



UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

DIRECCION DE POSGRADO

MAESTRIA EN SANIDAD VEGETAL

MODALIDAD: PROYECTO FORMATIVO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

Título:

“Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero,
Spodoptera frugiperda, en condiciones de laboratorio”

Protocolo previo a la obtención del título de Magister en Sanidad Vegetal

Autor

Andrés Fernando Ramírez Cruz

Tutor

Mg.C. Richard Alcides Molina Álvarez.

LATACUNGA –ECUADOR

2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación "Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio" presentado por Ramirez Cruz Andrés Fernando, para optar por el título Magister en Sanidad Vegetal.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera de que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, Abril, 09, 2021



.....
Mg. C. Richard Alcides Molina Álvarez.
CC: 120597462-7

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio, ha sido revisado, aprobado y autorizado su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magister en Sanidad Vegetal ; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, Abril, 09, 2021



.....
Mg.C David Santiago Carrera Molina
050266318-0
Presidente Del Tribunal



.....
Mg.C. Guido Euclides Yauli Chicaiza
050160440-9
Lector 2



.....
Mg. C. Wilman Paolo Chasi Vizúete
050240972-5
Lector 3

DEDICATORIA

Agradezco primeramente a Dios por protegerme en el transcurso del camino y poder superar todos los obstáculos, así poder cumplir esta meta.

A mis padres Gisela y Wilfrido, que con su esfuerzo, trabajo, dedicación y consejos he logrado la mejor herencia que pudiera recibir.

A mi esposa Mónica Herrera Irazábal por su apoyo incondicional que me brinda día a día.

A mi Tutor, Richard Molina Entomólogo, por brindarme todo su apoyo intelectual y moral para que esta investigación logre su objetivo.

A los catedráticos de la unidad de Posgrado que en su difícil tarea de enseñar me brindaron sus experiencias y conocimientos desde el primer día de estudios.

Andrés Ramírez

AGRADECIMIENTO

Este trabajo de investigación involucra a personas muy importantes en mi vida, de manera muy especial a mi madre en recompensa de tanta dedicación esfuerzo, fe, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi hermana Anabel para que este logro le sirva como ejemplo a no rendirse jamás, que con esfuerzo todo se puede lograr.

El propósito que me planteo se ve reflejado en este trabajo, gracias de todo corazón a mi hijo Jeremías, es la inspiración que me permite luchar y cumplir objetivos.

“Andrés Jeremías Ramírez, hijo eres el motivo de mi existencia, recuerda que siempre cuentas conmigo”

Andrés Ramírez

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente trabajo de titulación.

Latacunga, Abril , 09, 2021



.....
Ing. Andrés Fernando Ramírez Cruz
070482767-4

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, Abril,09, 2021



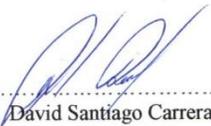
.....
Ing. Andrés Fernando Ramírez Cruz

070482767-4

AVAL DEL VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga, Abril,09, 2021


.....
Mg.C David Santiago Carrera Molina
050266318-0

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL

Título: Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio

Autor: Ramírez Cruz Andrés Fernando

Tutor: Mg. C. Richard Alcides Molina Álvarez.

RESUMEN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* afecta a nivel mundial, en el país, Ecuador se han registrados pérdidas que son causadas por este insecto. El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* es una de las principales plagas del cultivo maíz, y otros cultivos de importancia socioeconómica, su método de control comúnmente utilizado es el uso de productos altamente tóxicos para el ecosistema, además causan resistencia. Actualmente se hace imprescindible la búsqueda de alternativas de menor impacto ambiental, como de los extractos de plantas con propiedades insecticidas y microorganismos con capacidad entomopatógeno. En esta investigación se evaluó la efectividad de tres bio insecticidas; uno de origen botánico y 2 de origen microbiano a base de (Azadirachtina, *Bacillus thuringiensis* y *Metarhizium anisopliae*), en dos estadios larvales (tercero y quinto) en condiciones de laboratorio , las larvas de *S. frugiperda* fueron alimentadas con trozos de hoja de maíz y pedazos tiernos de mazorca, estas fueron tratadas con los productos New Bt®, Metanym® y Neem-X® dosis altas (3cc/l), ,dosis media (2 cc/l) , dosis baja (3cc/l) , evaluando a las 96 horas después de aplicado de los tratamientos, los resultados obtenidos mayor demuestran que la mayor eficacia recae para el tercer estadio de esta plaga gusano cogollero fue el New Bt® con dosis alta obteniendo un 86,7%. .De igual manera para el quinto estadio NEW BT® en dosis altas encontrándose efectivo con 73,3% de insectos muertos, el testigo se mantuvo sin efectos de control demostrando un adecuado manejo del experimento. .

PALABRAS CLAVE: *Spodoptera frugiperda*, *Azadirachtina*, *Bacillus thuringiensis* y *Metarhizium anisopliae*, Bioinsecticidas.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
POSTGRADUATE OFFICE

MASTER'S DEGREE IN PLANT HEALTH

THEME: "Evaluation of bioinsecticides to control the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, under laboratory conditions."

AUTHOR: Ramírez Cruz Andrés Fernando

TUTOR: Mg. C. Richard Alcides Molina Álvarez

ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* affects worldwide; there have been losses that this insect causes in Ecuador. The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* is one of the main pests of corn crops and other socioeconomic importance crops. The commonly used control method includes highly toxic products for the ecosystem, which causes resistance. Nowadays, the search for alternatives with less environmental impact is essential, like plant extracts with insecticidal properties and microorganisms with entomopathogenic capacity. The effectiveness of three bioinsecticides was evaluated in this research; one of botanical origin and 2 of microbial origin based on (*Azadirachtina*, *Bacillus thuringiensis*, and *Metarhizium anisopliae*), in two larval stages (third and fifth) under laboratory conditions. The larvae of *S. frugiperda* were fed with pieces of corn leaf and tender pieces of cob, these were treated with the products New Bt®, Metanym®, and Neem-X® high doses (3cc / l), medium dose (2 cc / l), low dose (3cc / l). The evaluation was carried out after 96 hours after applying the treatments; the higher results obtained show that the greater efficacy falls for the third stage of this plagal fall armyworm was the New Bt® with a high dose obtaining 86.7%. Similarly, for the fifth stage, NEW BT® in high doses was applied, which is effective with 73.3% of dead insects; the control remained without control effects, demonstrating adequate handling of the experiment.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, *Azadirachtina*, *Bacillus thuringiensis* and *Metarhizium anisopliae*, Bioinsectides.

Yo, **Collaguazo Vega Wilmer Patricio** con cédula de ciudadanía número: **1722417571** Licenciado en Ciencias de la Educación mención Inglés con número de registro de la SENESCYT: **1020-13-1198178**; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: "**Evaluación de bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio**" de **Ramírez Cruz Andrés Fernando** aspirante a Magister en Sanidad Vegetal.

Latacunga, Abril, 09, 2021


.....
Lcdo. Collaguazo Vega Wilmer Patricio Mg. C.
C.C. 1722417571

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Pertinencia académico-científica y social | 3 |
| 1.2. Justificación..... | 4 |
| 1.3. Formulación del problema | 5 |
| 1.4. Hipótesis..... | 7 |
| 1.5. Objetivos de la Investigación..... | 7 |
| 1.5.1. Objetivo General | 7 |
| 1.5.2. Objetivos específicos..... | 7 |
| CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEORICA | 9 |
| 2. Antecedentes..... | 9 |
| 2.1. Hongos entomopatógenos | 11 |
| 2.2. Descripción y biología de (<i>Spodoptera frugiperda</i>) | 14 |
| 2.2.1. Huevo | 14 |
| 2.2.2. Larva..... | 14 |
| 2.2.3. Adulto..... | 15 |
| 2.3. Distribución geográfica..... | 15 |
| 2.3.1. Daños e importancia económica..... | 16 |
| 2.4. Bioinsecticidas | 17 |
| 2.5. Tipos de bioinsecticidas a usar en la investigación..... | 18 |
| 2.5.1. Bioinsecticidas a base de Neen..... | 18 |

| | | |
|--|--|----|
| 2.5.2. | Bioinsecticidas a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> | 18 |
| CAPÍTULO III. METODOLOGÍA | | 22 |
| 3.1. | Tipo de Investigación..... | 22 |
| 3.2. | Métodos de Investigación | 22 |
| 3.2.1. | Fuentes de Recopilación de Información | 22 |
| 3.4. | Factores de Estudio | 23 |
| 3.6. | Diseño Experimental..... | 23 |
| 3.7. | Tratamientos..... | 24 |
| 3.8. | Manejo del Experimento | 24 |
| 3.9. | Diseño Experimental y Análisis Estadístico | 26 |
| 3.9.1. | Esquema del ADEVA..... | 27 |
| 3.9.2. | Datos Registrados y forma de Evaluación..... | 28 |
| 3.9.2.1. | Bioensayo con larvas del tercer instar del gusano cogollero | 28 |
| 3.9.2.2. | Eficacia de los bioinsecticidas | 28 |
| 3.9.2.3. | Bioensayo con larvas del quinto instar del gusano cogollero..... | 29 |
| CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | | 30 |
| 4.0. | Resultados | 30 |
| 4.1. | Numero de Insectos muertos a las 96 horas en tercer estadio del gusano cogollero..... | 30 |
| 4.2. | Numero de Insectos muertos a las 96 horas en quinto estadio del gusano cogollero..... | 34 |
| 4.2.1. | Eficacia de los insecticidas en el quinto estadio del gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>)..... | 36 |
| CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | | 38 |

| | |
|--------------------------------|----|
| 5.1. Conclusiones | 38 |
| 5.2. Recomendaciones..... | 38 |
| CAPITULO VI .BIBLIOGRAFIA..... | 39 |
| CAPITULO VII .ANEXOS | 49 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Arreglo factorial (3 X 3 +1)..... | 23 |
| Tabla 2. Tratamientos..... | 24 |
| <i>Tabla 3. Esquema del ADEVA</i> | 27 |
| Tabla 4. Especificaciones del experimento..... | 27 |
| Tabla 5. Número de insectos muertos en el tercer estadio del gusano cogollero(<i>Spodoptera frugiperda</i>) a las 96 horas después del tratamiento..... | 31 |
| Tabla 6. Numero de insectos muertos en el quinto estadio del gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>) a las 96 horas posteriores a la aplicación de los bioinsecticidas en condiciones de laboratorio..... | 35 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1. Efectividad de los bioinsecticidas con sus respectivas dosis investigados, en el control del gusano cogollero en su tercer estadio, en laboratorio | 33 |
| Gráfico 2. Efectividad de los bioinsecticidas con sus respectivas dosis investigados, en el control del gusano cogollero en su quinto estadio, en laboratorio. | 37 |

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera, Noctuidae), es un insecto considerado plaga primaria particularmente en cereales, dentro de estos el cultivo de maíz y secundario en arroz y pastizales (Polanía et al. 2007).

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) es conocida comúnmente como “cogollero del maíz” (derivado de su forma de daño más conocida) u “oruga militar tardía” ya que si el alimento se hace escaso, las larvas se trasladan a otros cultivos desplazándose en masa (Juárez et al. 2010).

