



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE EXTRACTOS DE *Schinus molle* (L.) Y *Artemisia absinthium*
(L.), SOLOS Y EN MEZCLA CON *Bacillus thuringiensis* (Berliner),
SOBRE *Heliothis zea* (Boddie)**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
MENCIÓN SANIDAD VEGETAL

DIEGO JOVANI GUEVARA CAPELO

DIRECTORES DE TESIS
JAIME E. ARAYA
AMANDA HUERTA FUENTES

PROFESORES CONSEJEROS
ÍTALO CHIFFELLE GÓMEZ
GABRIELA LANKIN VEGA

SANTIAGO - CHILE

2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EFECTO DE EXTRACTOS DE *Schinus molle* (L.) Y *Artemisia absinthium* (L.),
SOLOS Y EN MEZCLA CON *Bacillus thuringiensis* (Berliner), SOBRE *Heliothis*
zea (Boddie)

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magíster en Ciencias
Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal.

DIEGO JOVANI GUEVARA CAPELO

	Calificaciones
DIRECTORES DE TESIS	
Jaime Araya Clericus Ingeniero Agrónomo, MS, PhD.	Aprobado
Amanda Huerta Fuentes Ingeniera Forestal, PhD.	Aprobado
PROFESORES CONSEJEROS	
Ítalo Chiffelle Gómez Bioquímico, PhD.	Aprobado
Gabriela Lankin Vega Ingeniero Agrónomo, PhD.	Aprobado

Santiago, Chile
2014

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a Dios por inspirar, animar y fortalecerme constantemente en todas las metas trazadas.

Mis sinceros agradecimientos a:

La orden religiosa “Compañía de Jesús” por su continuo apoyo y soporte económico en mi formación académica. Al Gobierno Nacional del Economista Rafael Correa quien a través de la beca otorgada por SENESCYT financió la Maestría, esta investigación y ha motivado la realización de la misma en Ecuador. Al P. Rector Manuel Corrales S.I de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por los permisos para el uso de los laboratorios y equipos para la realización de los ensayos en Ecuador.

A todo el personal administrativo de la Universidad de Chile, de la Facultad de Ciencias Agronómicas, de la Escuela de Postgrado, en especial a María Sonia Causiño y Jeanette Piza por su soporte en las gestiones y trámites a lo largo de la Carrera.

A mis Directores de tesis Jaime Araya y Amanda Huerta por el acompañamiento constante en el plan de tesis, ejecución y redacción del documento escrito. Al profesor Ítalo Chiffelle por su guía en la elaboración de los extractos tanto en Chile como en Ecuador. A la profesora Gabriela Lankin por sus recomendaciones en la planificación de los ensayos de laboratorio y en la crianza de *H. zea*.

Al Ing. Agrónomo Francisco Zuazua por su guía en la evaluación del ensayo de campo. Al Ing. Agrónomo Luis Mardones por permitirme el acceso a las instalaciones de Winter Seed, ubicados en San Francisco de Mostazal, Rancagua, con el fin de coleccionar larvas e iniciar la crianza de la especie en Santiago para los pre-ensayos en Chile; y por todas sus recomendaciones sobre ensayos de campo con maíz.

A todo mi familia en especial al Sr. Napo Capelo y Sr. Manuel Capelo por permitirme coleccionar larvas de *H. zea* en sus predios agrícolas. Al Sr. Jorge Capelo, administrador del predio agrícola donde se realizó el ensayo de campo y presidente del Centro Agrícola de Chambo, por su contante apoyo, acompañamiento y guía en la ejecución del ensayo de campo en el cantón Chambo. A mi hermano Bolívar Guevara por facilitarme el automóvil para el transporte de materiales.

A Carolina Ballesteros por su amistad y recomendaciones para la dieta, crianza de *H. zea* y organización del plan de trabajo. A Carlos Carpio por su amistad, compañía y consejo durante la Maestría y ejecución del proyecto. A Christian Pérez por sus correcciones y asesoramiento.

Y finalmente a todos aquellos buenos amigos y amigas encontrados en Chile que han sido amables y me han alentado en la realización y ejecución de la tesis.

Índice de Contenido

	Págs.
RESUMEN GENERAL	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
El maíz en Ecuador	2
El gusano del choclo	3
Manejo del gusano del choclo en el cultivo de maíz en Ecuador	4
Extractos botánicos	5
<i>Bacillus thuringiensis</i> como bioinsecticida	6
Propuesta	7
EFECTO DE EXTRACTOS DE <i>Schinus molle</i> (L.) Y <i>Artemisia absinthium</i> (L.), SOLOS Y EN MEZCA CON <i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner), SOBRE <i>Heliothis zea</i> (Boddie)	8
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Características de la plaga y su control	10
Extractos de <i>Schinus molle</i> y <i>Artemisia absinthium</i> como alternativas de control	10
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> como bioinsecticida	10
Extractos en mezcla con <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	11
Propuesta	11
Hipótesis	11
Objetivos	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
Materiales y métodos	12
Obtención de hojas y preparación de extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i>	12
Ensayos de laboratorio	13
Lugar de estudio	13
Crianza de <i>H. zea</i>	13
Ensayo del efecto antialimentario	15
Tratamientos y diseño experimental	15
Manejo del experimento	15
Evaluación del efecto antialimentario	16
Análisis de los resultados	16
Ensayo del efecto insecticida	16
Tratamientos y diseño experimental	16
Manejo del experimento	18
Evaluación y criterio de mortalidad	18
Análisis de los resultados	18
Ensayo de campo	19
Lugar de estudio	19
Manejo agrícola del cultivo	19

Tratamiento y diseño experimental	21
Manejo del experimento	22
Evaluación y análisis del experimento	22
Resultados	25
Efecto antialimentario	25
Efecto insecticida	25
Efecto en número de larvas detectadas y daño en mazorcas	27
Discusión	30
Efecto antialimentario	30
Efecto insecticida	31
Extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i>	31
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	32
Extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> en mezcla con <i>Btk</i>	32
Efecto en el número de larvas de <i>H. zea</i> a la cosecha	33
Efecto en el daño de larvas de <i>H. zea</i> en choclos a la cosecha	33
Extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i>	33
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	35
Extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> en mezcla con <i>Btk</i>	36
Extractos como una opción dentro del manejo integrado de <i>H. zea</i> en el campo	36
Conclusiones	37
LITERATURA CITADA	38

Índice de Cuadros

	Págs.
1 Tratamientos de laboratorio evaluados en el ensayo del efecto antialimentario sobre larvas de tercer estadio de <i>H. zea</i> con sus concentraciones y volúmenes usados.....	15
2 Tratamientos de laboratorio evaluados en el ensayo del efecto insecticida con sus ingredientes activos y volúmenes/dosis aplicados sobre larvas de tercer estadio de <i>H. zea</i>	17
3 Tratamientos de campo para la evaluación del efecto de los extractos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> , solos y mezclados con <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> (<i>Btk</i>), sobre <i>H. zea</i> en parcelas experimentales con maíz de grano suave INIAP-101 en Chambo, Chimborazo, Ecuador.....	21
4 Efecto de los extractos acuosos de hojas de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> en varias concentraciones en el alimento de larvas de tercer estadio de <i>H. zea</i> en una prueba de opción al azar. Cada valor corresponde al promedio (%) de 15 repeticiones (\pm error estándar).....	25
5 Mortalidad promedio ($\% \pm$ error estándar) de larvas de <i>H. zea</i> por efecto de los extractos acuosos de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> , solos y en mezcla con <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> (<i>Btk</i>) a 1, 8 y 15 d después de la aplicación (dda) en laboratorio.....	27
6 Número de larvas de <i>H. zea</i> (promedio \pm error estándar) en 20 mazorcas tratadas por aspersión con atomizador manual cada 4 d desde la aparición de los primeros estilos de maíz de grano suave INIAP-101 en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.....	28
7 Mazorcas dañadas, mazorcas dañadas y penetradas (porcentajes promedio \pm error estándar) e intensidad del daño por larvas de <i>H. zea</i> en estilos frescos de maíz tratado de grano suave INIAP- 101 en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.....	28

Índice de Figuras

	Págs.
1 Preparación de extractos acuosos de molle, <i>S. molle</i> , y ajeno, <i>A. absinthium</i> ; (a) hojas de <i>S. molle</i> , (b) hojas de <i>A. absinthium</i> , (c) hojas secas trituradas y cernidas de <i>S. molle</i> , (d) polvo fino de hojas de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> , (e) mezclas de agua y polvo fino de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> en agitadores magnéticos térmicos, (f) sobrenadante líquido filtrado y centrifugado para obtener extractos puros de <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i>	13
2 Crianza de <i>H. zea</i> ; (a) colecta de larvas en choclos en predio agrícola de Chambo, (b) crianza con dieta de granos tiernos de maíz suave, (c) cámara de apareamiento, (d) apareamiento, (e) masa de huevos fértiles, (f) larva de tercer estadio de <i>H. zea</i>	14
3 Manejo y evaluación del ensayo de campo, Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador: (a) preparación previa con tractor, (b) separación de 80 cm entre surcos, (c) formación de surcos (d) aplicación de abono de gallinaza (e) planta a los 13 d de siembra, (f) primera aplicación de Neem-X, (g) riego por surcos, (h) aplicación de los tratamientos con atomizador manual a los estilos frescos de maíz, (i) evaluación en laboratorio del daño de <i>H. zea</i> en mazorcas cosechadas.....	18
4 Diseño y unidad experimental del ensayo; (a) esquema del ensayo, (b) elementos de la unidad experimental o parcela.....	22
5 Criterios para la evaluación de los tratamientos según niveles de daño de <i>H. zea</i> en choclo a la cosecha. Nivel 0: Mazorca sin daño. Nivel 1: daño leve del estilo, penetra hasta 1 cm desde el ápice, no alcanza a afectar granos. Nivel 2: daño moderado de la mazorca, penetra hasta 2 cm desde el ápice, galería pequeña, logra afectar 1 a 3 granos. Nivel 3: daño medio de la mazorca, penetra hasta 3 cm desde el ápice, galería grande, afecta 4 a 6 granos. Nivel 4: daño severo de la mazorca, penetra hasta 4 cm, afecta 7 a 9 granos. Nivel 5: daño muy severo de la mazorca, penetra más de 5 cm, afecta 10 o más granos. Escala modificada desde Arretz <i>et al.</i> (1976).	23
6 Mortalidad acumulada (%) de larvas de <i>H. zea</i> por efecto de los extractos de hojas <i>S. molle</i> y <i>A. absinthium</i> , solos y en mezcla con <i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> durante 15 d de evaluación.....	26

