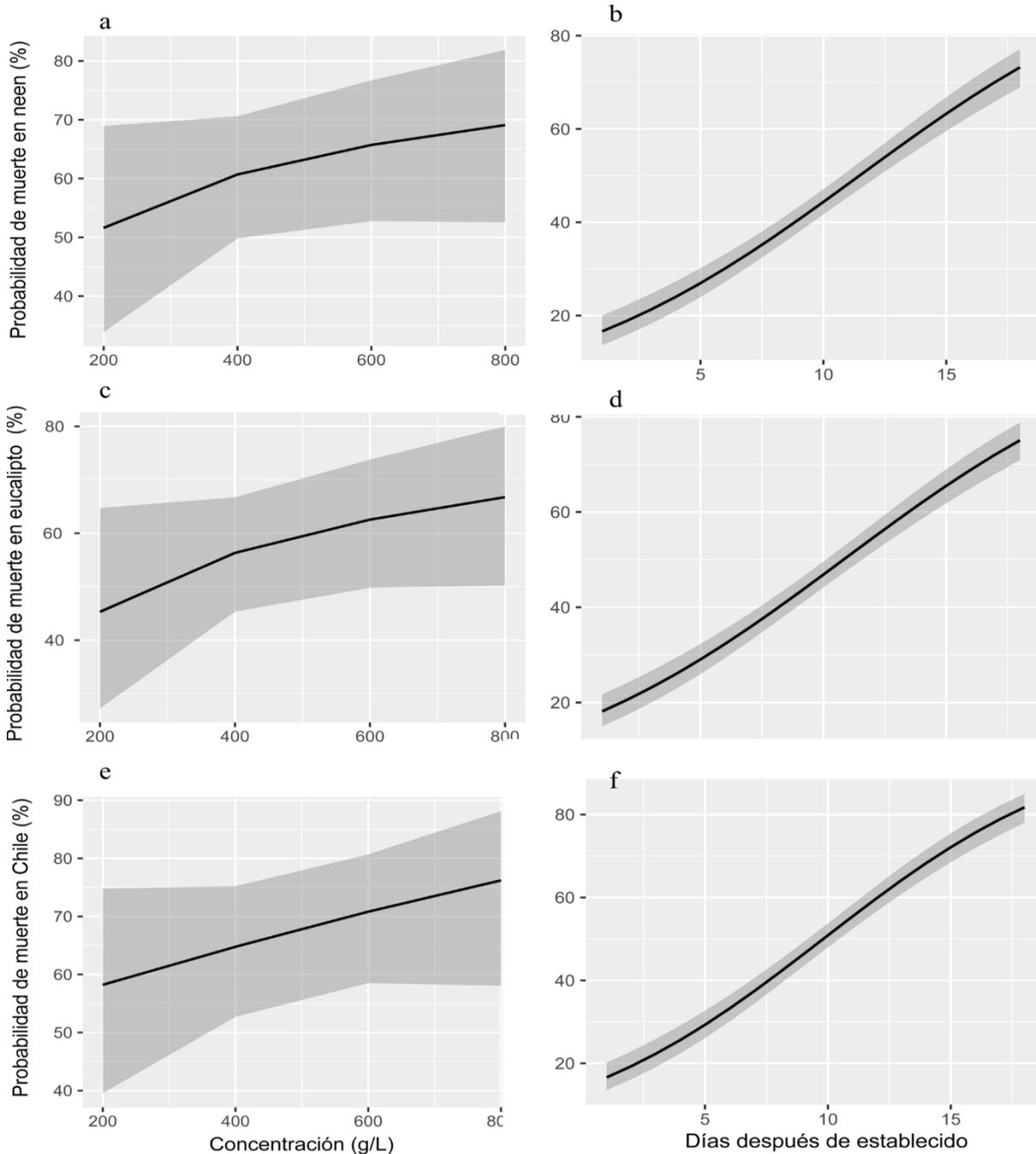
**Tabla 8** Resumen de los resultados para la concentración letal 50 (CI50) para los extractos acuosos de neem, eucalipto y chile para el control de *Spodoptera frugiperda* con una confiabilidad del 95%.