S. frugiperda tiene un poder de aclimatación a diferentes condiciones permite que su distribución geográfica sea amplia, en donde está ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales. (Virla et al. 1999).

Esta especie está considerada como plaga primaria en el cultivo de maíz, pero también pueden atacar cultivos de algodón, sorgo, arroz, pastos y maní, entre otros (Merino et al. 2019).

La plaga *Spodoptera frugiperda*, también conocida como el “gusano cogollero del maíz”, “gusano trozador” o “palomilla de maíz”, está entre las más dañinas para varios cultivos. Su acción en campos de maíz ocasiona grandes pérdidas para el agricultor (Amaguaña y Isabel 2013).

El gusano cogollero causa una reducción en rendimiento de 8 hasta 50%, dependiendo de la edad de las plantas atacadas. Los agricultores que pueden hacer uso de plaguicidas usualmente realizan aplicaciones en forma regular para tratar de controlar el gusano cogollero. Sin embargo, de ese modo también eliminan los enemigos naturales del gusano cogollero, incrementan los costos de producción y suben los riesgos humanos de intoxicación por el uso continuo de insecticidas (Pedraza y Nuñez 2014).

El método de control comúnmente utilizado es el uso de sustancias químicas, las cuales desequilibran el ecosistema, destruyen organismos benéficos y permiten que la plaga desarrolle poblaciones resistentes a los insecticidas (Kelvin 2020)

El control biológico de plagas mediante el uso de insectos parásitos, predadores y patógenos, como hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoarios, así como el uso de feromonas o la utilización de sustancias a base de plantas o partes de ellas, en forma integrada con otras medidas de control, como cultural o legal, constituye una estrategia de manejo integrado de plagas dentro de un programa de agricultura sustentable.

Con el fin de disminuir el impacto ambiental derivado de medidas de protección de cultivos, es necesario estudiar nuevas alternativas para el control de *S. frugiperda*, que sean seguras para el ambiente y la salud humana y compatibles con las prácticas de manejo integrado de plagas. Una alternativa promisorio es el uso de agentes bio racionales, como los reguladores del crecimiento de insectos o compuestos derivados de origen natural (Zamora et al. 2008).

Los bio plaguicidas son eficaces en el control de plagas agrícolas, sin causar daños graves al ambiente o empeorar la contaminación del medio ambiente. La investigación y el desarrollo de su aplicación práctica en el campo se enfocan a mitigar la contaminación ambiental causada por residuos de plaguicidas químicos, aunque por su naturaleza biológica también promueven el desarrollo sustentable de la agricultura (Nava-Pérez et al. 2012).

Con base en estos antecedentes surge la necesidad de buscar otras alternativas de control del gusano cogollero. Así, en esta investigación se propuso evaluar el efecto de tres bioinsecticidas (*Azadirachtina*, *Bacillus thuringiensis* y *Metarhizium anisopliae*) para el control del gusano cogollero en condiciones de laboratorio.

1.1.Pertinencia académico-científica y social

El uso continuo e indiscriminado de productos químicos para el control de plagas agrícolas, pueden afectar el ecosistema produciendo daños irreversibles.

El uso de insecticidas de origen químico carente de asistencia técnica ha producido fuertes daños a la productividad de la agricultura, al ser humano y la naturaleza.

Entonces se hace impredecible el estudio de nuevas vías para el manejo de plagas (MIP) amigables con el medio ambiente, este interés genera la necesidad de evaluar el potencial insecticida de distintas materias activas de origen biológico.

Estudios previos han demostrado la eficacia de varios bioinsecticidas en el control de varias plagas en diferentes cultivos, lo cual abre la posibilidad de buscar alternativas no químicas para el manejo.

En el mundo se ha reportado que el insecto plaga más agresivo es el gusano cogollero es un defoliador, consume el follaje y daña el cogollo haciendo raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, troza tallos y mazorcas produciendo daños irreversibles, por lo que es necesario agentes alternativos de control se evaluó la acción control del hongo *Metarhizium anisopliae*, la bacteria *Bacillus thuringiensis*, y Azadiractina, sus interacciones en el control de *Spodoptera frugiperda*.

El presente trabajo se enmarca en la línea de investigación desarrollo y seguridad alimentaria la misma detalla que cuando se dispone de la alimentación requerida para mantener una vida saludable. El objetivo de esta línea será la investigación sobre productos, factores y procesos que faciliten el acceso de la comunidad a alimentos nutritivos e inocuos y supongan una mejora de la economía local , con la Sublínea producción agrícola sostenible.

1.2.Justificación

El proyecto se justifica en la Constitución de la República del Ecuador, Capítulo tercero Soberanía alimentaria 281 numeral 3 ,señala que la soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma permanente.

Fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria, promover la preservación y recuperación de la agro biodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella.

Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos.

La productividad de las plantaciones y por ende la economía de muchos agricultores se ve afectada por la pérdida de los cultivos provocada por una existencia de una constante relacionada entre el costo del control de la plaga y las pérdidas producidas por esta por lo que es más difícil establecer los umbrales de nivel o de daño económico.

El gusano cogollero se ha extendido cada vez más por todo el mundo en los últimos años, afectando a muchos países de África, el Cercano Oriente, Asia y el Pacífico. Como resultado de su rápida e inexorable propagación, la plaga pronto se convirtió en una amenaza para la seguridad alimentaria mundial y los medios de vida de millones de familias de pequeños agricultores en todo el mundo (FAO 2020).

Originario de América, está establecido en África, el Cercano Oriente, Asia y el Pacífico. La plaga se notificó mediante identificación morfológica en el sudeste asiático en 2008, y en Asia y África oriental entre 2013 y 2016. El diagnóstico molecular del gusano cogollero en África central y occidental se informó oficialmente a principios de 2016, mientras que los diagnósticos moleculares también confirmaron su presencia en Asia. ya en 2016. Entre 2016 y 2018, el gusano cogollero se confirmó rápidamente en todo el África subsahariana, excepto Lesotho. Entre 2018 y 2019, los

diagnósticos moleculares también confirmaron en Asia y el Cercano Oriente (FAO 2021).

El método de control comúnmente utilizado es el uso de sustancias químicas, las cuales desequilibran el ecosistema, destruyen organismos benéficos y permiten que la plaga desarrolle poblaciones resistentes a los insecticidas.

Al analizar el uso inadecuado y desmedido de materias químicas se hace necesario replantearse la manera como se manejan los sistemas agrícolas y buscar nuevas soluciones en el control de plagas.

El control biológico de plagas mediante el uso de insectos parásitos, predadores y patógenos, como hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoarios, así como el uso de feromonas o la utilización de sustancias a base de plantas o partes de ellas, en forma integrada con otras medidas de control, como cultural o legal, constituye una estrategia de manejo integrado de plagas dentro de un programa de agricultura sustentable.

Los bio plaguicidas se dividen en general en dos grandes grupos: agentes o plaguicidas microbianos, que incluyen las bacterias, hongos, virus y protozoos, y agentes o plaguicidas bioquímicos, que comprenden los atrayentes, hormonas, reguladores del crecimiento de plantas e insectos, enzimas y sustancias de señalización química, muy importantes en la relación planta insecto(Alfonso 2002).

Surge la necesidad de buscar otras alternativas de control del gusano cogollero. Así, en esta investigación, se evaluó el efecto de tres bioinsecticidas (*azadirachtina*, *Bacillus thuringiensis* y *Metarhizium anisopliae*) para el control del gusano cogollero en condiciones de laboratorio.

1.3.Formulación del problema

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) es conocida comúnmente como “cogollero del maíz” (derivado de su forma de daño más conocida) u “oruga militar tardía” ya que si el alimento se hace escaso, las larvas se trasladan a otros cultivos desplazándose en

masa (como un “regimiento”). Es el lepidóptero plaga del maíz (*Zea mays* L.) más importante.

Ataca este cultivo con niveles de densidad variables, pero siempre poniendo en riesgo la productividad del mismo. Cuando 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. *S. frugiperda* es un insecto polífago (Tejeda-Reyes et al. 2016).

El rendimiento de maíz amarillo duro entre el año 2010 y 2019 con semilla certificada es de 6.56 t/ha, la principal afectación al rendimiento fueron el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) la principal plaga identificada por el productor, la que afecto los cultivos (SIPA y Llive 2019).

En Ecuador, el gusano cogollero “*Spodoptera*” causa grandes pérdidas económicas; se estima que ataques severos de este lepidóptero (sobre el 20% de infestación) puede reducir entre un 10 y 60 % el rendimiento (Merino et al. 2019).

El daño de las larvas durante los primeros días de desarrollo de la planta (V1-V4) puede ser de dos tipos: 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 (Juárez et al. 2010).

A partir del II o III estadio larval, comienzan a perforar las hojas. 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 2020).

En la última parte de esta etapa 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.

Debido a su importancia en este cultivo, una de las estrategias en el control de este insecto, es el uso de insecticidas en donde los grupos químicos frecuentemente utilizados son organofosforados y piretroides (Tejeda-Reyes et al. 2016).

Frente a los peligros que ocasiona el uso continuo e indiscriminado de insecticidas en los cultivos agrícolas, surge la necesidad de buscar nuevas soluciones para un manejo integrado de plagas, principalmente por medio del uso de insecticidas de origen biológico, siendo este un método de control de plaga acorde con el desarrollo sustentable.

1.4. Hipótesis

Ho: Al menos el uso de un bioinsecticidas controla al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

Hi: El uso de bioinsecticidas no controla al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

1.5. Objetivos de la Investigación

1.5.1. Objetivo General

Evaluar tres bioinsecticidas, utilizando tres dosis en el tercero y el quinto estadio larvario del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* en condiciones controladas.

1.5.2. Objetivos específicos

Comparar tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*.

Evaluar la mejor dosis de tres bioinsecticidas para el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* en el tercero y quinto estadio larvario.

Observar cuál es el estadio larvario más susceptible del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* a bioinsecticidas.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEORICA

2. Antecedentes

El maíz es uno de los cereales utilizados por el hombre desde épocas remotas y una de las especies vegetales más productivas, tanto en su producción global -cerca de 600 millones de toneladas por año- como en su productividad -mas de 4 t/ha. Su centro de origen está en México desde donde se difundió a todo el mundo después del primer viaje de Cristóbal Colón a fines del siglo XV. Su difusión fue mas rápida en las zonas templadas en las cuales representa cerca del 40 % del área cosechada y el 60% de la producción mundial(Paliwal et al. 2001).

El Ecuador cuenta con una superficie de 361.347 ha de maíz duro cultivado, una producción de 1215.192 Tm con rendimientos de 3,68 Tm/ha en promedio. Las provincias con mayor producción a nivel nacional son Los Ríos 56 % Guayas 19 %, Manabí 10 % y Loja 8% (Brito et al. 2018).

En la sierra del Ecuador el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) es uno de los más importantes debido a la superficie sembrada y al papel que cumple en la seguridad y soberanía alimentaria, al ser un componente básico de la dieta de la población rural. La superficie sembrada de maíz suave para el año 2020 fue de 74 961 ha, con un promedio de 3,36 t/ha en choclo y 1,07 en grano seco(Peñaherrera et al. 2020).