Anexos y Apéndice

Anexos		Pág.
I	Dieta utilizada para la crianza de larvas de <i>H. zea</i> en laboratorio.....	44
II	Fórmula estructural de los principios activos de Nockeo®.....	45
 Apéndice		 Pág.
I	Principales especies de Noctuidae identificadas en cultivos de maíz en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador (2011-2013).....	46

Resumen general

En Ecuador se siembra un promedio de 100.000 ha al año de maíz (*Zea mays* L.) de variedades de “maíz duro suave” o “dulce”, cuyo principal destino es el consumo humano local cotidiano en fresco. El maíz tiene varias plagas de control obligatorio como el gusano del choclo, *Heliothis zea* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae), especie polífaga que genera pérdidas económicas importantes en muchos países. El control más extendido se basa en la aplicación de insecticidas sintéticos, cuyo uso continuado ha resultado en el desarrollo de resistencia por parte de los insectos y en la presencia de residuos tóxicos para las personas y el ambiente. Ante este escenario, el INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias) de Ecuador ha propuesto reducir el uso de estos insecticidas mediante un manejo integrado para las plagas del maíz de las variedades denominadas dulces. Entre las alternativas disponibles están los extractos botánicos para el control de plagas agrícolas. Éstos presentan ventajas como insecticidas naturales debido a su degradación en el ambiente, selectividad, bajo impacto en las plantas e insectos benéficos, a que prácticamente no generan plagas resistentes, y son raramente tóxicos para el ser humano y mamíferos. En esta misma línea están los bioinsecticidas como *Bacillus thuringiensis* Berliner (o *Bt*), un género de bacterias comunes en el suelo, y que se usa para el control selectivo de cuncunillas. En este estudio se evaluó en laboratorio el efecto antialimentario de extractos acuosos de hojas de *Schinus molle* (L.) (Anacardiaceae) y *Artemisia absinthium* (L.) (Asteraceae) al 100 y 50% v/v de las concentraciones máximas obtenidas. También se evaluó el efecto tóxico de *S. molle* y *A. absinthium* al 100 y 50% v/v, solos y en mezcla con *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, sobre larvas de tercer estadio. Finalmente, con estos últimos tratamientos, aplicados sobre estilos frescos en un ensayo de campo de maíz suave, se evaluó la infestación y el daño causado por las larvas en mazorcas (choclos) frescas a la cosecha en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El maíz en Ecuador

El género *Zea* comprende varias especies de gramíneas de origen americano, de las cuales el maíz, *Zea mays* (L.) (Poales, Poaceae) es el cereal de mayor volumen, crecimiento de producción y valor económico a nivel mundial (Watson y Dallwitz, 1992). Según Pigali (2001), en 2020 se requerirán 837 millones de ton de maíz a nivel global, un 50% más de lo consumido en 1995 y particularmente 123 millones de ton en América Latina, un 62% más en relación a ese mismo año.

Originario de América Central, el maíz es una planta herbácea anual de 200 a 450 cm de altura, con tallos en forma de caña con entrenudos, y hojas de láminas anchas, planas, sin nervadura transversal. Presentan las estructuras sexuales separadas y en el mismo tallo (plantas monoicas). En la panoja apical (inflorescencia masculina), cada florecilla tiene tres estambres donde se desarrolla el polen. Las mazorcas (inflorescencias femeninas), localizadas en las yemas auxiliares de las hojas, son espigas cilíndricas, cubiertas por hojas envolventes o chalas (brácteas); en estas espigas se insertan espiguillas con flores funcionales con un ovario simple, las que emiten estilos que emergen por el extremo superior de las brácteas, en los que germina el polen. En condiciones de mucha luminosidad y baja densidad de plantas se generan hasta dos mazorcas productivas por tallo (Watson y Dallwitz, 1992).

El maíz se cultiva en todo el Ecuador, excluyendo los páramos, subpáramos y zonas superiores a los 3.000 msnm de altitud. Se estima que ingresó al país hace unos 5.000 años a.c. y la causa de las 23 razas de maíz existentes se debería a las altitudes bajas y medias de la Cordillera de Los Andes y a la hibridación interracial (CIMMYT, 1988).

Según los grupos varietales descritos por Sturtevant (1899) están presentes en la dieta de Ecuador 4 grupos varietales: *Z. mays* var. *amylo saccharata* (maíz dulce), *Z. mays* var. *evarta* (canguiles), *Z. mays* var. *indurata* (morocho) y *Z. mays* var. *amylacea* (maíz suave). El INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias) ha desarrollado híbridos mejorados de maíz adaptados al Ecuador, a partir de dichos grupos varietales y además de otros grupos extranjeros, con buen rendimiento y resistencia a plagas y enfermedades.

Se escogió para el estudio al híbrido denominado INIAP 101, desarrollado por la Estación Experimental Santa Catalina en el periodo 1971 a 1979 que tiene como progenitor la variedad “Cacahuazintle” de México. Esta variedad está adaptada a los valles centrales de la región interandina entre los 2.400 a 3.000 msnm, de un rendimiento promedio de 215 sacos/ha en choclo y 4 t/ha en seco. El grano es grande, harinoso, blanco y coronta del mismo tono. El grano tiene elevado contenido de azúcar, se cosecha en estado lechoso, se come fresco antes que se endurezca y se vuelva rico en almidón (INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, 2003). Este tipo de maíz forma parte de los denominados

“duros suaves” que se diferencian de los “duros secos,” usados para la alimentación de ganado, aves y otros.

El Ecuador anualmente produce un promedio de 717.949 t de maíz duro seco, en especial en las provincias costeras, y 43.284 t de maíz duro suave, principalmente en las provincias de la sierra ecuatoriana. Recién en el 2013 el país ha satisfecho su consumo interno de maíz duro seco con su propia producción (Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Suramérica ANDES, 2013). Desde 2002 a 2009 se sembró un promedio de 100.000 ha de maíz duro suave, siendo su principal interés el consumo local que está a cargo de productores que poseen menos de 2 ha (INEC, 2010).

El gusano del choclo

Heliothis zea (L.) (Lepidoptera: Noctuidae) o su sinónimo *Helicoverpa zea*, tiene varios nombres vulgares debido a que daña diversos cultivos en el mundo; en Ecuador, su estado larvario se conoce como gusano del choclo; en Chile como gusano elotero, gusano del tomate (Artigas, 1994). Los adultos son polinizadores y de hábitos nocturnos, en estado de larva se alimentan de diferentes plantas y algunos géneros constituyen plagas para la agricultura. El género *Heliothis* tiene tres especies de importancia agrícola, *H. armigera* (Hübner), *H. virescens* (F.) y *H. zea* (Fitt, 1989).

Heliothis zea se encuentra en Estados Unidos, México, Centroamérica y Sudamérica (Artigas, 1994). La especie *H. armigera* con frecuencia ha sido identificada por error con *H. zea* debido a que también se localiza en América (Fitt, 1989; Artigas, 1994).

Los adultos de *H. zea* son mariposas de tamaño medio de 25 a 42 mm de envergadura alar, el primer par de alas es amarillento y paralelo al borde externo hay una franja oscura a lo largo de la cual se ordenan en hilera ocho puntos negros diminutos. El segundo par de alas es semejante al primero con abundantes áreas oscuras. No tienen microespinas en el sector abdominal. Las larvas son pardo amarillento con 3 bandas longitudinales oscuras; presentan cambios de color a rojizo, marrón, anaranjado, amarillo y verde; es común encontrarlas en mazorcas de maíz (Artigas, 1994).

Varios Noctuidae plaga afectan cultivos agroforestales en Ecuador. Según registros del Museo de Entomología del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y publicaciones locales se tendrían 25 especies de las cuales 7 afectan al maíz, entre ellas: *H. zea*, *Spodoptera eridania* Cramer, *S. frugiperda* Walker (gusanos soldado), *S. ornithogalli* Guenée, *Mocis latipes* Guenée (falso medidor), *Agrotis ipsilon* Hufnagel (gusano cogollero y del choclo), *Dargida grammivora* Walker (gusano cogollero) (Guevara y Granda, 2009; Guevara y Mogollón, 2011).

Heliothis zea es una especie activa durante todo el año en climas tropicales y subtropicales y al aumentar la latitud al norte o al sur, se restringe a los veranos. En EE.UU. puede tener 2 a 7 generaciones y su ciclo de vida se completa en 30 d a 34°C (Capinera, 2001). El Ecuador, al ubicarse en la latitud 0°, pertenece a la zona intertropical, donde predomina el clima tropical y al no tener como limitante la diapausa invernal, la reproducción es continua (Fitt, 1989). En Chile se dan dos generaciones, las hembras oviponen en primavera y

principios de verano. La duración media de una generación es 30 a 40 d en zonas templadas (Artigas, 1994).

En EE.UU se considera como una de las plagas más costosas debido a la cantidad de daño y a la variedad de cultivos que afecta. Presenta daño directo al follaje principalmente en las partes florales, en lino devora las hojas, flores y cápsulas; en maíz, los granos; en algodón, el capullo y en alfalfa, los brotes tiernos, flores y semillas; en tomates hacen orificios en el fruto. El daño en el maíz es crítico pues las larvas jóvenes se alimentan de los estilos e interfieren con la polinización, y dan lugar al desarrollo de hongos patógenos (Capinera, 2001). Cabe destacar que el Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria (SESA) lista a todo el género *Heliothis* como cuarentenario para EE.UU. (SESA, 2008).