Planta	CI50	Dosis	Error
Neem	0.5	268.60	0.48
Eucalipto	0.5	177.32	0.78
Chile	0.5	116.75	1.13

En donde mediante las lineas de tendencias de las graficas podemos observar sus tendencia de comportamiento con base a la concentracion (4a, 4c, 4e) donde el caso de neem octuvo un indice ligeramente superior al 50% ascendiendo de manera lineal para las concentraciones intermedias (400,600 g/L) pero a medida que aumenta la concentración es menor el crecimiento hasta la concentración máxima (800 g/L) logrando una mortalidad ligeralmente por debajo del 70% .

Siguiendo esta misma tendencia en el extracto de eucalipto, observamos similitudes pero una tasa de mortalidad más baja donde la menor concentración (200 g/L) solo alcanzo a superar el 40%, mientras que las intermedias ascienden entre el 50% y 60%, logrando la concentración máxima alcanzar un valor ligeramente inferior al 70%, caso contrario para el extracto de chile con una mortalidad superior al 50% desde la concentración inicial (200 g/L), siguiendo una curva ascendente para las concentraciones intermedias (400 g/L, 600 g/L) logrando

sobrepasar el umbral del 60%, hasta su máximo de 75% (800 g/L) de mortalidad en el estudio (Figura 5).



**Figura 5** Probabilidad de muerte para los extractos de acuosos, según concentración (g/L) 4a, 4c, 4e y días después de establecido 4b, 4d, 4f . Zonas sombreadas representan el error estándar para las muestras.

El comportamiento de los extractos puede ser explicado debido a múltiples factores siendo para el caso de neem donde su tendencia ascendente se ve mermada a media que aumenta la concentración esto no quiere decir que la mortalidad eventualmente disminuiría a 0% si no que el rango de tolerancia máximo para el ingrediente activo fue alcanzado (PlasmaNeem, 2005).

Otros estudios donde se utilizan extracciones por medio de solventes alcohólicos como el caso de Trujillo y Zapata (2008) donde obtuvieron resultados de hasta el 88% de mortalidad mediante ingestión, mientras que Radhika *et al.* (2018) nos indican que incluso la exposición dermal prolongada al mismo puede llegar a generar la muerte del insecto consiguiendo hasta 80% de control alcanzando entre los 2 a 10 días de su estudio, muy similar al seguido en la línea de tendencia sobre tiempo (figura 4-b) donde podemos observar que la mortalidad del 40% se alcanzó entre los 5-10 días de la exposición al extracto.

Aunque utilizando los frutos y semillas de la planta que cuentan con concentraciones más altas de azadiractina se pueden alcanzar valores aun más altos, tal es el caso del estudio realizado por Villamil *et al.* (2012), donde reportaron una mortalidad superior al 97% con una concentración máxima de 250ppm.

Para el extracto de eucalipto presentó una tendencia más baja con respecto a la variable mortalidad, al igual como fue descrito anteriormente para la variable eficacia esto es debido principalmente a que en su gran mayoría solo presenta compuestos aromáticos (Brooker & Kleinig, 2006), siendo las principales activos según González *et al.* (2016) el citronelal (18%) y el 1,8 cineol (55.49%) los que cuenta con un mayor efecto sobre su metabolismo logrando alcanzar hasta un 70% de mortalidad mediante ingestión.

Aunque en dependencia de la manera de producción del extracto estos datos pueden variar, como nos demuestra Murillo *et al.* (2019), donde mediante producción de aceites concentrados y dos fracciones diluidas lograron un 100% de mortalidad con una concentración de 8 g/L, y sus fracciones (2, 4 g/L) obtuvieron resultados ligeramente inferiores (40%-70%) pero igual de efectivas con respecto a los resultados obtenidos durante este estudio.

De ahí que la industria haga uso en algunos insecticidas de producción comercial (mosi-guard) hagan uso del aceite de citronela y aceites de eucalipto que contiene concentraciones más alta de este principio activo, no así para el extracto de chile donde la capsaicina es parte fundamental de su extrucutra.