El grano es uno de los productos básicos en la dieta alimenticia de la población ecuatoriana el consumo per cápita de maíz suave aproximadamente alcanza de 14,50 kg/año por persona(Navas 2019).

El gusano cogollero es una plaga polífaga que ataca seriamente a los cultivos no solo en el litoral ecuatoriano sino a nivel mundial, atribuyéndosele la causa de perdidas más representativas en cuanto a fitófagos se refiere. A fin de reducir los daños causados por el cogollero, se ha dependido intensivamente de los insecticidas, cuya efectividad ha sido baja en ocasión como consecuencia de una aplicación tardía al cultivo. Además, esto ha producido contaminación ambiental, así como resistencia de las plagas (Suarez 2015).

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) es conocida comúnmente como “cogollero del maíz” (derivado de su forma de daño más conocida) u “oruga militar tardía” ya que, si el alimento se hace escaso, las larvas se trasladan a otros cultivos desplazándose en masa (como un “regimiento”). Ataca este cultivo con niveles de densidad variables, pero siempre poniendo en riesgo la productividad del mismo. Cuando 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. *S. frugiperda* es un insecto polífago que ocasiona numerosas pérdidas en diversos cultivos (Juárez et al. 2010).

El principal problema fitosanitario de esta gramínea es la plaga comúnmente conocida como “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae). Esta plaga ocurre en toda la etapa del crecimiento inicial de la planta (Vásquez et al. 2002).

Se presenta en poblaciones elevadas, sobre todo en siembras extemporáneas, perfora el tallo de las plantas a la altura del cuello de la raíz, con lo que provoca el marchitamiento de la planta; también actúa como barrenador del tallo de la planta y daña los estigmas, las espigas, y el elote. Infestaciones y daño severo de la plaga pueden reducir el rendimiento en porcentajes superiores al 30%. El gusano cogollero puede estar presente durante la mayor parte del desarrollo del cultivo, pero el daño más importante lo ocasiona de la emergencia a la emisión del jilote y el daño es mayor entre menor sea la edad de la planta (Gutierrez 2012).

Al inicio del siglo XX, de acuerdo con Flint y Van den Bosch (1981), había cinco enfoques del control de plagas de uso común: 1) control biológico, 2) control mecánico y físico, 3) control cultural, 4) control químico, y 5) uso de variedades resistentes (Lopez 2008).

El desarrollo del control biológico, se define como una práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga frecuentemente mediante el uso de sus enemigos naturales, los hongos entomopatógenos son los primeros agentes biológicos en ser utilizados para el control

de plagas, estos son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos (Delgado y Ordoñez 2011).

2.1.Hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes de control, ya que constituyen un grupo con más de 750 especies que al dispersarse en el ambiente provocan infecciones fúngicas en las poblaciones de insectos. Estos hongos inician su proceso infectivo cuando las esporas son retenidas en la superficie del integumento, donde se inicia la formación del tubo germinativo, comenzando el hongo a excretar enzimas como las proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas y lipooxigenasas. Estas enzimas degradan la cutícula del insecto y coadyuvan con el proceso de penetración por presión mecánica iniciado por el apresorio, que es una estructura especializada formada en el tubo germinativo. Una vez dentro del insecto, el hongo se desarrolla como cuerpos hifales que se van diseminando a través del hemocele e invaden diversos tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias y hemocitos, ocasionando la muerte del insecto después de 3 a 14 días de iniciada la infección. Una vez muerto el insecto y ya agotados muchos de los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento micelar e invade todos los órganos del hospedero. Finalmente, las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie, donde en condiciones ambientales apropiadas inician la formación de nuevas esporas (Pucheta Díaz et al. 2006).

Particularmente, los hongos han sido una de las mejores alternativas para el control de plagas en los últimos años. Más de 750 especies de hongos se han documentado infectando insectos, entre los hongos más utilizados como insecticidas biológicos se incluye a *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae*. Aproximadamente el 80% de las enfermedades que se producen en los insectos tienen como agente causal un hongo (Castillo 2012).

2.1.1. *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis es una bacteria gram-positiva usada como el ingrediente activo para la agricultura en los insecticidas biológicos y para el control de vectores de enfermedades como son los mosquitos y moscas negras en el caso de la variedad israelensis. La bacteria forma endosporas y su actividad bioinsecticidas radica en una proteína parasporal o cuerpo de inclusión (Estibaliz 2004).

Las toxinas Cry son producidas por la bacteria Gram-positiva *Bacillus thuringiensis*. Estas proteínas con propiedades tóxicas para algunos insectos plaga son altamente específicas y se conocen como toxinas Cry, ya que se acumulan en forma de cristales. El empleo de *B. thuringiensis* tiene muchos beneficios; ya que, las proteínas Cry son altamente específicas, biodegradables, inocuas para los humanos y efectivas contra muchas de las plagas más importantes en la agricultura (Bravo et al. 2004).

El efecto de *B. thuringiensis* es lento pero progresivo, debido a que el insecto muere por una entrada masiva de agua, por lo cual el sistema digestivo se paraliza, las células epiteliales se lisan y el pH estomacal se baja por compensación con el pH sanguíneo. Al bajar el pH hace posible que las esporas bacteriales germinen y la bacteria pueda invadir el huésped causando una septicemia letal y daños en los tejidos; generalmente los insectos intoxicados mueren por ayuno y posterior detención del crecimiento (Jojoa y Salazar 2010).

La formación de poros interrumpe los gradientes iónicos y el equilibrio osmótico en la membrana apical, lo que produce inflamación y lisis celular. Este fenómeno conduce a la destrucción masiva del epitelio, provocando la muerte de la larva (Polanczyk et al. 2000).

2.1.2. *Metarhizium anisopliae*

El desarrollo de la enfermedad en el insecto esta dividido en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo, que generalmente resulta en la muerte del insecto (Téllez-Jurado et al. 2009).

El proceso de adhesión de la espora a la cutícula del insecto, está mediado por la presencia de moléculas sintetizadas por el hongo denominadas adhesinas. En el entomopatógeno *Metharizium anisopliae* se ha descrito un tipo de adhesina denominada MAP1 la cual se localiza en la superficie de los conidios. La expresión heteróloga de MAP1 en *Saccharomyces cerevisiae* le confiere a la levadura membranosas de la cutícula., el mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Téllez-Jurado et al. 2009).

La mortalidad de larvas de gusano cogollero, mediante la utilización de *Metarhizium* nativo, ocurrió a las 72 hrs, donde se registró el mayor índice de mortalidad para cada uno de los tratamientos (TL50). La concentración de 1/10 (53×10^4 con/mL) causó mayor mortalidad con 29 larvas, equivalentes al 72.5% del total de la población correspondiente a este tratamiento; teniendo diferencias significativas con las demás concentraciones. Estudios en laboratorio realizados por Lezama *et al.*, han demostrado que *S. frugiperda* es susceptible al hongo *M. anisopliae* en los estados biológicos de huevo y larva, con porcentajes de mortalidad de 100% y valores de TL50 (Amaro y Parraguirre 2018).

2.1.3. Azadiractina

Azadiractina, un tetranortriterpenoide del árbol del nim *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), es uno de los derivados más importantes de plantas usados en el control de insectos plaga (Adel y Sehnal 2000).

Este compuesto tiene propiedades antialimentarias y causa esterilidad en los insectos debido a que altera la concentración de los ecdisteroides y de la hormona juvenil (Schneider et al. 2004).

El efecto anti alimentario producido por los extractos es altamente variable en las distintas especies de plagas; aún para aquéllas donde la supresión de la alimentación aparece como una contribución principal para la protección de los cultivos, la

respuesta puede ser alcanzada a partir del efecto tóxico post ingestivo en vez de un comportamiento directo. En el caso de larvas de *S. frugiperda* L2, los bioensayos realizados con extractos intracelulares de *A. indica* cultivados a 25 °C y oscuridad, mostraron un alto porcentaje de efecto anti alimentario (Tafur et al. 2007).

2.2.Descripción y biología de (*Spodoptera frugiperda*)

Dependiendo de las temperaturas el ciclo completo de la plaga puede durar entre 30 y 70 días, siendo más corto en condiciones de mayor temperatura y viceversa. En cada generación, el ciclo de la plaga está dividido en cuatro estados. La duración de los mismos varía: (i) Como pupa (apenas enterradas en el suelo o sobre los rastrojos), dura entre 6-13 días; (ii) como adulto, 6 a 20 días; (iii) como huevo, entre 2-5 días y, (iv) como larva, entre 17 a 32 días (en esta etapa pasa por 6 a 9 estadíos) (ASA 2012).

Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tiene diferentes etapas (Santos et al. 2011).

2.2.1. Huevo

Son de forma globosa, con estrías radiales, de color rosa pálido que se toma gris a medida que se aproxima la eclosión. Las hembras depositan los huevos continuamente durante las primeras horas de la noche, tanto en el haz como en el envés de las hojas. Estos son puestos en varios grupos o masas cubiertas por segregaciones del aparato bucal y escamas de su cuerpo (Alvarado 2015).

2.2.2. Larva

Al nacer se alimentan del corean (cubierta protectora del huevecillo) más tarde se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo. Pasa normalmente por seis instares, independientemente de la temperatura, pudiéndose observar con frecuencia individuos que completan dicha fase en cinco o siete instares, y en menor proporción, con números más extremos (4 u 8 instares) en la medida que la temperatura se hace menos adecuada (Lopez 2008).

Por otra parte, los pináculos setíferos del octavo segmento abdominal se alinean como cuatro puntos negros que forman un cuadrado, en vista dorsal (Lopez 2008).

Las larvas por lo general son activas de noche y de día, estas atacan a la planta de maíz como cortadoras, defoliadoras y cogolleros según el momento de su desarrollo, y producen daños directos al cultivo produciendo pérdidas económicas cuantiosas (Galeas 2015).

Para disminuir el impacto ambiental derivado del uso de insecticidas, control de plagas de insectos que causen problemas de importancia económica se hace necesaria la búsqueda de estrategias alternativas para el control (Carmona 2002).

2.2.3. Adulto

La mariposa vuela con facilidad durante la noche, siendo atraída por la luz; es de coloración gris oscura. En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo 14 agudo que les permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax. Permanecen escondidas dentro de las hojarascas, entre las malezas o en otros sitios sombreados durante el día y son activas al atardecer o durante la noche cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia, especialmente cuando soplan vientos muy fuertes (Negrete y Morales 2003).

2.3.Distribución geográfica

Este insecto es una de las plagas más importantes que azota al maíz en el continente americano, pues causa destrozos desde la etapa de plántula temprana hasta la pre madurez. Es posible encontrar especies muy afines en África y Asia(Ortega C y Alejandro 1987).

El gusano cogollero afecta al maíz especialmente en las regiones tropicales y subtropicales de América, en el país Ecuador se han registrados pérdidas que son causadas por este insecto los daños que ocasiona van entre el 13% al el 60%. (SIPA y Llive 2019).