Cada hembra adulta de *H. zea* pone entre 500 a 3000 huevos. En el maíz los pone en los estilos, “pelos de choclo”. Los huevos son verde pálido y eclosionan luego de 3 a 8 d de incubación, las larvas siguen el estilo hasta llegar a los granos, no toleran la proximidad de otra larva y cuando han adquirido su desarrollo máximo, hacen un orificio en las hojas (chalias) del choclo y se descuelgan por medio de un hilo de seda hasta llegar al suelo donde forman pupas y se entierran hasta 8 cm de profundidad. Las larvas más jóvenes no son caníbales y se pueden alimentar juntas inicialmente. Sin embargo a medida que se desarrollan se vuelven agresivas, y matan y devoran a otras larvas. Por ello sólo se encuentran pocas larvas en la mazorca a la cosecha (Artigas, 1994; Capinera, 2001). En Chile, de estas pupas surgen los adultos si todavía es verano o permanecen en pupa hasta la primavera siguiente (Artigas, 1994).

A pesar que numerosos enemigos naturales han sido identificados, por lo general, no disminuyen la población ni los daños causados por la larva (Capinera, 2001). En Chile se señala como principal controlador biológico al hemíptero *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) que devora los huevos de *H. zea* (Artigas, 1994) y en Ecuador se ha reportado la existencia de *Orius* spp. como enemigo natural de *H. zea* en el maíz (Monserrate, 2009).

Manejo del gusano del choclo en el cultivo de maíz en Ecuador

La manera más extendida de control de esta plaga es el uso de insecticidas sintéticos como carbaril, deltametrina, endosulfán, metomil, lambdacialotrina y permetrina, que se aplican al aparecer los estilos del maíz y con una segunda aplicación después de 7 d en Argentina (Flores, 2010). En Chile, estos insecticidas se aplican al asomar los primeros estilos, y se repite cada 4 d hasta que los estilos se secan (Larraín, 1988). En Ecuador se usan además clorpirifós, cipermetrina, tiametoxam y profenoles (Ecuaquímica, 2014), y en Chambo, el cantón agrícola donde se hizo el ensayo de campo, se hace una primera aplicación de un producto o de una mezcla de dos insecticidas al aparecer los estilos, una segunda después de 15 d y una tercera 15 d antes de la cosecha (Capelo 2012 com.pers¹).

El control de *H. zea* en la mayoría de cultivos depende de insecticidas. Sin embargo, la especie ha desarrollado resistencia a varios plaguicidas en distintas partes del mundo. El desarrollo de resistencia está influido por factores genéticos, ecológicos, etológicos y

¹ Sr. Jorge Capelo, Presidente del Centro Agrícola de Chambo.

agronómicos que afectan a la población de insectos expuesta a plaguicidas (Fitt, 1986). Actualmente se conoce que esta plaga ha desarrollado resistencia a insecticidas organoclorados, organofosforados y piretroides (Fitt, 1986; Abd-Eghafar *et al.*, 1993). La resistencia a insecticidas reduce la eficacia del ingrediente activo, lo que lleva al uso de aplicaciones más frecuentes o la búsqueda de insecticidas más tóxicos. Los costos de la resistencia son difíciles de estimar y rara vez se incorporan en los presupuestos de estrategias de manejo de plagas (Fitt, 1986).

Dado este problema, el INIAP ha propuesto una serie de alternativas para la reducción del uso de insecticidas en el Ecuador, entre las que están programas de manejo integrado de varios cultivos. Así para el manejo integrado del maíz esta institución recomienda una serie de semillas producidas por sus mismos laboratorios, abonos naturales combinados con fertilizantes químicos y prácticas culturales. Para el manejo de plagas y enfermedades sugiere productos químicos de baja toxicidad con el medio. Para el manejo del gusano del choclo (*H. zea*) recomienda poner tres gotas de aceite de cocina sobre los estilos apenas aparezcan, 8 d después una segunda aplicación y luego a los 15 d de la primera aplicación (Peñaherrera, 2011). Sin embargo, debido a la presión de la plaga, los agricultores locales usan varios productos químicos y plaguicidas para lograr rentabilidad en el cultivo.

Extractos botánicos

El uso indiscriminado de plaguicidas resulta en residuos tóxicos para las personas, animales y alimentos, y la contaminación de agua y suelos (Devine *et al.*, 2008), y ha generado una preocupación creciente sobre su efecto en la salud humana y ambiental (Leotau *et al.*, 2010). En este panorama, la reducción en el uso de insecticidas orgánicos sintéticos por medio del uso de otras alternativas ha estimulado el desarrollo de nuevas líneas de investigación.

Nuevas líneas que consideran los metabolitos secundarios de las plantas. Las plantas, además de los productos del metabolismo primario como azúcares, aminoácidos, proteínas y lípidos, generan una amplia gama de metabolitos secundarios que les permiten cumplir sus funciones biológicas como polinización, dispersión de semillas, protección contra desequilibrios ambientales como el estrés climático e incluso como defensa contra la invasión de microorganismos y animales mordedores. La amplia gama de metabolitos se agrupa según su contenido en: aquellos que contienen nitrógeno, terpenoides, compuestos fenólicos y finalmente acetilénicos. Aquellos metabolitos que afectan el crecimiento, salud, comportamiento o población de otro organismo se conocen como aleloquímicos (Schoonhoven *et al.*, 2005).

Entre las alternativas para la reducción en el uso de insecticidas de síntesis están los extractos botánicos, que desde hace miles de años han sido fuentes de aleloquímicos, para el control de plagas agrícolas (Philogène *et al.*, 2010). Los extractos de plantas presentan ventajas como insecticidas naturales debido a su acción rápida y degradación en el ambiente, selectividad, bajo impacto en las plantas e insectos benéficos, prácticamente no generan plagas resistentes, y son raramente tóxicos para el ser humano y mamíferos (Regnault-Roger, 2004), por lo que se han propuesto como opciones más seguras para la salud humana (Mansaray, 2000; Ottaway, 2001).

En general, los extractos de las plantas afectan al ciclo completo de los insectos, pudiendo causar repelencia frente a su alimento, reducción en su alimentación (efecto antialimentario), mortalidad, retraso en el crecimiento y desarrollo, bloqueo en la muda de ninfas y larvas y suspensión de ovoposición (Rodríguez, 1998). Además se ha probado que los extractos pueden añadirse a una sustancia tóxica para mejorar o potenciar la toxicidad de compuestos de actividad ya conocida (Philogène, 2003).

Para insectos plaga de presencia constante en un cultivo, la degradación rápida de los extractos en el ambiente puede ser una limitación. Por ejemplo, el extracto de las semillas de neem, *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae), tiene una vida media de 20 h después de su aplicación sobre una hoja (NRC, 1992). Sin embargo, algunos extractos del género *Ryania* (Liliaceae) mantienen en el campo una persistencia sobre hojas de 3 a 5 d después de su aplicación (Weinzeirl, 1998).

Extractos de plantas procedentes de la familia Piperaceae, Meliaceae, al igual que los extractos de *Allium* y varias crucíferas, se han probado para el control de insectos plagas dando resultados promisorios (Arnason, *et al.*, 2003; Auger y Thibout, 2003; Celis *et al.*, 2008), y se proponen como alternativas para el manejo de plagas (Isman, 2006; Celis *et al.*, 2008). Sin embargo, pocos estudios han determinado su efectividad en un cultivo de campo.

***Bacillus thuringiensis* como bioinsecticida**

Otra alternativa para la reducción del uso de insecticidas orgánicos de síntesis es el uso de la bacteria Gram positiva que pertenece a la familia Bacillaceae llamada *Bacillus thuringiensis* Berliner (o *Bt*) que habita en el suelo y que se usa para el control selectivo de insectos. *Bacillus thuringiensis* se encuentra en el mercado en la categoría de insecticida biológico con varios nombres comerciales como Dipel y Thuricide. Este biopesticida se considera seguro con el ambiente porque no ofrece peligros para los seres humanos, vida silvestre, polinizadores o insectos beneficiosos, tiene bajo efecto residual y toxicidad selectiva (Sauka y Benintende, 2008).

El bioinsecticida basado en *B. thuringiensis* debe ser ingerido para tener efecto. Durante la esporulación las cepas de *Bt* producen la proteína endotoxina delta o Cry, que al ser ingerida por las larvas se solubilizan en el intestino medio y liberan protoxinas, que al entrar en contacto con proteasas intestinales dan lugar a una toxina activa que atraviesa las membranas epiteliales al causar lisis celular y poros en el tejido intestinal, impide la asimilación y retiene compuestos vitales, lo que lleva a la muerte del insecto (Roh *et al.*, 2007; Sauka y Benintende, 2008).

Hay varias cepas o variedades específicas para el control de distintos grupos de insectos que se desea controlar. Por ejemplo, *B. thuringiensis* var. *israelensis* (serotipo H-14) es activa contra larvas de mosquitos, la var. *kurstaki* actúa sobre orugas defoliadoras, la var. *tenebrionis* sobre larvas de coleópteros, la var. *aizawai* sobre orugas defoliadoras de hortalizas y vid, y la var. *San Diego* sobre larvas de escarabajo de la patata, y sobre larvas y adultos de escarabajo del olmo (Sauka y Benintende, 2008). *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*) afecta un grupo amplio de orugas, desde el gusano de la seda *Bombyx mori* L.

(Bombycidae), a la polilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Tortricidae), *H. zea* y el gusano del tomate *Helicoverpa armigera* Hübner (Noctuidae), el gusano barrenador europeo del maíz *Ostrinia nubilalis* Hübner (Crambidae), *S. frugiperda* y otros lepidópteros (Roh *et al.*, 2007; Sauka y Benintende, 2008).

Propuesta

Dada la importancia del cultivo de maíz suave y la creciente resistencia a plaguicidas convencionales de *H. zea*, en este trabajo se evaluará la efectividad de extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *Btk*, en laboratorio y en un cultivo de maíz fresco en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.