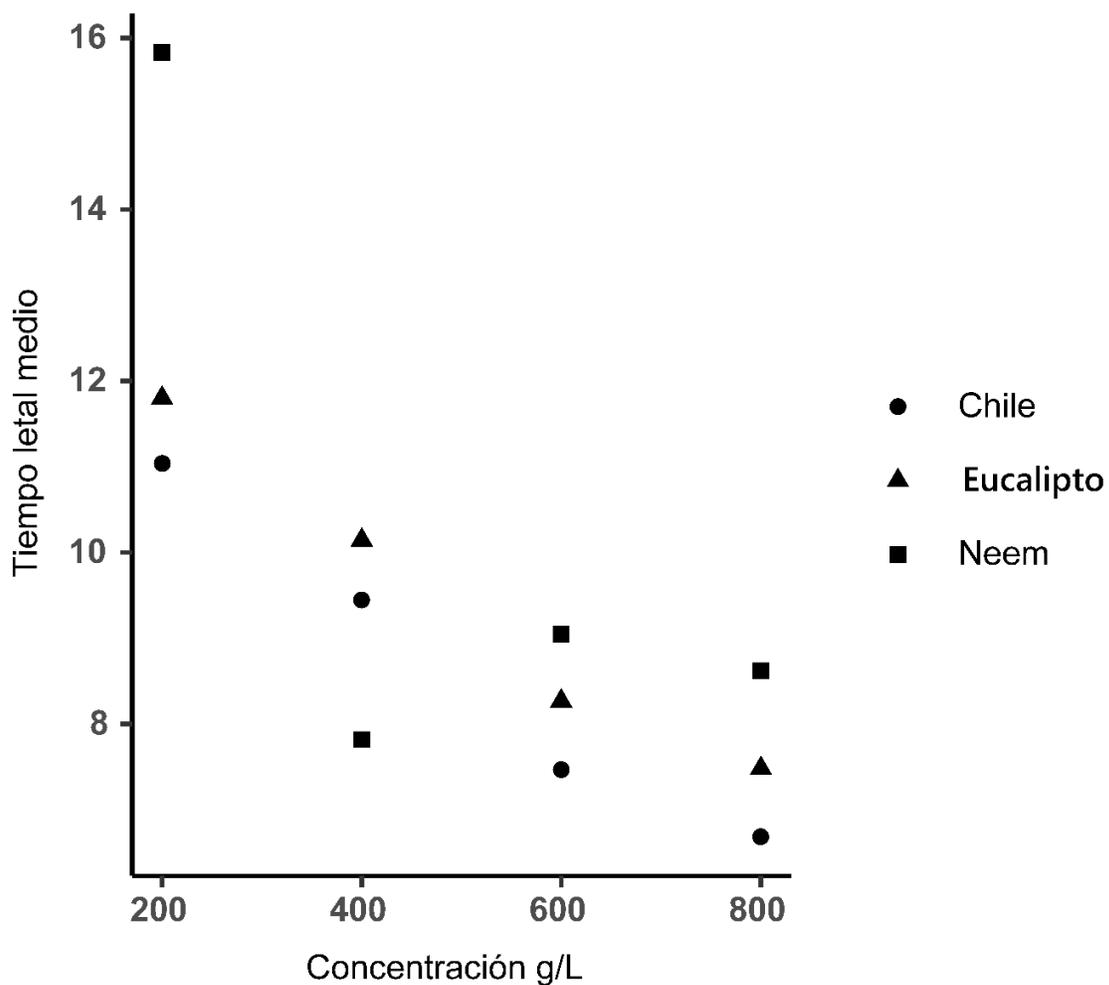
Por esto no es de sorprende que optenga los resultados más prometedores ya que de los tres ingredientes activos la capsaicina es la que cuenta con la más alta concentración por gramos de materia vegetal (Walter, 1995), sumando a su efecto sobre la metabolización de ciertas enzimas generando trastornos digestivos Koleva *et al.*, (2013), causando que el insecto reduzca su ingestión muriendo eventualmente.

Esto se puedes constatar en estudios como el realizado por Minh *et al.*, ( 2014 ) donde un extracto acuoso de chile en combinación con ajo mediante asperción logrando un máximo de 88.16% y un mínimo de 56.66% de control con respecto a su testigo, ya que el mismo genera un proceso órgano toxico en un periodo medio de 5 días. Por ende la ascendencia de la curva de mortalidad se mantiene al ahumentar considerablemente la concentración del principio activo pudiendo causar incluso irritaciones al propio investigador si no se prestan los cuidados adecuados, ya que la capsaicina es altamente aderibles al ser similar a una resita por lo cual también es insoluble en agua por lo que requiere un diluyente como leche para poder mitigar sus efectos.