La distribución es bastante amplia ocurre en todas las zonas productoras del maíz. Este gusano no solo afecta al cultivo de maíz, también involucra a otras gramíneas como sorgo, arroz y algunas leguminosas como frejol, soya (Guayasamín 2019).

2.3.1. Daños e importancia económica

Las larvas, al emerger del huevo, empiezan a alimentarse de la planta hospedera; primero del parénquima de la hoja y posteriormente se dirigen hacia el cogollo de la planta, hasta completar 6 estadios larvales.

S. frugiperda requiere un porcentaje aproximado de 14,000 mm cuadrados de pasto para alcanzar el sexto estadio; estos valores relativos son repartidos en 0.1,0.6,1.1,4.7,16.3 y 77.2, del primero al sexto estadio. Lo anterior muestra que los primeros tres estadios consumen menos de un 2 % del área total del follaje que consume una larva, por lo que, si se controla en esta etapa, causa daños menores a la planta, sin afectar su rendimiento(Luginbill 2000).

De manera general, el daño puede manifestarse en la forma de raspado e ingestión de la epidermis superior y del mesófilo de las hojas, muy evidente cuando se presenta en plantas jóvenes, y es ocasionado por larvas pequeñas, dejando sólo la epidermis inferior, la cual, mientras permanece, le confiere una apariencia translúcida y que, al caerse, deja en la superficie de las hojas unas pequeñas "ventanas" de forma irregular. Es un daño visualmente impactante, sobre todo en el caso de ataques por parte de poblaciones altas del insecto, pero de escasa o ninguna significación económica (Lopez 2008).

El ataque a la espiga la realizan cuando esta tierna y aún se encuentra envuelta por las hojas; los gusanos la devoran en su mayor parte, cuando llega a su desarrollo completo y emerge del tallo, produce poca cantidad de polen, lo que da lugar a que los elotes no se llenen bien de grano y se tenga un bajo rendimiento. El porcentaje de plantas atacadas en la espiga y el cogollo varía de 48 % a 50 % en ocasiones puede ser hasta de 100 %.(Polanía et al. 2007).

De la misma forma, se ha tratado de determinar el número de larvas por planta que causan daño económico a la cosecha, la presencia de 0.2 larvas por planta, lo que corresponde a una larva por cada 5 plantas con 4 hojas visibles; 0.5 larvas por planta (1 larva por cada 2 plantas) con 12 hojas visibles y 1 larva por planta en etapa de floración, en Ecuador se ha encontrado que, el 14% de infestación a las dos semanas de edad de la planta y 50% a las seis semanas son considerados como niveles económicos de daño; con 20 reducciones en la producción hasta de un 22.6% (Negrete y Morales 2003).

2.4. Bioinsecticidas

Un bioinsecticida se puede definir como un organismo vivo (hongo, bacteria, virus), capaz de matar a los insectos. También puede ser una sustancia química, que, estando presente en una determinada planta, puede repeler o matar a los insectos.

Uno de los aspectos salientes de los insecticidas biológicos, es su estrecho rango de acción (alta especificidad), lo que les permite controlar las poblaciones de interés sin afectar a las demás. Se ha observado que el empleo de los mismos no produce desarrollo de resistencia, estimándose que, de llegar a detectarse, la aparición de la misma - sería mucho más lenta que la presentada por los insecticidas químicos (Cantu y Pérez 2012).

2.4.1. Ventajas de uso de bioinsecticidas

Los bioinsecticidas a base de hongos entomopatógenos HE (*B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus*) han demostrado efectividad para el control de diversas plagas que atacan estos cultivos (García Gutiérrez y González Maldonado 2010).

El control cuando funciona posee muchas ventajas, entre las que se pueden destacar como lo menciona (Martin 2017).

Poco o ningún efecto nocivo colateral de los enemigos naturales hacia otros organismos incluido el hombre.

La resistencia de las plagas al control biológico es muy rara.

El control biológico con frecuencia es a largo término pero permanente.

El tratamiento con insecticidas es eliminado de forma sustancial.

La relación coste/beneficio es muy favorable.

Evita plagas secundarias.

No existen problemas con intoxicaciones.

2.5. Tipos de bioinsecticidas a usar en la investigación.

2.5.1. Bioinsecticidas a base de Neen

2.5.1.1. NEEM-X ®

Es un producto de acción sistémica; se absorbe rápidamente por las hojas reduciendo las pérdidas a causa del lavado por las lluvias, también es absorbido por las raíces de la planta. Es un producto ecológico con importante acción nematocida, perteneciente al grupo de origen botánico, muy apropiado para esquemas fitosanitarios de manejo integrado de plagas (Vademécum Agrícola 2016).

2.5.1.2. Mecanismo De Acción

NEEM-X 0.40 EC® tiene un mecanismo de acción por ingestión y contacto. Actúa como un potente regulador de crecimiento mediante el bloqueo de la síntesis de la hormona juvenil ecdysona producida por el insecto y que regula los cambios fisiológicos responsables de la metamorfosis (muda). Al eclosionar los huevos, las larvas, ninfas o pupas no pasan a su estado adulto y mueren (Castro 2016).

2.5.2. Bioinsecticidas a base de *Bacillus thuringiensis*

2.5.2.1. NEW BT 2X®

NEW BT-2X® es un insecticida de origen biológico a base de la cepa de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*, diseñado para el control eficiente de insectos lepidópteros que se encuentran en estadios larvales L1 y L2 en cultivos anuales y perennes, sin afectar insectos benéficos (Castro 2016).

2.5.2.2.Mecanismo De Acción

Una vez que NEW BT-2X® es ingerido por la larva, produce parálisis del aparato bucal e intestino deteniendo la alimentación del insecto, además cambia sus sitios normales de alimentación a las superficies expuestas de las hojas donde se vuelve presa fácil de predadores y parásitos. Posteriormente se produce una parálisis total del cuerpo del insecto, se decolora, muestra regurgitación, diarrea y finalmente muere a los 3-5 días después de la aplicación dependiendo de la especie y desarrollo de la larva (Castro 2016).

2.5.3. Bioinsecticidas a base de Metarrhizium anisopliae

2.5.3.1.METANYM®

Bioinsecticida a base de cepas y toxinas de infección de Metarrhizium anisopliae BCS256 - BCS259, Metarrhizium anisopliae var. anisopliae, M. flavoviride, Metarrhizium sp. BCS 976, seleccionadas en función de su elevada virulencia y capacidad de expresión de metabolitos microbianos relacionados con todos los procesos patológicos letales de insectos. Tanto las células vivas como los principios bioquímicos fungales intervienen efectivamente sobre la plaga por medio de estructuras de infección entomofungales o por principios activos de síntesis direccionada (Vademécum Agrícola 2016).

- Regulador de poblaciones de insectos plaga.
- Restaurador metabólico vegetal. • Inductor natural de resistencia vegetal.
- Promovedor y compensador productivo.
- Moderador de estrés en afecciones de plagas

2.5.3.2.Modo De Acción De Metanym

METANYM® contiene y se expresa patológicamente en insectos por medio de esporas virulentas metabolitos insecticidas fungales (MIF) bioactivos, que participan en procesos de infección durante los primeros eventos moleculares de reconocimiento en la superficie de la pared celular. De esta forma facilitan la entrada de micelio

infectivo y del resto de compuestos insecticidas para inferir en posteriores eventos parasitarios. Una vez iniciados los procesos de infección ,reprime la expresión del sistema defensivo de la plaga por medio de anticoagulantes y análogos artificiales de interferencia nerviosa, finalmente coadyuvan el colapso fisiológico del insecto (Castro 2016).

2.6.Crianza *Spodoptera frugiperda*

El uso de dietas artificiales para cría experimental o semi masal de *Spodoptera frugiperda* es importante para el desarrollo de diversas investigaciones biológicas. El costo de los componentes de una dieta determinan la factibilidad de los estudios en los países en desarrollo (Murúa et al. 2003).

En las crías masivas, la disponibilidad de alimento para los insectos tiene una profunda influencia en el crecimiento, desarrollo, reproducción, fisiología y o que comienzan a formar el capullo. Los adultos eran ubicados, formando parejas, en jaulas cilíndricas de PET (polietileno-tereftalato) de 30 cm de longitud y 10 cm de diámetro que contenían un pedazo de papel plegado para permitir el reposo y la oviposición de los individuos. Para favorecer la aireación, uno de los extremos de la jaula estaba cubierto por una tela tipo muselina. Los ejemplares adultos fueron alimentados con una solución de agua y miel de abejas (1:1 vol/vol), la cual era proporcionada embebiendo trozos de algodón ubicados en contenedores de 1,5 cm de longitud y 2 cm de diámetro. Diariamente se extraían las posturas para depositarlas en tubos de vidrio conteniendo aproximadamente 1 ml de dieta artificial. Debido al comportamiento caníbal que presentan las larvas comportamiento (Murúa et al. 2003)

El principal objetivo de la crianza masiva de insectos es producir económicamente tanto hospedantes como parásitos y así tener homogeneidad para realizar investigaciones en laboratorio (Kivett 2002).

Es condición indispensable que las dietas artificiales cuenten con todos los elementos necesarios que permitan el normal desarrollo de la especie a utilizar en los bioensayos, pero el costo de su elaboración es importante al momento de elegir las., para la cría experimental de *S. frugiperda* se emplean varias dietas artificiales; la mayor parte de estas son elaboradas teniendo como base harinas, soja, maíz, alfalfa, germen de trigo, entre otros, adicionadas con distintos complejos vitamínicos e importantes cantidades de agar de alta pureza (Murúa et al. 2003).

Se ha evaluado el desempeño de *S. frugiperda* alimentada con maíz e higuierilla. El tiempo de desarrollo de larvas y el total de larva a emergencia del adulto fueron iguales estadísticamente ($\alpha=0.05$); pero, la pupación para los individuos alimentados con higuierilla fue más lenta, la longevidad de los adultos fue estadísticamente igual para ambos tratamientos. La supervivencia de larvas y pupas fue similar, en maíz 11.44% de las masas son grandes y 21.02% en higuierilla. La eclosión fue mayor cuando las hembras se alimentaron con maíz. Estos resultados muestran la factibilidad de la cría de *S. frugiperda* con higuierilla, sin dejar de un lado con hojas de maíz (Martínez-Martínez et al. 2015).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de Investigación

Se realizó una investigación tipo experimental, manejando diferentes tratamientos para evaluar el efecto de la aplicación de tres bioinsecticidas utilizando tres dosis sobre dos estadios larvarios del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* en condiciones controladas.

3.2. Métodos de Investigación

Se utilizó el método deductivo partiendo de información de diferentes fuentes sobre el efecto de bioinsecticidas para de este modo determinar el bioinsecticida y la dosis más eficaz para controlar el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* en condiciones controladas.

3.2.1. Fuentes de Recopilación de Información

Para poder realizar este proyecto de investigación se recopiló información de fuentes primarias mediante la observación directa en el experimento y evaluación de distintas variables dependientes. Además, se recurrió a fuentes secundarias como libros, repositorios científicos, tesis de grado y posgrado, fichas técnicas, vademécum agrícola.