EFECTO DE EXTRACTOS DE *Schinus molle* (L.) Y *Artemisia absinthium* (L.), SOLOS Y EN MEZCLA CON *Bacillus thuringiensis* (Berliner), SOBRE *Heliothis zea* (Boddie)

En un ensayo de laboratorio se determinó el efecto antialimentario de extractos acuosos de hojas de *Schinus molle* (L.) y *Artemisia absinthium* (L.) al 100 y 50% v/v de las concentraciones máximas obtenidas, sobre larvas de tercer estadio de *Heliothis zea* (Boddie), una plaga importante en maíz para consumo fresco en muchos países. También se evaluó en laboratorio el efecto tóxico de ambos extractos al 100 y 50% v/v, solos y en mezcla con *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* (*Btk*) al 50% sobre las larvas. Finalmente, las concentraciones de ambos extractos se aplicaron sobre estilos frescos en un ensayo de campo, donde se evaluó el número de larvas de *H. zea* y el daño causado en mazorcas frescas a la cosecha en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador. En los ensayos de laboratorio para los efectos antialimentario e insecticida se usó un diseño aleatorizado, y en el de campo uno en bloques completamente aleatorizado; en este ensayo, además de los tratamientos indicados arriba se usó un testigo sin tratar y un tratamiento estándar (en Ecuador) con el insecticida comercial Nockeo® (tiametoxan + lambdacialotrina). El extracto acuoso de *S. molle* al 100 y 50% v/v tuvo efecto antialimentario de 45,2 y 48%, respectivamente y el de *A. absinthium* al 100 y 50% v/v ningún efecto (0%). En el ensayo del efecto insecticida en laboratorio, los extractos de *S. molle* al 100 y 50% v/v y *S. molle* en mezcla con *Btk* al 50% causaron mortalidad de 20, 28 y 44%, respectivamente, al igual que *A. absinthium* al 100 y 50% v/v y *A. absinthium* 100% v/v en mezcla con *Btk* al 50% (24, 40 y 28% de mortalidad, respectivamente) a 15 dda. Los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* solos y en mezcla con *Btk* no disminuyeron significativamente el daño causado por las larvas de *H. zea*, pero los extractos de *S. molle* 100% v/v, *S. molle* 100% v/v en mezcla con *Btk* 50% y *Btk* 100% v/v redujeron significativamente el número promedio de larvas detectadas a la cosecha en 20 mazorcas frescas en el campo, 3,4; 4,8 y 4,4, respectivamente. Estos resultados motivan, previo a pruebas del efecto residual y fotodegradación, y mejoras en técnicas de aplicación en el campo, a continuar con la evaluación de extractos botánicos en mezcla con *Btk* con el fin de reducir el uso indiscriminado de insecticidas convencionales.

Palabras clave

Efecto antialimentario, efecto insecticida, extractos acuosos, gusano del choclo, *Zea mays*.

EFFECT OF *Schinus molle* (L.) AND *Artemisia absinthium* (L.) EXTRACTS, APPLIED SINGLY AND MIXED WITH *Bacillus thuringiensis* (Berliner), ON *Heliothis zea* (Boddie)

Abstract

The antifeeding effect of water extracts from *Schinus molle* (L.) y *Artemisia absinthium* (L.) were determined in the laboratory at 100 and 50% of the maximum concentrations obtained, on third stage *Heliothis zea* (Boddie) larvae, an important pest of fresh corn in many countries. The toxic effect on those larvae of both extracts at 100 and 50%, alone and mixed with *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* (*Btk*) at 50% were also determined. Finally, the concentrations of both extracts were applied to the fresh ear corn styles in a field trial in Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador, where the number of *H. zea* larvae and the damage caused on fresh corn ears were determined at harvest. In the laboratory test for the antifeeding and insecticide effects a random design was used, and a completely random block design was used in the field trial, besides the treatments indicated above, an untreated control and a standard treatment (in Ecuador) with the commercial insecticide Nockeo® (tiаметoxan + lambdacyalotrin). The *S. molle* water extract at 100 and 50% v/v had 45.2 and 48% antifeeding effect, respectively, and that from *A. absinthium* at 100 and 50% v/v had no effect (0%). In the insecticide test in the laboratory, 15 days after application, the water *S. molle* extracts at 100 and 50% v/v, and *S. molle* mixed with *Btk* at 50% caused 20, 28, and 44% mortality, respectively, similarly to *A. absinthium* at 100 and 50% v/v, and *A. absinthium* 100% v/v mixed with *Btk* at 50% (24, 40, and 28% mortality, respectively). The water extracts from *S. molle* and *A. absinthium*, singly or mixed with *Btk* did not decrease significantly the damage caused by *H. zea* larvae, but the *S. molle* extract at 100% v/v, and at 100% v/v mixed with *Btk* at 50% or 100% v/v reduced significantly the average number of larvae detected at harvest on 20 fresh corn ears in the field, 3.4, 4.8, and 4.4, respectively. These results prompt, after tests of residual effect and light degradation, and improvements in the application techniques in the field, to continue evaluating plant extracts mixed with *Btk* with the goal of reducing the indiscriminate use of conventional insecticides.

Key words

Antifeeding effect, corn earworm, insecticide effect, water extracts, *Zea mays*.

Introducción

Características de la plaga y su control

El gusano del choclo, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), es una plaga de importancia primaria en maíz fresco (*Zea mays* L.) en Chile (Artigas, 1994) y Norteamérica (Capinera, 2001). En Ecuador tiene incidencia elevada, es perjudicial en todas las regiones agrícolas, y está bajo control obligatorio (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador, 1986). También afecta a otros cultivos, como el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) y garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (Artigas, 1994).

Extractos de *Schinus molle* y *Artemisia absinthium* como alternativas de control

Los extractos botánicos del pimiento de Bolivia, falso pimentero o molle, *Schinus molle* L. (Anacardiaceae), han demostrado tener efecto repelente y tóxico en insectos plaga a través de sus metabolitos secundarios (Huerta *et al.*, 2010). De igual forma, el ajenojo, *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae), ha presentado propiedades antialimentarias y tóxicas contra insectos plaga (González-Coloma *et al.*, 2012).

Schinus molle es un árbol originario de Perú, que se encuentra en toda la región andina de América. Contiene, principalmente en hojas y frutos, sustancias activas como mono y sesquiterpenos, taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, ácido linoleico, oleorresinas, y su efecto tóxico y repelente se ha demostrado sobre algunos insectos (Ferrero *et al.*, 2006, 2007; Abdel-Sattar *et al.*, 2009). En los últimos años se ha confirmado en laboratorio la toxicidad y repelencia sobre el escarabajo de la hoja del olmo *Xanthogaleruca luteola* Müller (Coleoptera: Chysomelidae) (Huerta *et al.*, 2010).

Artemisia absinthium es una planta de tamaño medio, 90 cm como máximo, de ramas blancas, hojas pecioladas verde claro en el haz y plata en el envés, de olor intenso, que se ha usado desde antiguo como insecticida por su propiedad desinfectante (Derwich *et al.*, 2009). El uso de los extractos de *A. absinthium* se recomienda dentro del manejo integrado de plagas en Asia Central (Maredia y Baributsa, 2007). Su aceite tiene efecto acaricida sobre *Tetranychus urticae* Koch (Prostigmata: Tetranychidae) (Chiasson *et al.*, 2001), y efecto tóxico y repelente sobre el noctuideo *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Knaak *et al.*, 2013). Además, sus metabolitos secundarios han demostrado efecto insecticida sobre áfidos, como *Aphis spiraephaga* Müller (Hemiptera: Aphididae) (Brudea, 2007).

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* como bioinsecticida

Entre las formulaciones disponibles en el mercado está Dipel® WG, cuyo principio activo es *B. thuringiensis* var. *kurstaki* Berliner (*Btk*), cuyo efecto insecticida se ha demostrado, por ejemplo, contra noctuideos plagas como *Spodoptera littoralis* Boisduval, *Heliothis virescens* F. (White *et al.*, 1999; Kamel *et al.*, 2010) y *H. zea* (Roh *et al.*, 2007).

Extractos en mezcla con *B. thuringiensis* var. *kurstaki*

Las dos alternativas indicadas arriba pueden mezclarse para formar una tercera, donde los extractos botánicos aplicados junto con *Btk* pueden convertirse en otra opción de control de *H. zea*. Por ejemplo el efecto de los extractos de hojas de boldo, *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae), en mezcla con *Btk* se ha estudiado contra larvas de *S. frugiperda* y *H. zea*, con resultados variables (Silva, 2010).

Propuesta

En este estudio se evaluó el efecto antialimentario e insecticida de extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis*, en comparación con un insecticida como control positivo de uso convencional utilizado en Ecuador, Nockeo®, una mezcla de tiametoxam y lambdacialotrina, en ensayos de laboratorio y campo para el control de las larvas de *H. zea*. Para ello se evaluó el efecto antialimentario de los extractos a dos concentraciones y el efecto insecticida de los extractos, solos y en mezcla con *Btk* en ensayos de laboratorio; mientras que en el ensayo de campo se evaluó la infestación de larvas de *H. zea* y el daño producido en 20 mazorcas de parcelas con los mismos tratamientos elaborados para el ensayo del efecto insecticida.

Hipótesis

Los extractos botánicos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos o en mezcla con *B. thuringiensis*, tienen efectos antialimentario e insecticida sobre *H. zea* en maíz.

Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto antialimentario e insecticida de los extractos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis*, en el control de larvas de *H. zea* en maíz fresco en ensayos de laboratorio y campo.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto antialimentario de extractos acuosos de *S. molle* y *A. absinthium* en larvas de tercer estadio de *H. zea* en laboratorio.
- Determinar la mortalidad causada por extractos acuosos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis*, en larvas de tercer estadio de *H. zea* en laboratorio.
- Evaluar el efecto de los extractos acuosos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis* en el número de larvas por mazorca a la cosecha de maíz fresco y el nivel de daño de estas larvas en choclos en parcelas experimentales.