### **Tiempo letal 50**

Para la variable de TL50 se puede observar que de igual manera que la variable CI50 la concentración de los extractos juega un papel muy representativo para la comprensión de su comportamiento donde para la menor concentración (200 g/L) para el caso de neem se obtuvo el mayor valor (16 días) siendo seguido por eucalipto (12 días) y por último el chile (11 días).

Caso similar para las concentraciones intermedias (400-600 g/L) donde los valores siguieron las mismas tendencias descendentes para los extractos siendo similares chile y eucalipto que oscilaron entre 9-7 días, mientras que el neem obtuvo el mayor tiempo, al igual que una mayor variabilidad del TL50 entre sus concentraciones. De igual manera en la concentración máxima el extracto de chile obtuvo el menor valor con 6 días para alcanzar el 50% de control, mientras que los extracto de neem y eucalipto permanecieron entorno a los 7-8 días para cada uno (Figura 6).



**Figura 6** Tiempo letal medio según la concentración, para cada uno de los extractos (chile, neem y eucalipto).

## VII. Conclusión

- Todos los extractos evaluados presentaron repelencias, siendo las concentraciones de 800 g/L la que presentaron mejores resultados. Donde el extracto de neem fue el que obtuvo mayores probabilidades de repelencias.
- El extracto de chile fue el que obtuvo el mayor valor de eficacia (70%). Para esta variable el factor concentración fue el que más peso tuvo para causar mortalidad, donde se puede evidenciar que estos extractos causaron la muerte del insecto antes de alcanzar el estadio de pupa.
- La concentración letal 50 para el extracto de chile fue de 116 g/L, mientras que para el extracto de eucalipto fue de 177 g/L, siendo superado por el neem que requiere 268 g/L.
- El tiempo letal medio fue inversamente proporcional a la concentración de los extractos donde la concentración de 800 g/ L obtuvo un valor de 6 días para el extracto de chile y los extractos de neem y eucalipto tuvieron los valores 7 y 8 días respectivamente.

## VIII. Recomendaciones

- Con los resultados obtenidos en este estudio se sientan las bases para futuras investigaciones de validación de resultados en ensayos de campo, para evaluar efectos de variables como precipitación, temperatura y desarrollo de cultivo en los valores de la eficacia.
- Tomando en cuenta que los extractos de este estudio se realizaron mediante preparaciones acuosas, se recomienda evaluar mediante solventes orgánicos o destilaciones de laboratorio.
- Se recomienda evaluar el efecto de los extractos una vez que los insectos alcancen el estadio pupal (peso de pupa y malformaciones).
- A pesar de haber mostrado resultados aceptables en eficacia, los extractos de neem presentaron una alta variabilidad en los valores de TL50, por lo cual se recomienda aplicarlo en conjunto de muestreos pertinentes que le permitan afectar a la plaga de *S frugiperda* lo antes posible.
- Se recomienda evaluar el tiempo medio de degradación para los extractos una vez elaborados.
- A pesar de que los extractos presentan una eficacia aceptable, no se recomienda utilizarlos como alternativa única de manejo o sustituyente de estas, sino utilizarlos como parte de un programa de manejo integrado que permita utilizar una rotación de insecticida, procurando no aplicar el mismo ingrediente activo antes de abarcar 3 productos de distinta categoría de acción según el comité de acción insecticida (IRAC). Ya que los extractos evaluados pertenecen a la clasificación UN (Compuesto desconocidos o mecanismo de acción desconocidos), no rotar los extractos entre sí.