3.3. Materiales

Bandeja pre- germinadoras

Probeta

Bandejas Plásticas

Vasos Plásticos y de vidrio

Tool

Ligas de caucho

Cajas Petri

Pinzas

Ejemplares de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*

Bioinsecticida NEEM X®, Ingrediente activo Azadirachtina

Bioinsecticida NEW BT®, ingrediente activo Bacillus thuringiensis var. kurstaki

Bioinsecticida METANYM® ingrediente activo Metarhizium anisopliae

3.4. Factores de Estudio

Factor 1: Tres bioinsecticidas (A, B y C)

Factor 2: en Tres dosis (Alta 3.0 cc/l, Media 2.5 cc/l y Baja 2.0 cc/l)

3.5. Área de investigación

El experimento se efectuó en la finca “Poza”, ubicada en la zona de La Mana, Provincia de Cotopaxi, el predio está situado entre las coordenadas 697767,9902133 a una altitud de 128 msnm. El suelo es de topografía plana, textura franca-arcillo-limosa, con pH de 5.9 y drenaje regular.

3.6. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de (3 x 3 + 1).

Tabla 1 Arreglo factorial (3 X 3 +1)

| Factor 1 | Factor 2 | ANIDADO | TRATAMIENTO |
|----------------|-------------|---------|-------------|
| BX BY BZ | A M B | BXA | T1 |
| | | BXM | T2 |
| | | BXB | T3 |
| | | BYA | T4 |
| | | BYM | T5 |
| | | BYB | T6 |
| | | BZA | T7 |
| | | BZM | T8 |
| | | BZB | T9 |
| | | TESTGO | T10 |

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

3.7.Tratamientos

Tabla 2. Tratamientos

| N° | PRODUCTO | | DOSIS cc/L agua |
|----|------------------|------------------------|--------------------|
| | Nombre comercial | Ingrediente activo | |
| 1 | NEEM-X® | Azadiractina | 2.0 |
| 2 | NEEM-X® | Azadiractina | 2.5 |
| 3 | NEEM-X® | Azadiractina | 3.0 |
| 4 | METANYM® | Metarhizium anisopliae | 2.0 |
| 5 | METANYM® | Metarhizium anisopliae | 2.5 |
| 6 | METANYM® | Metarhizium anisopliae | 3.0 |
| 7 | NEW BT® | Bacillus thuringiensis | 2.0 |
| 8 | NEW BT® | Bacillus thuringiensis | 2.5 |
| 9 | NEW BT® | Bacillus thuringiensis | 3.0 |
| 10 | Testigo | Agua destilada | ----- |

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

3.8.Manejo del Experimento

3.8.1. Recolección *Spodoptera frugiperda*

El desarrollo de la investigación estuvo conformado por dos fases. En la primera etapa se efectuaron colectas manuales de larvas del gusano cogollero en plantaciones de maíz en la fase de crecimiento vegetativo, específicamente en plantas que presentaban signos de defoliaciones y restos de excrementos del gusano plaga. Las

larvas fueron transferidas e individualizadas en un recipiente plástico rectangular (jaula) en la que previamente se había colocado hojas de maíz tierno como alimento.

Esta metodología se asemeja a la utilizada fue tomada en la investigación donde se efectuó colectas manuales de los insectos en plantaciones de maíz, específicamente sobre aquellas plantas que presentaban en las hojas apicales signos de defoliación y restos de excrementos del gusano plaga, dichas larvas fueron transportadas hasta el Laboratorio de Biocontroladores del CIB-ITCR, Cartago. (Chacón-Castro et al. 2009).

3.8.2. Establecimiento Pie de cría

Las larvas del gusano cogollero fueron alimentadas con hojas tiernas y con rodajas de choclo cambiadas cada dos días , hasta que completen su desarrollo larval y se transformen en pupa. Las pupas fueron colocadas sobre papel toalla humedecido en un envase plástico y se las colocó dentro de una jaula entomológica (tubo de PVC de 4 pulgadas de diámetro y 20 cm de largo), en el interior del tubo se forró con papel despacho para facilitar la retirada de las posturas y el extremo superior se cubrió con tela tul y una liga hasta que emerjan los adultos , siguiendo la metodología de (Alvarado 2015).

Los adultos *S. frugiperda* fueron alimentados con una solución de miel de maíz al 10%, continuamente se cambiaba el alimento para prevenir la fermentación, a medida que se evidenciaban las posturas, estas se retiraban recortando el papel que las contenía y se disponían en jaulas entomológicas a las que se les agregó una porción de algodón húmedo para evitar la deshidratación ,la metodología de (Cedeño 2020).

Una vez que se estableció el pie de cría y con la disponibilidad de larvas homogéneas del gusano cogollero se comenzó a la segunda etapa de la investigación que consistió en la aplicación de los bioinsecticidas en dos estadios larvales (3er. y 5to. estadios) del gusano cogollero en dos espacios diferentes para evitar la interferencia de la aplicación en las poblaciones de diferente crecimiento, de igual manera como lo utilizo (Kivett 2002).

3.8.3. Aplicación de Bioinsecticidas

El procedimiento que se utilizó para evaluar la eficacia de los bioinsecticidas sobre las larvas del tercero y quinto estadio del gusano cogollero fue el siguiente:

Las larvas se expusieron a pedazos de hozas de maíz de 5 cm², previamente tratadas por inmersión en la suspensión de la dosis del bioinsecticidas a evaluar, el tratamiento testigo consistió en ofrecer como alimento a las larvas en estudio pedazos de hojas de maíz sumergidos en agua destilada estéril, como lo recomienda (Cáceres y Mena 2014).

El tiempo que las larvas permanecieron en contacto con las hojas contaminadas fueron 24,48 y 96 horas, esto se recomienda por estudios anteriores donde mencionan que la mortalidad de las larvas se incrementa conforme al aumento de la concentración del producto, y el tiempo, de donde los tratamientos se estabiliza es a las 96 horas el cual alcanza mayor porcentaje de mortalidad larval (Díaz 2016).

Esto se realizó con larvas del 3ro y 5to estadio del gusano, diariamente se efectuaron observaciones para registrar los cambios o la mortalidad de las larvas en estudio, en dos espacios diferentes para evitar la interferencia de la aplicación en las poblaciones de diferente crecimiento, esto lo recomienda (Budía et al. 1994) donde realizó en laboratorio ensayos preliminares para determinar la efectividad del insecticida agonista de la hormona de la muda RH-5992 (3,5-acidodimetilbenzoico 1-(1,1-dimetiletil)-2-(4-etilbenzoil) hidracida) en *Spodoptera exigua*. A larvas de primero, tercero y quinto estadio larvario en laboratorio (Budía et al. 1994).

3.9. Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Para efectuar esta investigación se utilizó un experimento factorial 3 x 3 +1, con tres repeticiones, bajo un diseño de bloques completamente al azar (DCA). Todas las variables en estudio fueron sometidas al análisis de varianza (ADEVA) y para la comparación de las medias de tratamientos se utilizó la prueba de Tukey al 95% de probabilidad. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó programa “R” y el paquete estadístico ExpDes.pt.

3.9.1. Esquema del ADEVA

Tabla 3. Esquema del ADEVA

| Fuente de variación | Grados de libertad |
|-----------------------|--------------------|
| Tratamientos | 9 |
| Bioinsecticidas | 2 |
| Dosis | 2 |
| Bioinsecticidas*Dosis | 4 |
| Residuo | 1 |
| Error | 20 |
| Total | 29 |

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

3.9.1.1. Especificaciones del Experimento

Tabla 4. Especificaciones del experimento

| | |
|---|-----|
| Número de repeticiones: | 3 |
| Número de tratamientos: | 10 |
| Número de unidades experimentales: | 30 |
| Número de larvas por tratamiento: | 10 |
| Número de larvas por repetición: | 100 |
| Total, de larvas del Tercer estadio: | 300 |
| Total, de larvas del Quinto estadio: | 300 |
| Total, de larvas evaluadas en el proyecto de investigación: | 600 |

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

3.9.2. Datos Registrados y forma de Evaluación

3.9.2.1. Bioensayo con larvas del tercer instar del gusano cogollero

En cada tratamiento se registró el número total de larvas muertas por tratamiento a las 24, 48 y 96 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas, totalizando el conteo de insectos controlados, este sugerido de evaluación del Bioensayos, que concluyen que el tiempo óptimo de evaluación de los tratamientos es desde las 96 y 120 horas porque en ese tiempo el porcentaje de mortalidad larval se estabiliza (Solange 2015).

Se consideró una larva muerta cuando no respondía al estímulo causado por un pincel en el dorso de la misma, esto a la metodología utilizada por Medina, donde considera como larva muerta aquella que no presentó movimiento ni capacidad de reacción al estímulo de un toque con una aguja (Medina 2017).

3.9.2.2. Eficacia de los bioinsecticidas

Se estableció el grado de efectividad de cada tratamiento ajustado con el testigo y aplicando de la fórmula de Henderson-Tilton's (Henderson y TILTON 1955).

$$\% \text{ Eficacia} = \{1 - [N_t \times N_0'] / (N_0 \times N_t')\} \times 100$$

N_t : N° Individuos en el testigo antes del tratamiento

N_t' : N° individuos de los tratamientos antes de la aplicación

N_0 : N° Individuos en el testigo después de la aplicación

N_0' : N° Individuos en los tratamientos después de la aplicación

Esta fórmula de igual manera utilizada en la investigación de efecto bioplaguicida de extractos vegetales para el control de *Spodoptera frugiperda* cuales porcentajes de eficacia de las seis especies vegetales y sus mezclas fueron representativos (>80 %), de acuerdo con Henderson y Tilton (Figuroa et al. 2019).

3.9.2.3. Bioensayo con larvas del quinto instar del gusano cogollero

Número de larvas muertas a las 48, 72 y 96 horas después de la aplicación de los tratamientos

En cada tratamiento se registró el número total de larvas muertas por tratamiento a las 24, 48 y 96 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas. Se consideró una larva muerta cuando no respondía al estímulo causado por un pincel en el dorso de la misma., siguiendo la metodología igual que la evaluación del tercer instar.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.0.Resultados

4.1.Numero de Insectos muertos a las 96 horas en tercer estadio del gusano cogollero

En la tabla 5 se presentan los promedios de insectos muertos 96 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas al evaluar el gusano cogollero en el tercer estadio; siendo el coeficiente de variación 11,48, Según la prueba de Tukey al 95% de probabilidad con la aplicación de NEW BT® con 7,44 insectos muertos, estadísticamente igual al METANYM® alcanzo 7,22 superiores a NEEM-X® que registro un promedio de 5,33 larvas muertas.

Las interacciones de NEW BT® y METANYM® estadísticamente igual en dosis alta mostraron 8,67 y 8,0 insectos muertos superior a los demás tratamientos que mostraron 7,33, a 3,67, numero de insectos muertos en el tercer estadio del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a las 96 horas posteriores a la aplicación de los bioinsecticidas en condiciones de laboratorio.