Materiales y métodos

Obtención de hojas y preparación de extractos de *S. molle* y *A. absinthium*

Se montaron ensayos preliminares con hojas de *S. molle* colectadas del 2 al 4 de enero de 2013 en el Campus de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile (33°34'13" S, 78°39'08" O) en Santiago, Chile, y su preparación se realizó en el Laboratorio de Química de la misma institución.

Para los ensayos las hojas de *S. molle* y *A. absinthium* se obtuvieron del 22 al 24 de junio de 2013 en la Ciudad de Riobamba (1°40'00" S, 70°37'56" O), Ecuador, y los extractos para los ensayos de laboratorio y campo se prepararon en el Laboratorio General de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

La elaboración de los extractos se hizo según el método descrito en Huerta *et al.* (2010), con algunas modificaciones. Las hojas de *S. molle* se obtuvieron en el parque “21 de Abril” de la ciudad de Riobamba, mientras que las hojas de *A. absinthium* se obtuvieron en el mercado “Mayorista” de la misma ciudad en junio y julio de 2013. Las hojas de ambas especies se separaron del raquis y se secaron al ambiente a una temperatura promedio de 22±7°C hasta que se sintieran quebradizas a la presión con los dedos, a los 7 d para *S. molle* y 15 d para *A. absinthium* (Figura 1 a, b). Una vez secas, se molieron con un molino eléctrico de cuchillos (Moulinex A320R1, China) y se tamizaron en un colador para la obtención del polvo (Figura 1c). Para lograr la mayor concentración posible de los extractos, se consideró en el polvo de hojas de *S. molle* una relación de 1 a 5 (100 g de molle por 500 mL de agua destilada) y en el de *A. absinthium* de 1 a 18 (100 g de ajeno por 1.800 mL de agua destilada), en vasos de precipitación de 1.000 mL (Figura 1d).

Las mezclas depositadas en los vasos se llevaron a un agitador magnético térmico (Cimarec c/c) y se agitaron por 1 h a 37°C y 23 h a temperatura ambiente (25°C) y se dejaron reposar hasta observar una división en una fase líquida superior y otra densa inferior (Figura 1e). La fase líquida se filtró a través de papel filtro Whatman 1. Luego se repartieron 12 mL de líquido en tubos plásticos y se centrifugaron (Talleto Centrifuge-plc series, Taiwán) a 1.500 rpm durante 15 min (Figura 1f). El sobrenadante o solución madre de los extractos se vació en un vaso de precipitación de 1.000 mL. En total, de 100 g de polvo de *S. molle* se obtuvieron 250 mL de extracto y 100 g de polvo de *A. absinthium* rindieron 900 mL de extracto puro. Estos extractos se refrigeraron a 5°C y se consideraron extractos puros al 100% v/v. Este proceso se repitió tantas veces como fue necesario para los ensayos.

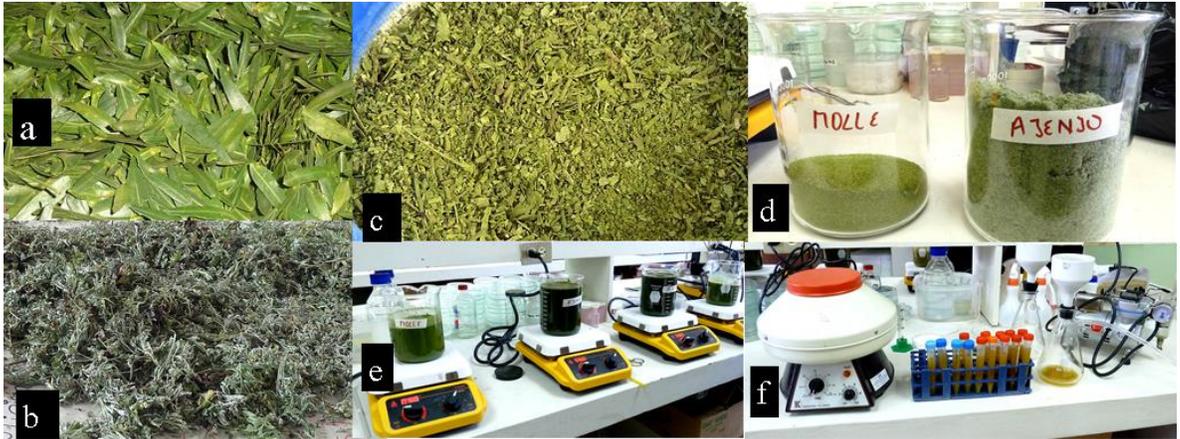


Figura 1. Preparación de extractos acuosos de molle, *S. molle*, y ajeno, *A. absinthium*; (a) hojas de *S. molle*, (b) hojas de *A. absinthium*, (c) hojas secas trituradas y cernidas de *S. molle*, (d) polvo fino de hojas de *S. molle* y *A. absinthium*, (e) mezclas de agua y polvo fino de *S. molle* y *A. absinthium* en agitadores magnéticos térmicos, (f) sobrenadante líquido filtrado y centrifugado para obtener extractos puros de *S. molle* y *A. absinthium*.

Ensayos de laboratorio

Lugar de estudio

Los ensayos para evaluar el efecto antialimentario e insecticida se hicieron en el Laboratorio de Ciencias del Colegio San Felipe de la Ciudad de Riobamba, en colaboración con el Laboratorio General de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador, desde junio hasta octubre de 2013.

Crianza de *H. zea*

Se hizo una crianza de *H. zea* a fin de disponer de una cantidad suficiente de individuos para desarrollar los experimentos de los efectos antialimentarios e insecticidas en laboratorio. Para esto se colectaron alrededor de 300 larvas en diversos estadios larvarios en una parcela de maíz sin aplicaciones de insecticidas durante junio y se llevaron al laboratorio en pequeños recipientes de plástico individuales con estilos de maíz y luego se alimentaron diariamente con granos frescos de maíz hasta el estado de pupa (Navarro y Dorestes, 1982) a $50 \pm 10\%$ HR, $22 \pm 7^\circ\text{C}$ y fotoperíodo de 12 h de luz. Las pupas luego se pusieron en frascos con suelo solarizado, humedecido cada tres días hasta la emergencia de los adultos (Figura 2 a, b).

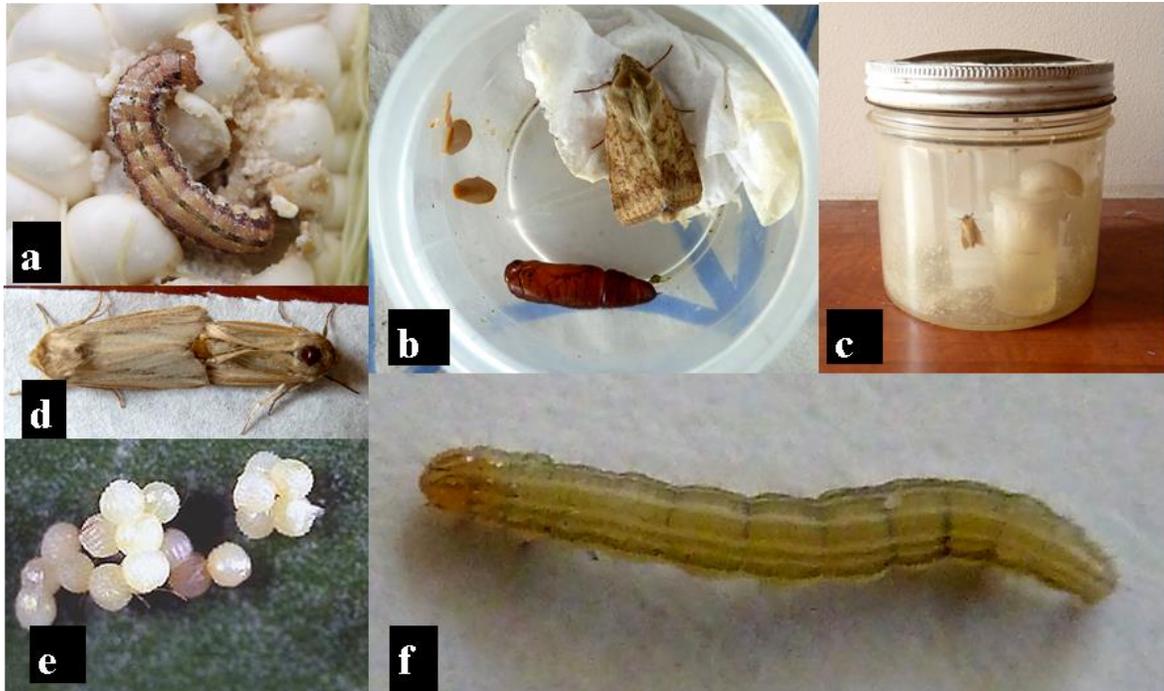


Figura 2. Crianza de *H. zea*, (a) colecta de larvas en choclos en predio agrícola de Chambo, (b) crianza con dieta de granos tiernos de maíz suave, (c) cámara de apareamiento, (d) apareamiento, (e) masa de huevos fértiles, (f) larva de tercer estadio de *H. zea*.

Para el apareamiento se puso igual número de machos y hembras en frascos plásticos grandes con tapa con malla de ventilación y una mazorca con los estilos frescos al descubierto, miel diluida en agua al 10% v/v en un recipiente plástico pequeño que se renovó diariamente para la alimentación de los adultos (Waldbauer *et al.*, 1984) (Figura 2c). Estos frascos se expusieron a la radiación solar a $22\pm 7^{\circ}\text{C}$ por 10 h y en la noche se guardaron en el laboratorio a $12\pm 3^{\circ}\text{C}$. Desde el apareamiento (Figura 2d), las hembras depositaron los huevos (Figura 2e) en los estilos de maíz, sobre papel encerado, o en la malla de ventilación.