## IX. Bibliografía

- Abbott, W. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide . *journal of economic entomology* Volume: 18, 265-267 .
- Acosta, R. (2009). El cultivo del maíz, su origen y clasificación. el maiz en Cuba. *cultrop* v.30 .
- Alegre, A., Iannacone, J., & Carhuapoma, M. (2017). Toxicidad del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Annona muricata*, *Mintostachys mollis*, *Lupinus mutabilis*, Y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* Y *Chrysoperla externa*. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 273-284.
- Alves, S. (1986.). Controle microbiano de insetos. *Sao Paulo: Manole*, 10.
- Barboza, J., Hilje, L., Durón, J., Cartín, V., & A. Calvo, M. (2009). Actividad fagodisuasiva y sistémica de una formulación derivada de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis*, *Rutaceae*) sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Revista de Biología Tropical; costa rica*, 17.
- Batish , D., kohli, R., & Singh, H. (2008). Eucalyptus essential oil as natural pesticide . *Forest Ecology and management*.
- Bentancourt, C., & Scatoni, I. (2006). Lepidopteros de importancia economica en uruguay. *Universidad de la republica oriental de uruguay*, 267.
- Brooker, M. (2006). Field Guide to Eucalyptus. *Melbourne: Bloomings*.3<sup>a</sup> ed.
- Brooker, M., & Kleinig, D. (2006). Field Guide to Eucalyptus. vol.1. *Bloomings, Melbourne*.
- Capataz, J., Orozco, F., Vergara, R., & Hoyos, R. (2007). efecto antialimentario de los extractos de suspensiones celulares de *azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda* j.e smith en condiciones de laboratorio. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 3703-3715.
- Capinera, J. (1999). Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)1. *IFAS Extension*.

- Casmuz, A., Juárez, L., & Socías, G. (2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 69, 209-231.
- CCSSO. (2019). Qué es un LD50 y LC50. *ccsso hanswers*.
- Celis, Á., & Mendoza, C. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 99-101.
- Céspedes, C., Calderón, J., Lina, L., & Aranda, E. (2000). Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids Isolated from Cedrela spp. (Meliaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1902-1908.
- Channing, D., & Varnell, A. (2011). Gulf war syndrome: A role for organophosphate induced plasticity of locus coeruleus neurons. *Nature Precedings*.
- Council of Europe. (1992). . Flavouring substances and natural sources of flavourings. *Volume I, 4th Edition: Chemically-Defined Flavouring Substance*.
- Cuttler, P., & Schmutterer, H. (1999). Natural pesticides from the Neem seed and other plants. . *Ethnopharmacology* 333, 11-19.
- Duke, S. (1990). Natural pesticides from plants. *Advances in new crops.*, 829.
- El-Sayed, H., & Mostafa, M. (2018). Efficacy of some Plant Essential Oils as Green Insecticides to Control Whitefly, Bemisia tabaci (Gennadius). *International Journal of Entomology and Nematology*, 2-3.
- Esparza, G., López, J., & Villanueva, J. (2004). concentración de azadiractina, efectividad insecticida y fitotoxicidad de cuatro extractos de *Azadirachta indica* A. JUSS. *Agroecosistemas Tropicales; Veracruz. México.*, 823-825.
- García, V., Soto, A., & Bacca, T. (2014). Efecto insecticida de productos alternativos en *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 40, 143-147.
- González, R., Silva, G., & Urbina, A. (2016). Aceite esencial de eucalyptus globulus labill y eucalyptus nitens h. deane & maiden (myrtaceae) para el control de *sitophilus zeamais* motschulsky. *Agro-Ciencia*, 110-116.

- Granados-Sánchez, D., & López-Ríos, G. (2007). Fitogeografía y Ecología del Género *Eucalyptus*. *Revista Chapingo*, 143-156.
- Isman, M. (2015). ¿Un renacimiento de los insecticidas botánicos? *Ciencia de manejo de plagas*, 1-6.
- Kleinig, D., & Brooker, I. (1999). Field guide to eucalypts. Vol. 1, South-eastern Australia / M.I.H. Brooker and D.A. Kleinig. *Hawthorn, Vic. : Bloomings Books*.
- Koleva, L., Mitrev, S., Maksimova, V., & Spasov, D. (2013). Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum* ssp. *microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. *Goce Delcev University, Faculty of Agricultural Sciences, Stip, Macedonia*, p.671-672.
- Koziol, N. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité. *Sciences pharmaceutiques*.
- Machado, D. (1991). *nutrição quantitativa e controle de qualidade de populaces de Spodoptera grugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) em duas dietas artificillas*. São Paulo: Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Mazzonetto, F., & Vendramim, J. (2003). Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijão Armazenado. *Neotropical Entomology* 32, 145-149.
- Minh, T., Lan, A., & Nu Hoang, A. ( 2014 ). Efficacy of Garlic and Chili Combination Solution on Cabbage Insect Pests and Crop Growth in Vietnam . *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, Vol:8, No:10,.
- Morales, J. (2003). Manejo del gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas. *cooperacion tecnica CORPOICA-universidad del Sinu*, Pag 10.
- Mordue, J., & Nisbet, A. (1995). Azadiractina del árbol de neem *Azadirachta indica*: suacción contra los insectos. *Departamento de Zoología de la Universidad de Aberdeen*.
- Murillo, W., & Araque, P. (2019). Actividad insecticida de una emulsión aceite/agua del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis*. Ibagué-Colombia: universidad del Tolima.