Estudios indican que con la aplicación de extractos de botánicos, en un programa de manejo de insectos plaga, disminuye la incidencia de larvas en porcentajes adecuados de control. El producto con Azadirachtina indica en dosis de 1,0 L ha⁻¹, disminuye las poblaciones de *Spodoptera* y *Elasmopalpus*, en épocas oportunas de control. Los producto a base de bacterias y hongos, como New bt (*Bacillus thuringiensis*) y Custom GP (*Trichoderma harzianum*) tiene una acción lenta de control, observándose mejor control sobre los cuatro días posteriores a la aplicación (Ortiz et al. 2017).

El coeficiente de variación obtenido fue de 11,5%, lo cual concuerda con lo reportado por Dulmage et al., citado por Gallegos (1990), y Diaz (2016), donde menciona que para validar un bioensayo, el coeficiente de variación debe ser menos o igual al 20% (Díaz 2016).

A nivel laboratorio, se han obtenido resultados con *Metarhizium* sp. M2 y *Metarhizium* sp. M9. Esta última causó el 60% de mortalidad al infectar larvas del

tercer instar de *S. frugiperda* por medio de la técnica de aspersión. Se concluyó que los entomopatógenos estudiados constituyen una posible alternativa para el manejo del cogollero del maíz y se espera establecer el tipo de interacción que pueda presentarse entre los mismos (Pulido y Felipe 2020).

*Tabla 5. Número de insectos muertos en el tercer estadio del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a las 96 horas después del tratamiento*

| Tratamientos | Promedios¹ |
|--|------------------------------|
| Bioinsecticidas | |
| NEEM X ® | 5,33 b |
| METANYM ® | 7,22 a |
| NEW BT ® | 7,44 a |
| Testigo | 0,67 c |
| C.V. (%) | 11,48 |
| Interacciones Bioinsecticidas x Dosis | |
| T1: NEEM-X®+Dosis alta | 7,33 ab |
| T2: NEEM-X®+Dosis Media | 5,00 bc |
| T3: NEEM-X®+ Dosis Baja | 3,67 c |
| T4: METANYM®+Dosis Alta | 8,00 a |
| T5: METANYM®+Dosis Media | 7,00 ab |
| T6: METANYM®+Dosis Baja | 6,67 ab |
| T7: NEW BT®+Dosis Alta | 8,67 a |
| T8: NEW BT®+Dosis Media | 7,33 ab |
| T9: NEW BT®+Dosis Baja | 6,33 ab |
| T10: Agua /Testigo) | 0,67 d |
| C.V. (%) | 15,05 |
| Dosis | |
| Alta | 8,00 a |
| Media | 6,40 b |
| Baja | 5,60 b |
| Testigo | 0,67 c |
| C.V. (%) | 7,00 |

* Promedios con la misma letra en cada grupo no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 95 % de probabilidad.

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

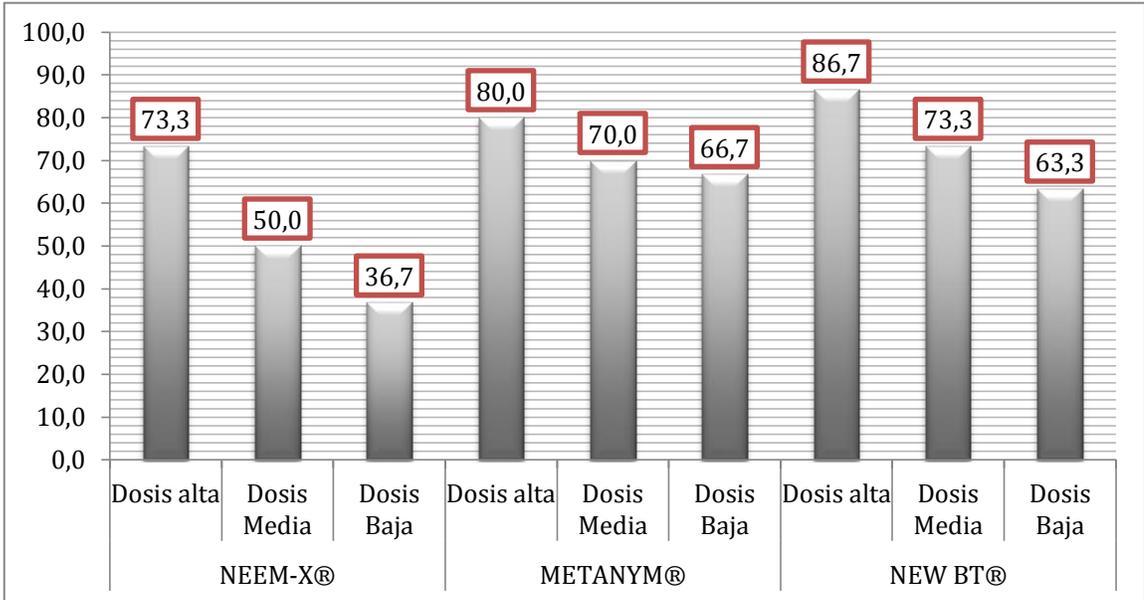
4.1.1. Eficacia de los bioinsecticidas en el tercer estadio del gusano

En el gráfico.1 se presenta la efectividad de los bioinsecticidas investigados, en el control del gusano cogollero en su tercer estadio, en laboratorio; según la fórmula de Henderson- Titon's la cual relaciona la sobrevivencia del testigo y de los tratamientos, encontrándose que el Bioinsecticida más efectivo fue NEW BT® con dosis alta ingrediente activo (*Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*) obteniendo un 86,7%. En los demás tratamientos la efectividad está comprendida entre 80,0% y 36,7% que corresponden a los tratamientos con Metanym ® y Neem-X® con dosis alta (3,0 cm³/l), media (2,5.0 cm³/l) y baja (2,0 cm³/l).

Estudios demuestran que la mejor eficiencia en control de las larvas de *S. frugiperda* se encuentra aplicando, *Bacillus thuringiensis* efectuada la aplicación del Bioinsecticida entomopatógeno *B. thuringiensis* a larvas de *S. frugiperda* y evaluados hasta las 192 horas, se registró el 60% de insectos muertos para la dosis Alta (25 ccl - 1), seguidos por las dosis Media y Baja con un 50 y 40% respectivamente (Mora y Alfredo 2020).

Esto se asemeja a lo mencionado por (Farah y Cecilia 2012) en que el bioinsecticida de mayor efecto en el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz fue BIOBIT(*Bacillus thuringiensis*, var. *Kurstaki*), seguido de BIOESPORE 2. Los tratamientos aplicados T1: BIOBIT y T2: BIOESPORE para el control de *Spodoptera frugiperda* obtuvieron los menores porcentajes de incidencia con 15,12 % y 9,25 % respectivamente. En lo referente la porcentaje de severidad *Spodoptera frugiperda* el mejor control se obtuvo con los tratamientos T1: BIOBIT y T2: BIOESPORE con promedios de 8,35 % y 7,50 % (Farah y Cecilia 2012).

Gráfico 1. Efectividad de los bioinsecticidas con sus respectivas dosis investigados, en el control del gusano cogollero en su tercer estadio, en laboratorio



Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

4.2. Numero de Insectos muertos a las 96 horas en quinto estadio del gusano cogollero

En la tabla 6, se presentan los promedios de insectos muertos 96 horas después de la aplicación de los bioinsecticidas al evaluar el gusano cogollero en el quinto estadio; Según la prueba de Tukey al 95% de probabilidad con la aplicación de NEW BT® se registraron 5,11 sin diferir estadísticamente a los tratamientos de METANYM® y NEEM-X® presentan 4,44 y 4,22 insectos muertos en el quinto estadio del cogollero.

Las interacción de NEW BT® en dosis alta presento 7,33 insectos muertos estadísticamente iguales a METANYM® y NEEM-X® en dosis altas presentaron valores entre 6,33 a 6,37, numero de insectos muertos en el quinto estadio del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a las 96 horas posteriores a la aplicación de los bioinsecticidas en condiciones de laboratorio.

Esto con cuerda con trabajos evaluados a las 96 horas con el entomopatógeno *B. thuringiensis* y *M. anisopliae* comenzaron a hacer efecto sobre las larvas de *S. frugiperda* con 2 y 1 larvas muertas respectivamente, así lo afirma (Morales et al. 2010)

De igual manera en su investigación de Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), los entomopatógenos a base de hongos actúan a partir de las 96 horas o cuarto día (Mora y Alfredo 2020).

En estudio relacionados, se determinó la concentración letal media para larvas de quinto instar de *S. frugiperda* con la cepa HD1 de *B. thuringiensis* la cual fue de $5,88 \times 10^{-7}$ mg/ml de dieta y En lo concerniente al tiempo de evaluación del Bioensayo, se concluye que el tiempo óptimo de evaluación de los tratamientos es desde las 96 y 120 horas porque en ese tiempo el porcentaje de mortalidad larval se estabiliza (Solange 2015)

Tabla 6. Numero de insectos muertos en el quinto estadio del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) a las 96 horas posteriores a la aplicación de los bioinsecticidas en condiciones de laboratorio.

| Tratamientos | Promedios¹ |
|--------------------------|------------------------------|
| Bioinsecticidas | |
| NEEM X ® | 4,22 a |
| METANYM ® | 4,44 a |
| NEW BT® | 5,11 a |
| Testigo | 0,33 b |
| C.V. (%) | 14,90% |
| Interacciones | |
| T1: NEEM-X®+Dosis alta | 6,67 a |
| T2: NEEM-X®+Dosis Media | 4,33 b |
| T3: NEEM-X®+ Dosis Baja | 1,67 cd |
| T4: METANYM®+Dosis Alta | 6,33 a |
| T5: METANYM®+Dosis Media | 4,33 b |
| T6: METANYM®+Dosis Baja | 2,67 bc |
| T7: NEW BT®+Dosis Alta | 7,33 a |
| T8: NEW BT®+Dosis Media | 4,00 b |
| T9: NEW BT®+Dosis Baja | 4,00 b |
| T10: Agua /Testigo) | 0,33 d |
| C.V. (%) | 16,40% |
| Dosis | |
| Alta | 6,78 a |
| Media | 4,22 b |
| Baja | 2,78 c |
| Testigo | 0,33 d |
| C.V. (%) | 11,60% |

* Promedios con la misma letra en cada grupo no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 95 % de probabilidad.

Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

4.2.1. Eficacia de los insecticidas en el quinto estadio del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

En el Grafico 2 se presenta la efectividad de los bioinsecticidas investigados, en el control del gusano cogollero en su quinto estadio, según la fórmula de Henderson-Titon's la cual relaciona la sobrevivencia del testigo y de los tratamientos, encontrándose que el más efectivo con 73,3% fue el tratamiento con New BT2X® ingrediente activo (*Bacillus Thuringiensis var kurstaki*) con dosis alta.