Estos huevos se pusieron en frascos de vidrio etiquetados por fecha y al cabo de ~ 5 d se produjo la eclosión y de inmediato las larvas se alimentaron con brotes frescos de alfalfa hasta que pasaran al segundo estadio larvario, cuando se alimentaron con una dieta basada en granos hasta ser utilizadas en los ensayos (Anexo I).

Las larvas se manipularon con un pincel número 0, procurando usar su misma seda para el traslado y de este modo evitar el daño por manipulación. Una vez llegadas al tercer estadio larval, aproximadamente 7 d después de la eclosión (Zúñiga *et al.*, 2011), las larvas (Figura 2f) se sometieron a ayuno por 6 h y se llevaron a los recipientes de plástico para exponerlas a los respectivos tratamientos.

Ensayo del efecto antialimentario

Tratamientos y diseño experimental

En el Cuadro 1 se presentan los tratamientos que se evaluaron en el ensayo del efecto antialimentario en laboratorio.

Cuadro 1. Tratamientos de laboratorio evaluados en el ensayo del efecto antialimentario sobre larvas de tercer estadio de *H. zea* con sus concentraciones y volúmenes usados.

Tratamientos	Concentraciones (% v/v)	Volumen usado (mL)
<i>S. molle</i>	100	10
<i>S. molle</i>	50	10
<i>A. absinthium</i>	100	10
<i>A. absinthium</i>	50	10

Las soluciones producidas se consideraron extractos puros de *S. molle* y *A. absinthium*, es decir, a la mayor concentración posible (100% v/v). Para obtener la concentración del 50% v/v, a 5 mL de cada extracto puro (100% v/v) se añadieron 5 mL de agua destilada y se les agitó.

Se tomó como modelo el ensayo de Rossetti *et al.* (2008), con algunas modificaciones. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 4 tratamientos en una prueba de opción al azar y 15 repeticiones (1 placa Petri cada uno). La unidad experimental del ensayo consistió en 1 larva de tercer estadio en una placa Petri con 1 grano de maíz fresco que se sumergió previamente en el tratamiento (Cuadro 1) y 1 grano de maíz fresco sobre el cual no se aplicó nada (control). La variable evaluada fue el peso fresco consumido del grano tratado y del control después de 24 h, en una balanza de precisión Boeco BBL-52 (Alemania) de 1,5 kg de capacidad y $\pm 0,01$ g de sensibilidad.

Manejo del experimento

Para la aplicación se pusieron 10 mL de cada uno de los extractos y concentraciones en frascos de 50 mL y se sumergieron en ellos 15 granos frescos de maíz por 1 min. Luego, estos granos se dejaron secar sobre papel filtro al ambiente por ~5 min. Los 15 granos correspondientes al primer tratamiento y del testigo sin tratar se pesaron. Las placas Petri se rotularon con el tratamiento respectivo y marcaron con las letras T y C el extremo donde se depositó el grano tratado y sin tratar, pesados previamente.

Para cada tratamiento, se seleccionó al azar una larva y se puso en el centro de cada placa Petri, individualmente para evitar que se mordieran o se comieran entre ellas.

Además se pusieron 15 granos en placas Petri aparte, para registrar el peso promedio que perdería un grano de maíz por deshidratación en 24 h como factor de corrección.

Evaluación del efecto antialimentario

El porcentaje de maíz consumido se evaluó un día después de la aplicación (1 dda), registrando el peso de los granos tratados y sin tratar con la balanza de precisión para establecer el peso del grano de maíz consumido por la larva de *H. zea* de tercer estadio, descontando la deshidratación al promedio del peso consumido de los granos tratados y sin tratar.

Con este consumo, se determinó el índice de inhibición alimentario (IIA) con la fórmula de Defagó *et al.* (2006),

$$\text{IIA}\% = (1-T/C) \times 100,$$

donde T y C son los consumos promedio de los granos tratados y control, respectivamente. En caso de lecturas negativas se consideró un efecto nulo (0,0).

Análisis de los resultados

Para verificar diferencias estadísticas entre las medianas de los granos tratados y no tratados, los pesos obtenidos se analizaron con estadística no paramétrica, usando la prueba de rangos con signo para muestras apareadas de Wilcoxon, con el programa estadístico InfoStat versión 2102 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

Ensayo del efecto insecticida

Tratamientos y diseño experimental

En el Cuadro 2 se presentan los tratamientos que se evaluaron en el ensayo del efecto insecticida.

Cuadro 2. Tratamientos de laboratorio evaluados en el ensayo del efecto insecticida con sus ingredientes activos y volúmenes/dosis aplicados sobre larvas de tercer estadio de *H. zea*.

Tratamientos	Ingredientes activos	Volúmenes usados	Dosis
Testigo	Ninguno	0	
<i>S. molle</i> 100% v/v	Extracto botánico	10 mL	
<i>S. molle</i> 50% v/v	Extracto botánico	10 mL	
<i>A. absinthium</i> 100% v/v	Extracto botánico	10 mL	
<i>A. absinthium</i> 50% v/v	Extracto botánico	10 mL	
Dipel® WG (<i>Btk</i>) 100%	<i>Btk</i>	10 mL	1,8 g/L
Dipel® WG 50%	<i>Btk</i>	10 mL	0,9 g/L
<i>S. molle</i> 100% v/v + Dipel® WG 50%	Extracto y <i>Btk</i>	10 mL	0,9 g/L
<i>A. absinthium</i> 100% v/v + Dipel® WG 50%	Extracto y <i>Btk</i>	10 mL	0,9 g/L
Nockeo®	Tiametoxam y lambdacialotrina	10 mL	0,6 mL/L

Para mejorar el cubrimiento y efecto humectante en los granos, a todas las soluciones de los tratamientos se les bajó el pH hasta ~5 con el producto comercial Indicate 5, recomendado para obtener un mejor rendimiento de los bioinsecticidas según el fabricante.

A continuación se presentan algunas características de los productos utilizados:

Dipel® WG (Valent BioSciences Corporation, USA, distribuido por ANASAC, Chile) es un insecticida biológico microbiano cuyo principio activo es la bacteria *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*), en una formulación de gránulos dispersables en agua, que actúa por ingestión, sobre todo en los primeros estadios larvarios de lepidópteros plaga. Es compatible con la mayoría de insecticidas, fungicidas y productos coadyuvantes. Se recomienda mezclarlo bien y no presenta riesgo para el ambiente. Incompatible con sustancias con pH menor a 3 ó mayor a 10. La repetición de las aplicaciones depende de la tasa de crecimiento de una planta, actividad de la plaga, lluvias y otros factores, y generalmente van de 3 a 14 d. Para la aplicación de Dipel® WG en cultivos en crecimiento se recomienda añadir dispersantes y adhesivos a la mezcla de agua y gránulos. Los dispersantes ayudan a reducir la tensión superficial de la solución y logran un mayor cubrimiento de la superficie de interés y los adhesivos hacen que la solución se aferre mejor a la planta y lo protege del lavado por lluvia o la descomposición por la luz solar. Se usó la dosis recomendada por el fabricante de Dipel® WG 100% (Valent BioSciences Corporation, 2005) y con la mitad se preparó el tratamiento Dipel® WG 50%.

Nockeo® es un insecticida agrícola (Parijat Industries, India, importado y distribuido por El Agro, Ecuador), cuyos principios activos son el tiametoxan (141 g/L) y lambdacialotrina (106 g/L). El tiametoxan es un neonicotinoide sistémico de efecto residual elevado, actúa por contacto directo, también es absorbido rápidamente y transportado a toda la planta donde actúa en el estómago de los insectos succionadores o masticadores, interfiriendo la transmisión nerviosa entre neuronas; mientras la lambdacialotrina es un piretroide también de alto efecto residual cuya principal acción es por contacto y altera el sistema nervioso del insecto causando parálisis y muerte. La vida media de estos principios activos en superficies de plantas es de 5 d. Es un producto moderadamente peligroso. Se usó la dosis

recomendada por el fabricante (Syngenta, 2009). Las fórmulas de los principios activos se presentan en el Anexo II.

Indicate 5 (Marketing ARM International, importado y distribuido por Ecuaquímica, Ecuador) es un coadyuvante humectante líquido que permite regular el pH del agua de aspersión; además actúa como surfactante que reduce la tensión superficial de una solución, e indica el pH mediante cambio de color. Su ingrediente activo es ácido fosfórico 25% e inertes 75% p/p (Marketing ARM International, s/a)

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 tratamientos (incluyendo el testigo sin aplicación y un producto estándar que contenía tiametoxam y lambdacialotrina usado en la agricultura ecuatoriana) y 5 repeticiones (10 placas Petri constituyeron una repetición y en cada una se utilizó sólo una larva de tercer estadio para evitar que se mordieran e hicieran daño).

Manejo del experimento

La unidad experimental consistió en 10 larvas de tercer estadio larvario con 10 granos de maíz fresco sobre los que se aplicó el tratamiento respectivo por inmersión; luego de 24 h se anotó a diario por 15 d el porcentaje de mortalidad en cada tratamiento.

Para cada tratamiento se prepararon 10 mL en los que se sumergieron 10 granos de maíz fresco orgánico por 1 min, luego se dejó secar al ambiente en papel filtro por 7 min, en seguida se depositaron con pinzas en placas Petri y se introdujo en cada una, una larva de tercer estadio de *H. zea* (5 a 10 mm de longitud), después de un ayuno de 6 h.

El grano de maíz se cambió diariamente por un grano fresco orgánico sin tratamiento durante los 15 d de evaluación.

Evaluación y criterio de mortalidad

Las larvas se observaron diariamente por 15 d para registrar la mortalidad. Si las larvas no se movían a pesar de un leve roce con un pincel número 0 y se observaba coloración negruzca se consideraban muertas.