- Murua, G., & Virla, E. (2004). Population parameters of *Spodoptera Frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucuman (Argentina). *Acta Zoológica Mexicana*, 199-210.
- Murúa, G., Molina, J., & Coviella, C. (2006). population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in northwestern Argentina. *Florida Entomologist*, 89, 175-182 .
- Nicolás, P., Dal Bello, G., & Padín, S. (2011). Capacidad insecticida de *Beauveria bassiana* cultivada en hidrocarburos para control de coleópteros en granos almacenados. *Agrociencia Uruguay vol. 15*.
- Petrucci, R., & Herring, G. (2011). *Química general: principios y aplicaciones modernas*. Madrid: Prentice Hall .
- PlasmaNeem. (2005). *El arbol de neem*. Obtenido de web.archive.org : <http://plasmaneem.com/about-neem.html>
- Radhika, S., Sahayaraj, K., Senthil-Nathan, S., & Cazado, W. (2018). Actividades individuales y sinérgicas de monocrotonos con pesticidas a base de neem, Vijayneem contra *Spodoptera litura*. *Patología Fisiológica y Molecular de Plantas Volumen 101*, 54-68.
- Rezende, A., & Cruz, I. (1994). Consumo foliar de milho e desenvolvimento de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) parasitadas por *Chelonus insularis* (Cresson) (Hym.: Braconidae). *Ann. Soc. Entomol. Bras.* 23, 473-478.
- Rizo, C., & Narváez , C. (2001). Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* ,, p. 90-96.
- Rosas, N. (2014). *Bacillus thuringiensis*: una aplicación de la ciencia. *Revista Colombiana de Biotecnología*.
- Scudeler , E., & Carvalho , D. (2013). Efectos del aceite de neem ( *Azadirachta indica* A. Juss) en células del intestino medio de larvas depredadoras *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micrón*, 125-132.
- Sengottayan, N. (2013). Efecto fisiológico y bioquímico de neem y otras plantas Meliaceas metabolitos secundarios contra insectos lepidópteros. *Frontier in physiology*, 1-7.

- Simmonds , M., & Blaney, W. (1990). Azadirachtin: requisitos estructurales para reducir el crecimiento y el aumento de la mortalidad en las larvas de lepidópteros. *Entomol.Exp. Appl.* 55, 169-181.
- Smith, A., & Gangolli, S. (2002). Organochlorine chemicals in seafood: occurrence and health concerns. *Food and Chemical Toxicology* 40, 767–779.
- Tavarez, M., & Vendramim, J. (2005). Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., Sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology* 34, 319-323.
- Tellez, j., Cruz, R., & mercado , F. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*.
- TIERTO, N. (1994). The ability of powders and slurries from ten plant-species to protect. Stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera: Bostrichidae) y *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal Stored Prod*, 297–301.
- Trujillo , P., & Zapata, L. (2008). determinación de la dl50 y tl50 de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* SOBRE *Spodoptera frugiperda*. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.*, 4564-4575.
- UIFBC. (2020). "Canales de potencial del receptor transitorio" Base de datos IUPHAR de receptores y canales iónicos. *Mesh*.
- Valverde, L., De Toledo, Z., & Popich, S. (1995). Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Zool. Lilloana*, 131-143.
- Villalobos , P. (1996). Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. *Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria*, 35 .
- Villamil , D., Naranjo, N., & Van Strahlen, M. (2012). Efecto Insecticida del Extracto de Semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Collaria scenica* Stal (Hemiptera: Miridae). *EntomoBrasilis*, 125-129.
- Vogel , H., Razmilic, I., & Doll, U. (1997). Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo (*Peumus boldus* Mol.). *Cienc. Investig. Agrar.*, 24(1):1-6.