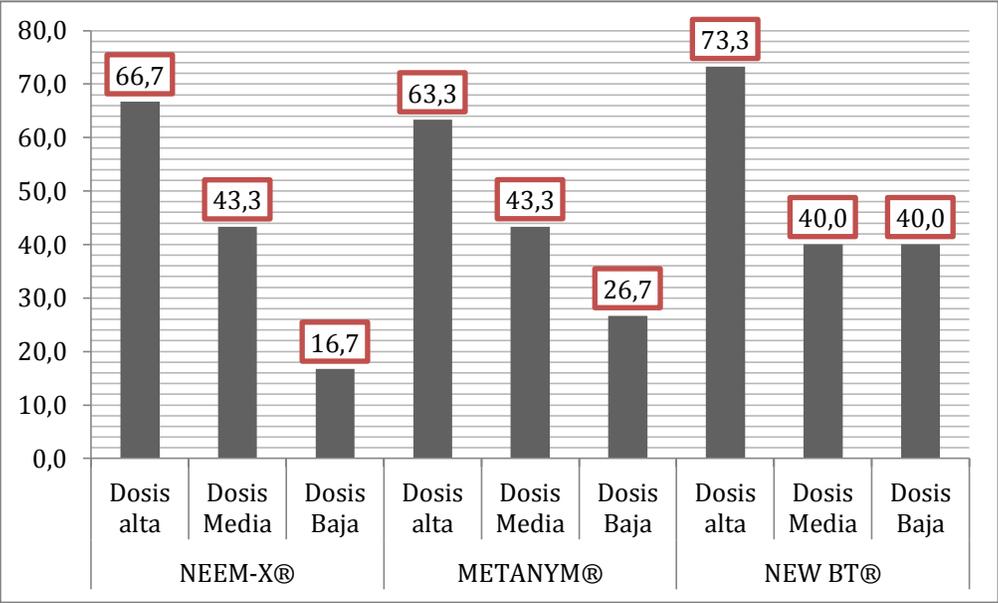
Estos datos se aproximan a la investigaciones donde la mayor mortalidad lo registró *B. bassiana* en dosis Alta con un total de 9.00 insectos muertos al final de la investigación, haciendo el 90% de su control, en igualdad estadística con *M. anisopliae* que registró 7.00(Mora y Alfredo 2020)

(Herrera, 2015) menciona en su investigación que evalúa el índice de mortalidad con diferentes dosis de *B. bassiana* y la mejor dosis obtiene 9.7 insectos muertos al final de la investigación (Herrera-Mesén 2005).

Según (Purwar y Sachan 2005) ellos realizaron ensayos de hongos entomógenos, de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, para el control de oruga del tabaco, *Spodoptera litura* y *Spilarctia obliqua*, e indicaron que la actividad disminuyó con el avance de la edad de las larvas.

Lo mencionan en otras investigaciones el endurecimiento de la cutícula y aumento de la inmunidad humoral a las infecciones microbianas, ya que a pesar de usar productos comerciales de *Bauveria bassiana* con dosis altas en larvas de avanzado estadios obtuvieron una mortalidad de 49.33% (Hanco Quispe 2019)

Gráfico 2. Efectividad de los bioinsecticidas con sus respectivas dosis investigados, en el control del gusano cogollero en su quinto estadio, en laboratorio.



Elaborado por: Andrés Fernando Ramírez Cruz

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

La mayor tasa de mortalidad se presentó con el Bioinsecticida NEW BT®, en interacción con la dosis alta (3 cc/L. agua), registrándose 86,7 y 73,3% de mortalidad en larvas del tercer y quinto instar del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*.

En todos los bioinsecticidas, la mayor mortalidad se produjo con dosis alta (3 cc/L. agua), alcanzando 8,0 % de mortalidad en larvas del tercer instar y 6,78 % en larvas del quinto instar.

En la investigación determinamos que con el producto NEW BT y a dosis alta 3cc/l controla al gusano cogollero en el tercer estadio larval de igual manera con la misma dosis y el mencionado producto pero con una menor eficiencia, esto debido a que los constituyentes químicos de los insectos cambian la cutícula gradualmente con el avance en la edad de las larvas, que resultan en el endurecimiento de la cutícula y aumento de la inmunidad humoral a las infecciones microbianas.

5.2. Recomendaciones

Probar mayor amplitud de dosis con los bioinsecticidas estudiados

Probar en el control de otras especies de insectos plaga

Incluir nuevas formulaciones comerciales de biocontroladores

Comprobar su sensibilidad a los bioinsecticidas estudiados y su frecuencia de aplicación en todos los estadios larvales

Determinar la eficacia de estos bioinsecticidas en condiciones de campo.

Efectuar el análisis económico para determinar la factibilidad del uso de estos bioinsecticidas en el control del gusano cogollero

CAPITULO VI .BIBLIOGRAFIA

Adel, MM; Sehnal, F. 2000. Azadirachtin potentiates the action of ecdysteroid agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis* (en línea). *Journal of Insect Physiology* 46(3):267-274. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(99\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(99)00179-1).

Alfonso, M. 2002. Los plaguicidas botánicos y su importancia en la agricultura orgánica. - Google Search (en línea). s.l., s.e. Consultado 28 mar. 2021. Disponible en https://www.google.com/search?q=Alfonso%2C+M.+2002.+Los+plaguicidas+bot%C3%A1nicos+y+su+importancia+en+la+agricultura+org%C3%A1nica.&rlz=1C1CHBF_esEC853EC853&oq=Alfonso%2C+M.+2002.+Los+plaguicidas+bot%C3%A1nicos+y+su+importancia+en+la+agricultura+org%C3%A1nica.&aqs=chrome..69i57&sourceid=chrome&ie=UTF-8.

Alvarado, P. 2015. Descripción etológica del gusano cogollero del cultivo de maíz (*zea mays* l.), en laboratorio.ceasa, sector Salache, provincia de Cotopaxi 2015 (en línea). Consultado 17 nov. 2019. Disponible en <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2523>.

Amaguaña, C; Isabel, L. 2013. Control de gusano cogollero (*spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*zea mays* l.) (en línea) (En accepted: 2013-04-11t14:47:46z). Consultado 28 mar. 2021. Disponible en <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/3174>.

Amaro, L; Parraguirre, C. 2018. Evaluación de mortalidad de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* L.) con el uso de *Metarhizium anisopliae* in vitro Evaluatio (en línea). Centro de Agroecología ICUAP-BUAP :6. Consultado 29 mar. 2021. Disponible en http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:kLDD_7turjIJ:cadernos.aba-agroecologia.org.br/index.php/cadernos/article/download/1335/1745/+&cd=1&hl=en&ct=clnk&gl=ec.

ASA. 2012. MANEJO DE GUSANO COGOLLERO EN CULTIVOS DE MAÍZ (en línea). Disponible en

http://www.pioneer.com/CMRoot/international/Argentina_Intl/AGRONOMIA/MAN_EJO_DE_GUSANO_COGOLLERO_EN_MAIZ.pdf.

Bravo, A; Gómez, I; Conde, J; Muñoz-Garay, C; Sánchez, J; Miranda, R; Zhuang, M; Gill, SS; Soberón, M. 2004. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains (en línea). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1667(1):38-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.013>.

Brito, OEG; Manssur, FAG; León, JE. 2018. La Evaluación del control biológico de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz (en línea). *Journal of Science and Research: Revista Ciencia e Investigación* 3(11):18-23. Consultado 21 ene. 2021. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7355010>.

Budia, F; Marco-Mancebón, V; Viñuela, E. 1994. Estudios preliminares de los efectos del insecticida RH-5992 sobre larvas de distintas edades de *Spodoptera exigua* (Hübner). *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, ISSN 0213-6910, Vol. 20, N° 2, 1994, pags. 401-408 .

Cáceres, LRD; Mena, EFG. 2014. Control de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) con extractos de *Polygonum hydropiperoides* Michx (Ka'atái) en condiciones de laboratorio (en línea). *Investigación Agraria* 14(1):5-9. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en <http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/241>.

Capinera, JL. 2020. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae) (en línea, sitio web). Consultado 28 mar. 2021. Disponible en <https://edis.ifas.ufl.edu/in255>.

Carmona, A. 2002. CEPA DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICA A *Spodoptera frugiperda*. 14:8.

Castillo, M. 2012. CONTROL DE INSECTOS-PLAGA EN LA AGRICULTURA UTILIZANDO HONGOS ENTOMOPATOGENOS: RETOS Y PERSPECTIVAS

(en línea). Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila Volumen 4:8. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en <https://pdfcoffee.com/control-de-insectos-plaga-en-la-agricultura-utilizando-hongos-entomopatogenos-retos-y-perspectivas-pdf-free.html>.

Castro, L. 2016. Vademécum Agrícola 2016 (en línea). 14 ed. Ecuador, Edifarm. Consultado 31 mar. 2021. Disponible en <https://isbn.cloud/9789942906335/vademecum-agricola-edifarm-2016/>.

Cedeño, L. 2020. Determinación del ciclo de vida del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), y el barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*), de maíz en condiciones controladas. (en línea) (En accepted: 2021-01-29t17:23:34z). Quevedo, UTEQ :72. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6061>.

Chacón-Castro, Y; Garita-Rojas, C; Vaglio-Cedeño, C; Villalba-Velásquez, V. 2009. Desarrollo de una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como posible hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola (en línea). Revista Tecnología en Marcha 22(4):pág. 28. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/123.

Delgado, P; Ordoñez, B. 2011. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas (en línea). Universidade de Taubaté Brasil 6:77-90. Disponible en (<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.187>).

Díaz, J. 2016. Acción de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), como control biológico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Lepidoptera: Noctuidae (en línea). Temas Agrarios 21(2):86-91. DOI: <https://doi.org/10.21897/rta.v21i2.904>.

Escobar, R; Trapero-Casas, A; Domínguez, J. 2010. Experimentación en Agricultura. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla, Secretaría General Técnica Servicio de Publicaciones y Divulgación. 350 p.

Estibaliz, R. 2004. *Bacillus thuringiensis*: una alternativa biotecnológica a los insecticidas (en línea). Universidad Autónoma de Puebla, México . Consultado 2 sep. 2020. Disponible en

<https://www.comprendamos.org/alephzero/29/bacillusthuring.html>.

FAO. 2020. Acción mundial para el control del gusano cogollero: marco de acción 2020-2022: Trabajando juntos para dominar la amenaza global (en línea). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy, FAO. 50 p. DOI: <https://doi.org/10.4060/ca9252es>.

_____. 2021. Fall Armyworm Control in Action Newsletter. Roma, s.e. p. 5.

Farah, Z; Cecilia, R. 2012. Influencia de dos bioinsecticidas comerciales a base *Bacillus thuringiensis* y un inhibidor de quitina en el control de cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo del maíz (*Zea mays* L.) opaco malpaso en la zona de La Yarada – Región Tacna (en línea) (En accepted: 2018-04-18t15:53:24z). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann . Consultado 3 abr. 2021. Disponible en <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1808>.

Figueroa, A; Castro, E; Castro, H. 2019. Bioplaguicide Effect of Vegetal Extracts to Control of *Spodoptera frugiperda* in Corn Crop (*Zea mays*) (en línea). *Acta Biologica Colombiana* 24:58-66. DOI: <https://doi.org/10.15446/abc.v24n1.69333>.

Galeas, J. 2015. Efecto sobre la reproducción en hembras de *Spodoptera frugiperda* cuyas larva fueron tratadas con alta dosis de Clorpirifos y Metomyl. :90.