Análisis de los resultados

Como en la evaluación hubo una baja mortalidad en el testigo, no fue necesario corregir la mortalidad (Busvine, 1980). Los porcentajes de mortalidad acumulada de las larvas de *H. zea* se normalizaron mediante transformación de Bliss (arcoseno $\sqrt{\%mortalidad/100}$) para cumplir los supuestos de homocedasticidad y normalidad de las pruebas paramétricas. Se realizó el ANDEVA y al detectarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% para comparaciones entre las medias de los tratamientos mediante el programa InfoStat versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

Ensayo de campo

Lugar del estudio

El cultivo comercial se situó en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador ($1^{\circ} 42' 32''$ S; $78^{\circ} 35' 52''$ W) a 2.500 msnm y temperatura promedio de 15°C y rodeado de una plantación de tomate de árbol y coles.

Manejo agrícola del cultivo

El manejo agrícola del cultivo de maíz para la evaluación del efecto de los extractos botánicos en combinación con *Btk* lo hizo el Sr. Jorge Capelo, presidente del Centro Agrícola del Cantón Chambo, Chimborazo, Ecuador, entre junio a noviembre de 2013, en un terreno de 2.457 m^2 de su administración, quién siguió las recomendaciones de Peñaherrera (2011), avaladas por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP de Ecuador, para el Manejo Integrado del Cultivo del maíz Suave, con algunas modificaciones.

La siembra se hizo el 14 de junio, en un terreno (Figura 3 a) surcado a la dimensión recomendada de 80 cm entre hileras (Figura 3b), dando como resultado 79 “wachos” o líneas de siembra (Figura 3c). Se abonó con 40 sacos de gallinaza (abono orgánico sugerido por el mismo INIAP) según requerimientos para el cultivo (Figura 3d) y se sembraron dos semillas por golpe a una distancia de 50 cm. Se escogió para la siembra la semilla de maíz var. INIAP-101 Blanco Harinoso Precoz, recomendada para la zona del ensayo; se utilizaron 7,73 kg de semilla.



Figura 3. Manejo y evaluación del ensayo de campo, Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador: (a) preparación previa con tractor, (b) separación de 80 cm entre surcos, (c) formación de surcos (d) aplicación de abono de gallinaza (e) planta a los 13 d de siembra, (f) primera aplicación de Neem-X, (g) riego por surcos, (h) aplicación de los tratamientos con atomizador manual a los estilos frescos de maíz, (i) evaluación en laboratorio del daño de *H. zea* en mazorcas cosechadas.

El 28 de junio, cuando la mayoría de las semillas germinaron y tenían tres hojas verdaderas (Figura 3 e), se hizo una primera aplicación de tres productos al follaje y suelo con bomba de espalda, para estimular el crecimiento de las raíces y prevenir el daño de insectos (Figura 3 f). Para ello se utilizaron en dosis comerciales los siguientes productos: para fertilizar, el producto Bioplus® (producto obtenido por la descomposición anaeróbica de alfalfa, higuierilla, con auxinas, giberelinas y oligoelementos) a 0,5 L/100 L de agua; para estimular el crecimiento de las plantas, Rootmost (extracto de algas con micronutrientes, hidratos de carbono y promotores de crecimiento) a 0,5 L/100 L de agua; y el insecticida Neem-X a 0,5 L/100 L de agua. El principio activo del Neem-X (Marketing ARM International, importado y distribuido por Ecuaquímica, Ecuador) es la azadiractina, metabolito secundario presente en las semillas del árbol de neem (*Azadirachta indica*), que controla mosca blanca, minadores, áfidos, lepidópteros y coleópteros, y actúa como regulador de crecimiento, por lo que las larvas y ninfas no pasan al estado adulto. El insecticida Neem-X requiere un pH de 4,5 a 5,5, por lo que se utilizó el producto Indicate 5, recomendado como surfactante para lograr un mejor cubrimiento.

El 12 de julio se hizo una segunda aplicación de Neem-X a la misma dosis anterior, según la recomendación del fabricante.

El 18 de julio se aplicó el herbicida atrazina (Atrapac® WG 90, Drexel Chemical Company, USA, importado y distribuido por Agripac, Ecuador) para controlar las malezas en post-emergencia, un herbicida sistémico selectivo en gránulos dispersables en agua en dosis de 900 g/100 L de agua. Para ésta y las aplicaciones siguientes se utilizó una bomba a motor de espalda de alta presión.

Para prevenir y disminuir el efecto de las heladas y enfermedades producidas por hongos, el 5 de agosto se hizo una nueva aplicación. Se usó Leili 2000 (Beijing Leili Agrochemistry Co., Ltda China), un producto fertilizante, bioestimulante que posee macro y micronutrientes y protege del estrés en dosis de 500 mL/100 L agua. Se usó además el fungicida Tilt® (Syngenta, importado y distribuido por Ecuaquímica), un producto sistémico en base a propiconazol en dosis de 50 mL/100 L de agua.

El 9 de agosto se aplicó abono de guano de cuy y se hizo el primer aporque manual, contratando tres obreros a jornada completa por dos días.

El 3 de septiembre se realizó otra aplicación de productos para prevenir el efecto de las heladas y enfermedades producidas por hongos, bacterias y el daño de insectos. Para lo primero se usó un complemento nutricional en base a macro y micronutrientes aplicados vía foliar. Los productos usados fueron CaBoron (Leili, China) 120 mL/100 L de agua, y Nutri-Leaf 20-220-20 (Miller, USA) 500 g/100 L de agua. Para prevenir el daño de hongos, bacterias e insectos se utilizó Brillante azul (Zhejiang Heben Pesticide Chemicals Co., Ltd. China, distribuido por El Agro), fungicida sistémico protectante en polvo mojable cuya formulación es metulax 80 g/kg, mancozeb 640 g/kg, e inertes 280 g/kg. Además se usó el fungicida Tilt y para insectos Curacron (Syngenta, Colombia, distribuido por Ecuaquímica), cuyos principios activos son profenoles 500 g/L, y 47,7/L g de una mezcla de hidrocarburos; este producto es un insecticida de contacto y acción estomacal con efecto translaminar, y se aplicó según recomendación del fabricante a 100 mL/100 L de agua.

El 10 de septiembre, para el engrose de las mazorcas, además de aporcar, se abonó con 50 kg de Ferpacific® (Fepacific s.a, Ecuador), que contiene urea con 46% de nitrógeno y 10 kg de Rosafert 12-12-17 (Rosafert, Bélgica) cuya formulación es 12-12-17 S + 2MgO + 22SO₃ + oligoelementos. Este es un fertilizante complejo granular que es absorbido inmediatamente por la planta. Ambos abonos se mezclaron y distribuyeron en forma homogénea a lo largo del cultivo.

El riego por surco del cultivo se hizo cada 15 d preferentemente entre las 7:00 y 9:00 AM (Figura 3g). Al cultivo no se le aplicó ningún otro producto hasta la aparición de los primeros estilos de las mazorcas (24 de septiembre), donde se asperjaron los tratamientos contra el gusano del choclo.

Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron los extractos y productos aplicados en el ensayo del efecto insecticida en laboratorio pero con dosis diferentes (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos de campo para la evaluación del efecto de los extractos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y mezclados con *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*), sobre *H. zea* en parcelas experimentales con maíz de grano suave INIAP-101 en Chambo, Chimborazo, Ecuador.

Tratamientos	Ingredientes activos	Volúmenes usados	Dosis
Testigo	Ninguno	0	
<i>S. molle</i> 100% v/v	Extracto botánico	200 mL	
<i>S. molle</i> 50% v/v	Extracto botánico	200 mL	
<i>A. absinthium</i> 100% v/v	Extracto botánico	200 mL	
<i>A. absinthium</i> 50% v/v	Extracto botánico	200 mL	
Dipel® WG 100%	<i>Btk</i>	200 mL	1,8 g/L
Dipel® WG 50%	<i>Btk</i>	200 mL	0,9 g/L
<i>S. molle</i> 100% v/v + Dipel® WG 50%	Extracto y <i>Btk</i>	200 mL	0,9 g/L
<i>A. absinthium</i> 100% v/v + Dipel® WG 50%	Extracto y <i>Btk</i>	200 mL	0,9 g/L
Nockeo®	Tiametoxam y lambdacialotrina	200 mL	0,60 mL/L

Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado con 10 tratamientos y 5 repeticiones. El factor de bloqueo fue la dirección del riego. Cada parcela o repetición constituyó una unidad experimental de 2 m de ancho x 2,5 m de largo, con 4 filas de siembra con aprox. 56 plantas, aprox. 112 grupos de estilos y 20 mazorcas colectadas a la cosecha para registrar el número de larvas encontradas y evaluar el daño después de la aplicación de los tratamientos. Las parcelas se separaron por una hilera entre parcelas (Figura 4).

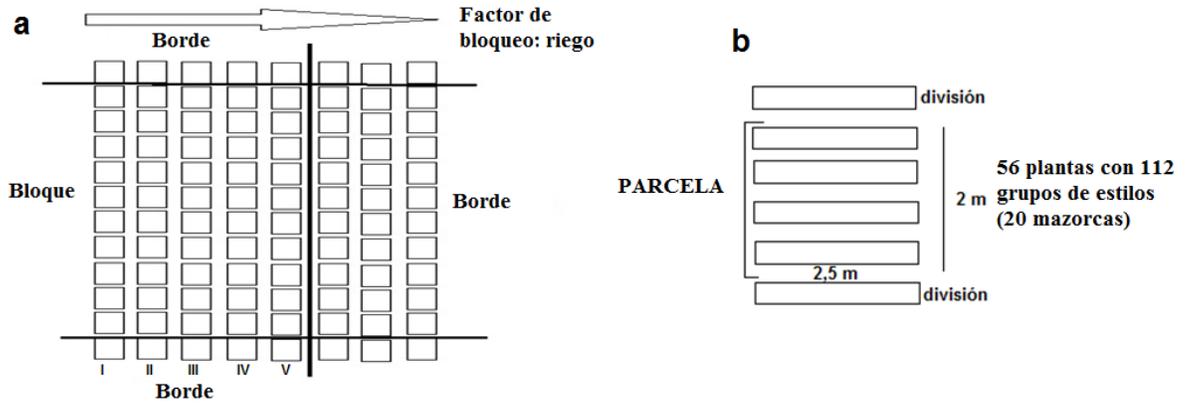


Figura 4. Diseño y unidad experimental del ensayo; (a) esquema del ensayo, (b) elementos de la unidad experimental o parcela.