Walter, W. (1995). Wax and Capsaicin based pesticide. *Wilder Agricultural Product Co Inc.*

Watanabe, K., & Shono, Y. (1996). New mosquito repellent from *Eucalyptus camaldulensis*.  
*J. Agric. FoodChem.* 41, 2164–2166.

ZAMORANO *et al.* (1996). Manejo Integrado de Plagas en el cultivo de maíz. 1era. Edición.  
*Boletin*, 77 p.

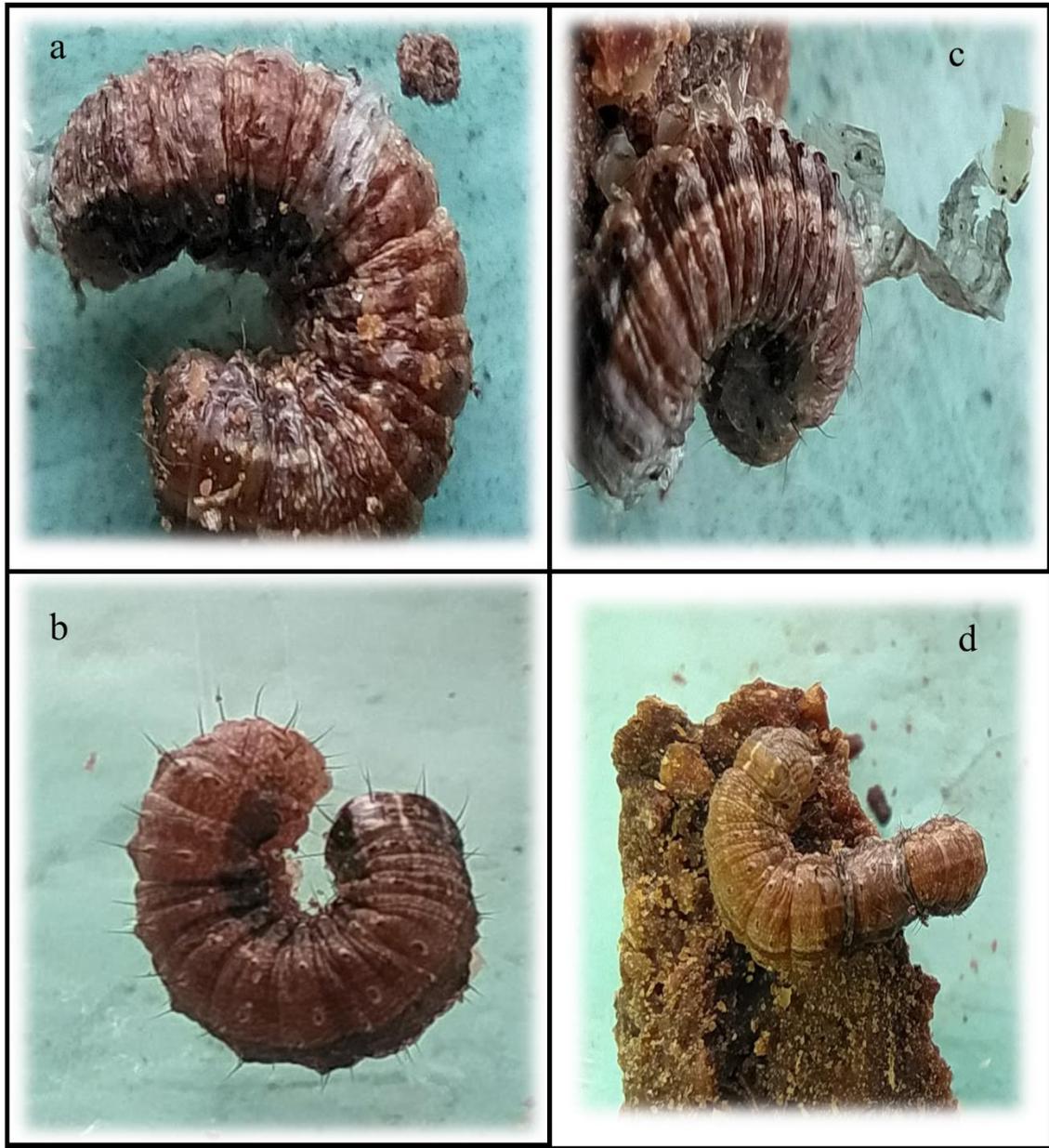
## X. ANEXOS



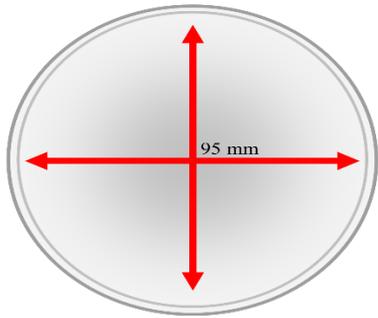
Proceso de elaboración de extractos botánicos: a) secado, b) triturado y c) pesado del material vegetal.