García Gutiérrez, C; González Maldonado, MB. 2010. Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales (en línea). *Ra Ximhai* :17-22. DOI: <https://doi.org/10.35197/rx.06.01.2010.03.cg>.

Guayasamín, CEB. 2019. Evaluación de la tolerancia del cultivo de maíz (*Zea mays*) al ataque del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) sometido a diferentes frecuencias de control químico durante la época seca en la zona de Mocache. :86.

Gutierrez, C. 2012. USO DE ENEMIGOS NATURALES Y BIORRACIONALES PARA EL CONTROL DE PLAGAS DE MAÍZ. 8.

Hanco Quispe, EM. 2019. Efectividad de tres Cepas de Hongos Entomopatogenos del Cepario del Laboratorio de Entomología y proteccion vegetal, sobre la larva de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en condiciones de laboratorio Arequipa - 2017.

Henderson, ChasF; TILTON, ElvinW. 1955. Tests with Acaricides against the Brown Wheat Mite¹² (en línea). *Journal of Economic Entomology* 48(2):157-161. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/48.2.157>.

Herrera-Mesén, JR. 2005. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de dos especies de moscas de la fruta. (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*), bajo condiciones de laboratorio (en línea) (En accepted: 2009-06-17t21:11:56z). . Consultado 3 abr. 2021. Disponible en <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/462>.

Jojoa, C; Salazar, C. 2010. EVALUACIÓN In vitro DE INSECTICIDAS BIORRACIONALES PARA EL CONTROL DE *Agrotis ipsilon* Hüfnagel. Colombia, s.e.:53-63.

Juárez, ML; Socías, MG; Murúa, MG; Prieto, S; Medina, S; Willink, E. 2010. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). :24.

Kelvin, G. 2020. “Descripción de los principales métodos de control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz (*Zea mays* L) en la zona de Babahoyo, provincia de Los Ríos (en línea). s.l., UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO. Disponible en <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/8516/E-UTB-FACIAGING%20AGROP-000113.pdf?sequence=1>.

Kivett, GJB. 2002. Estudios de la crianza masiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera : Noctuidae) en laboratorio. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana 19:32.

Lopez, J. 2008. Selección artificial para el gusano cogollero *Spodopterafrugiperda* (J.E. Smith) con el virus sjnpv y efectividad biologica en campo en combinación con un abrillantador óptico. :71.

Luginbill, P. 2000. The fall armyworm. U.S. Dep. Agri, s.e., vol.34.

Martin, VP. 2017. Bioinsecticidas Bioinsecticidas. :24.

Martínez-Martínez, L; Padilla-Cortes, E; Jarquín-López, R; Sánchez-García, JA; Cisneros-Palacios, ME. 2015. (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ALIMENTADO CON MAÍZ E HIGUERILLA. 2:7.

Medina, A. 2017. Efecto del ataque de nemátodos entomopatógenos nativos del género *Steinernema* sobre el gusado cortador de la papa (*Agrotis bilitura* Guenée) en condiciones de laboratorio (en línea) (En accepted: 2018-11-19t16:24:20z). antiago, Chile: Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Agronómicas . Consultado 4 abr. 2021. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/152704>.

Merino, EPC; Quillay, N; Bravo, C. 2019. Identificación molecular por PCR del gusano cogollero en el Sur del Ecuador (en línea). *Maskana* 10(1):41-45. Consultado 28 mar. 2021. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7133956>.

Mora, J; Alfredo, Y. 2020. “Evaluación de tres bioinsecticidas entomopatógenos para el control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), en condiciones controladas”. (en línea) (En accepted: 2021-01-29t20:11:16z). . Consultado 3 abr. 2021. Disponible en <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6068>.

_____. 2020. “Evaluación de tres bioinsecticidas entomopatógenos para el control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del cultivo de maíz (*Zea mays*), en condiciones controladas”. (en línea) (En accepted: 2021-01-29t20:11:16z). . Consultado 3 abr. 2021. Disponible en <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6068>.

Morales, P; Noguera, Y; Escalona, E; Fonseca, O; Rosales, C; Salas, B; Ramos, F; Sandoval, E. 2010. LARVAL SURVIVAL OF *Spodoptera frugiperda* Smith. 60:6.

Murúa, MG; Defagó, VH; Virla, EG. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) destinada a mantener

poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides (en línea) (En accepted: 2018-07-17t20:55:52z). . Consultado 1 abr. 2021. Disponible en <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/52530>.

Nava-Pérez, E; García-Gutiérrez, C; Camacho-Báez, JR; Vázquez-Montoya, EL. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas (en línea). *Ra Ximhai* :17-30. DOI: <https://doi.org/10.35197/rx.08.03.e2.2012.03.en>.

Navas, E. 2019. “Identificación de las principales plagas del cultivo del maíz suave (*Zea mays* L.) en la parroquia de Eugenio Espejo, Otavalo, Imbabura.” (en línea). s.l., UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO. Disponible en <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6416/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000185.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Negrete, F; Morales, J. 2003. MANEJO DEL GUSANO COGOLLERO DEL MAIZ (*Spodoptera frugiperda*.Smith). :26.

Ortega C; Alejandro. 1987. Insectos nocivos del maíz: una guía para su identificación en el campo. Mexico D.F., CIMMYT.

Ortiz, TL; Navarrete, EC; Arteaga, CC; Aragoné, DS; Vásquez, GG; Castro, OM; Vélez, MU; Cabezas, MG. 2017. Evaluación de Extractos Vegetales y Bioinsecticidas Sobre Poblaciones de *Spodoptera frugiperda* y *Elasmopalpus lignosellus* en Maíz (en línea). *European Scientific Journal*, ESJ 13(21):238. DOI: <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n21p238>.

Paliwal, RL; Granados, G; Lafitte, HR; Violic, AD. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Rome, s.e., (Colección FAO, no. Nr. 28). 376 p.

Pedraza, WJ; Nuñez, JM. 2014. *Telenomus remus* Nixon: un parasitoide en el control biológico del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (en línea). <https://bdigital.zamorano.edu> Revista CEIBA;Vol.40, No.2:13. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/3296?mode=simple>.

Peñaherrera, D; Merchán, M; Yáñez, C; Zambrano, JL; Racines, M; Sangoquiza C, C. 2020. Guía para facilitar el aprendizaje sobre manejo integrado de maíz de altura

(*Zea mays* L.) (en línea). s.l., Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina 2020. Consultado 29 mar. 2021. Disponible en <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5581>.

Polanczyk, RA; Silva, RFP da; Fiuza, LM. 2000. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (en línea). *Brazilian Journal of Microbiology* 31(3):164-166. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000300003>.

Polanía, IZ de; Arévalo, HA; Mejía, R. 2007. El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas (en línea). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(1):103-113. DOI: <https://doi.org/10.17584/rcch.2007v1i1.1149>.

Pucheta Díaz, M; Flores Macías, A; Rodríguez Navarro, S; de la Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos (en línea). *Interciencia* 31(12):856-860. Consultado 4 abr. 2021. Disponible en http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-18442006001200006&lng=es&nrm=iso&tlng=en.

Pulido, P; Felipe, A. 2020. Evaluación in vitro de *Metarhizium* spp. y *Steinernema carpocapsae* BC como agentes de control biológico del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae) (en línea) (En accepted: 2020-07-07t16:42:26z). Consultado 3 abr. 2021. Disponible en <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/50272>.

Purwar, J; Sachan, G. 2005. Biotoxicidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* contra *Spodoptera litura* y *Spilarctia obliqua*. *Annals of Plant Protection Sciences*. India, s.e., vol.13.

Santos, CV; Cruz, I; Silva, RB da; Figueiredo, M de LC; Castro, ALG de; Sousa, LPSP de. 2011. 12541 - Estágios imaturos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentada com plantas de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em diferentes concentrações de composto orgânico (en línea). *Cadernos de*

Agroecologia 6(2). Consultado 2 sep. 2020. Disponible en <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/12541>.

Schneider, MI; Smagghe, G; Pineda, S; Viñuela, E. 2004. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator* (en línea). *Biological Control* 31(2):189-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.04.013>.

SIPA; Llive, F. 2019. Informe de rendimientos objetivos de maíz amarillo duro 2019 (en línea). Ministerio de Agricultura y Ganadería. :8. Disponible en http://sipa.agricultura.gob.ec/descargas/estudios/rendimientos/maiz/rendimiento_maiz_duro_2019.pdf.

Solange, C. 2015. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Heliothis virescens*, en condiciones de laboratorio. (en línea) (En accepted: 2016-11-07t16:41:22z). Universidad Nacional de Trujillo . Consultado 2 abr. 2021. Disponible en <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4534>.

Suarez, M. 2015. Uso de bioinsecticidas en el control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*Zea mays* l) en condiciones controladas (Laboratorio) (en línea). . Consultado 14 nov. 2019. Disponible en <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/1275>.

Tafur, JC; Sánchez, FO; Ruiz, RV. 2007. CELULARES DE *Azadirachta indica* SOBRE *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith EN CONDICIONES DE LABORATORIO. :13.

Tejeda-Reyes, MA; Solís-Aguilar, JF; Díaz-Nájera, JF; Peláez-Arroyo, A; Ayvar-Serna, S. 2016. EVALUACIÓN DE INSECTICIDAS EN EL CONTROL DE GUSANO COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN MAÍZ EN COCULA, GUERRERO. :4.

Téllez-Jurado, A; Cruz Ramírez, MG; Mercado Flores, Y; Asaff Torres, A; Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos (en línea). *Revista mexicana de micología* 30:73-80.

Consultado 29 mar. 2021. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-31802009000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Téllez-Jurado, A; Ramírez, MGC; Flores, YM; Torres, AA; Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. :5.

Vademécum Agrícola. 2016. NEW BT-2X® (en línea). s.l., s.e. Disponible en e <https://quickagro.edifarm.com.ec/pdfs/productos/NEWBT2X-20160816-140355.pdf>.

Vásquez, J; Zeddám, JL; Tresierra-Ayala, Á. 2002. CONTROL BIOLÓGICO DEL “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; Noctuidae) CON EL BACULOVIRUS SfVPN, EN IQUITOS-PERU (en línea). *Folia Amazónica* 13(1-2):25-39. DOI: <https://doi.org/10.24841/fa.v13i1-2.132>.

Virla, E; COLOMO, MV; BERTA, DC; Valverde, L. 1999. El complejo de parasitoides del «gusano cogollero» del maíz, *Spodoptera frugiperda*, en la República Argentina (Insecta, Lepidoptera). *Neotrópica* 45:3-12.

Zamora, MC; Martínez, AM; Nieto, MS; Schneider, MI; Figueroa, JI; Pineda, S. 2008. ACTIVIDAD DE ALGUNOS INSECTICIDAS BIORRACIONALES CONTRA EL GUSANO COGOLLERO (en línea). *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(4):351. DOI: <https://doi.org/10.35196/rfm.2008.4.351>.

CAPITULO VII .ANEXOS



Recolección de gusano cogollero



Emergencia del estado adulto de la larva