Proceso de selección de muestras: a) selección de especímenes, b) verificación de larvas y c) establecimiento del ensayo.



Efectos observados durante el ensayo: a) adherencia de cutícula al mudar, b) inmovilidad de la larva, c) desprendimiento cuticular, d) ahorcamiento de larva

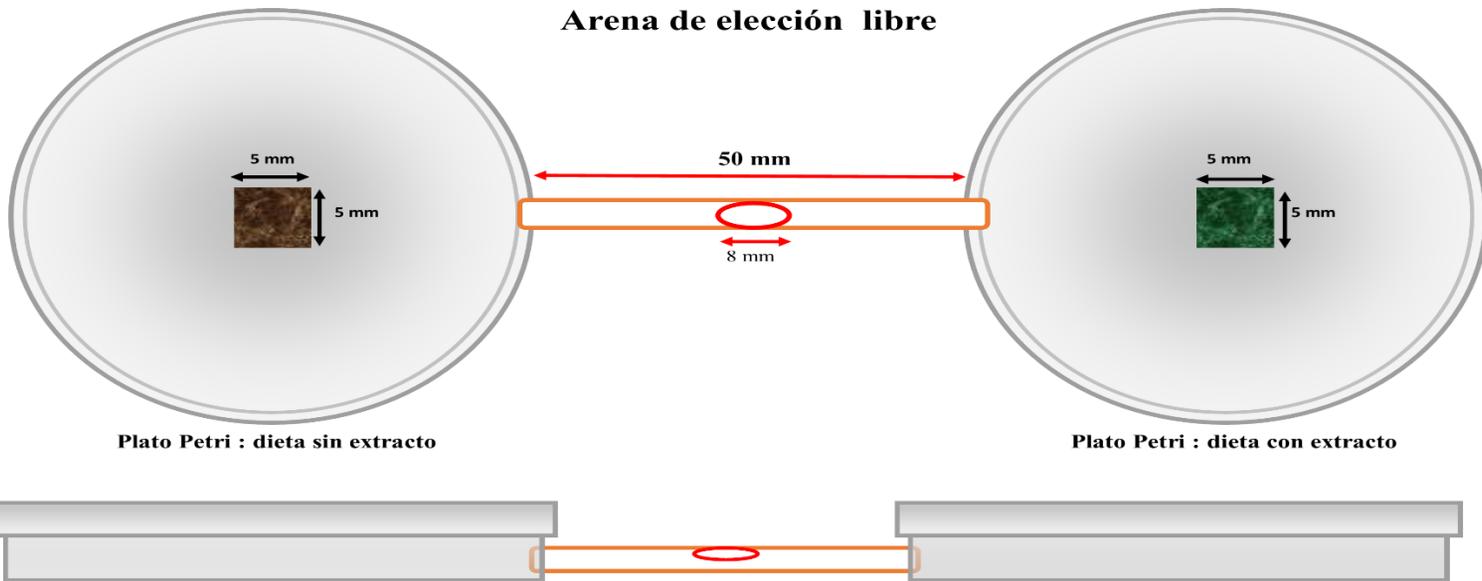


Plato Petri

Material: poliestireno estéril de baja densidad

Fabricante: FisherBrand

Cantidades: 10 platos por repetición



Esquema de arena de elección libre utilizada en el estudio