El 15 de septiembre se delimitaron con cintas plásticas las parcelas que recibirían después los tratamientos. Se incluyeron algunas parcelas para evitar efectos de borde, en las que no se aplicó ningún producto durante la aspersión de los tratamientos para asegurar una presión constante de la plaga. En cada bloque se asignaron aleatoriamente los tratamientos (Figura 4).

Manejo del experimento.

Desde la aparición de los primeros estilos en las plantas de maíz (24 de septiembre), se hicieron aplicaciones cada 4 d con los tratamientos indicados en el Cuadro 3 hasta el 8 de noviembre, en total 13 aplicaciones. Para cada aplicación se prepararon 200 mL de solución, siguiendo el mismo proceso que el descrito para el ensayo insecticida de laboratorio. Para la aplicación se utilizaron atomizadores pequeños de 200 mL de capacidad con los cuales se mojó cada grupo de estilos con 0,4 mL de solución del tratamiento preparado para la aplicación (Figura 3 h).

El 12 de noviembre se colectaron 20 mazorcas al azar de cada una de las parcelas experimentales y guardaron en bolsas etiquetadas con la referencia de cada parcela.

Evaluación y análisis del experimento

La evaluación se hizo en laboratorio el 13 y 14 de noviembre. Para evaluar la presencia de larvas de *H. zea* en las parcelas experimentales, se contó el número de larvas vivas en 20 mazorcas en cada una de las repeticiones de cada tratamiento. Los promedios se analizaron mediante ANDEVA y al detectarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% para comparaciones entre las medias de los tratamientos mediante el programa InfoStat versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

Simultáneamente, para evaluar el daño de larvas de *H. zea* en mazorcas en las parcelas experimentales, se examinó y registró el daño de las 20 mazorcas de cada repetición según los criterios de evaluación (Figura 5).

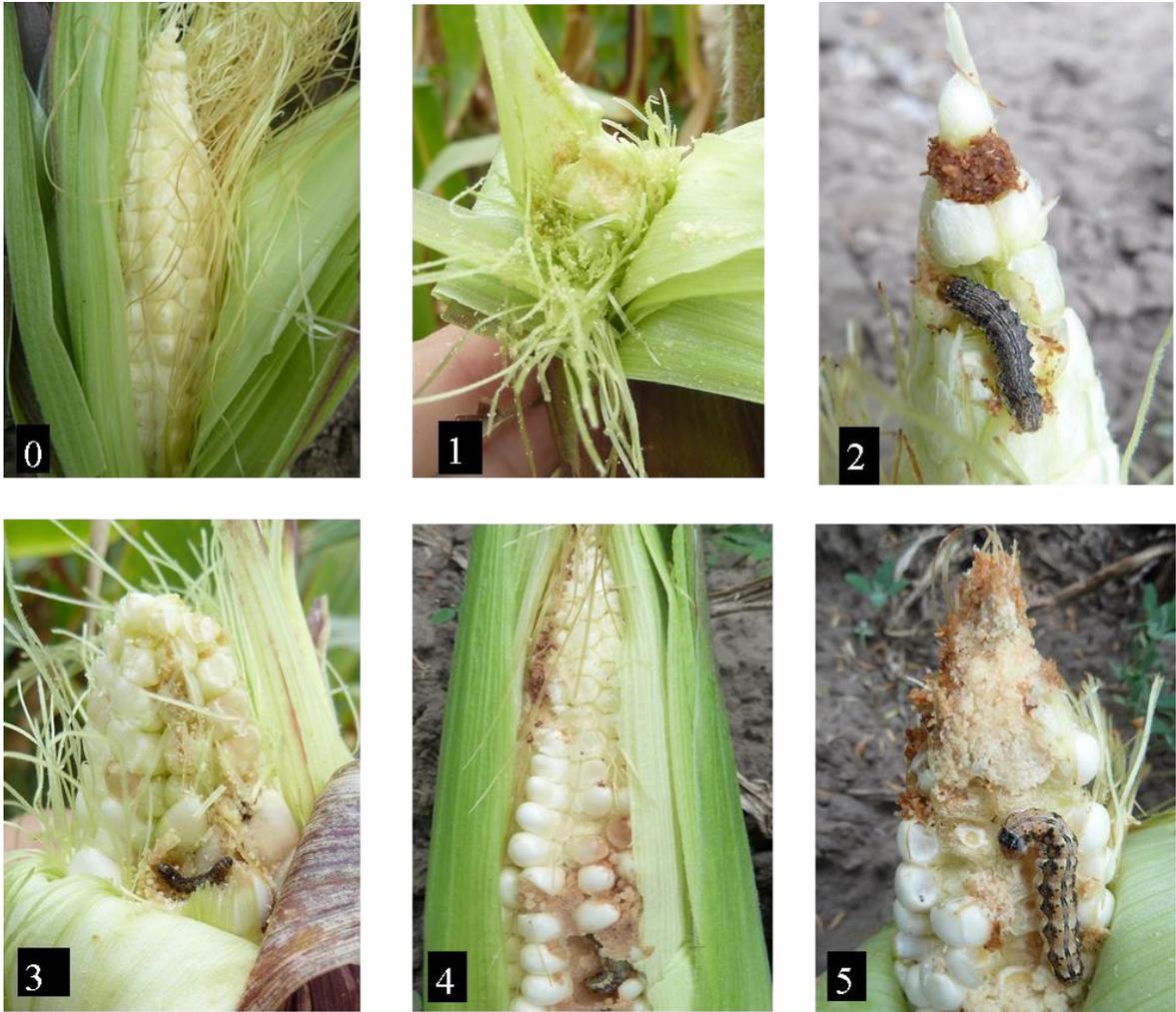


Figura 5. Criterios para la evaluación de los tratamientos según niveles de daño de *H. zea* en choclo a la cosecha. Nivel 0: Mazorca sin daño. Nivel 1: daño leve del estilo, penetra hasta 1 cm desde el ápice, no alcanza a afectar granos. Nivel 2: daño moderado de la mazorca, penetra hasta 2 cm desde el ápice, galería pequeña, logra afectar 1 a 3 granos. Nivel 3: daño medio de la mazorca, penetra hasta 3 cm desde el ápice, galería grande, afecta 4 a 6 granos. Nivel 4: daño severo de la mazorca, penetra hasta 4 cm, afecta 7 a 9 granos. Nivel 5: daño muy severo de la mazorca, penetra más de 5 cm, afecta 10 o más granos. Escala modificada desde Arretz *et al.* (1976).

En la evaluación del porcentaje de mazorcas dañadas se consideraron los niveles 2 hasta 5, el nivel 1 no se consideró pues sólo afecta al estilo, sin dañar a los granos y por tanto no representa una disminución del valor comercial. En el porcentaje de mazorcas dañadas y penetradas se incluyó los niveles 1 hasta 5, dado que las larvas llegaron a afectar el estilo, y además los granos (Figura 5). La intensidad de daño (IDD) se calculó mediante la fórmula de Townsed y Heuberger (1945):

$$IDD_{N(1-5)} = \frac{N_1 \times 1 + N_2 \times 2 + N_3 \times 3 + N_4 \times 4 + N_5 \times 5}{n}$$

donde $N_{(1-5)}$ corresponde al número de mazorcas encontradas en el nivel del daño (1 hasta 5) (Figura 5). Y “ n ” al número de mazorcas evaluadas (20). En intensidad de daño se consideró el nivel 1 debido a que interesaba evaluar el daño en toda la mazorca (Salazar, 2011).

Los promedios en porcentaje se normalizaron por transformación de Bliss para cumplir con los supuestos de homocedasticidad y normalidad de las pruebas. Se hizo el ANDEVA y al detectarse diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% para comparaciones entre las medias de los tratamientos mediante el programa InfoStat versión 2012 (Di Rienzo *et al.*, 2012).

Resultados

Efecto antialimentario

Los resultados del ensayo para evaluar el efecto antialimentario de los tratamientos aplicados por inmersión sobre granos de maíz suave sobre larvas de tercer estadio de *H. zea* se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Efecto antialimentario de los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* en varias concentraciones en el alimento de larvas de tercer estadio de *H. zea* en una prueba de opción al azar. Cada valor corresponde al promedio (%) de 15 repeticiones (\pm error estándar).

Extractos (v/v)	Maíz consumido (%)		Efecto antialimentario (%)
	Control sin tratar	Granos tratados	
<i>S. molle</i> 100%	4,9 \pm 0,010 a *	2,6 \pm 0,004 a	45,2
<i>S. molle</i> 50%	6,9 \pm 0,013 a	3,3 \pm 0,006 a	48,8
<i>A. absinthium</i> 100%	7,6 \pm 0,010 a	8,5 \pm 0,008 a	0,0
<i>A. absinthium</i> 50%	3,8 \pm 0,005 a	8,1 \pm 0,007 a	0,0

* Promedios en una fila con la misma letra no son diferentes significativamente ($P \leq 0,05$), según prueba de rango con signo para muestras apareadas de Wilcoxon.

Tanto los granos tratados con extractos de hojas de *S. molle* al 100 y 50% v/v como *A. absinthium* al 100 y 50% v/v no presentaron diferencias significativas en el consumo de larvas de tercer estadio de *H. zea* con respecto al control sin tratar según la prueba de Wilcoxon (Cuadro 4).

Los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* tuvieron diferente efecto antialimentario. Los extractos de *S. molle* tuvieron un efecto antialimentario similar entre 45 y 49%, mientras que el efecto de *A. absinthium* en ambas concentraciones fue nulo (Cuadro 4).

Efecto insecticida

Los resultados del ensayo para evaluar el efecto insecticida de los tratamientos aplicados por inmersión de 1 min de granos de maíz sobre larvas de tercer estadio de *H. zea* se presentan en la Figura 6.

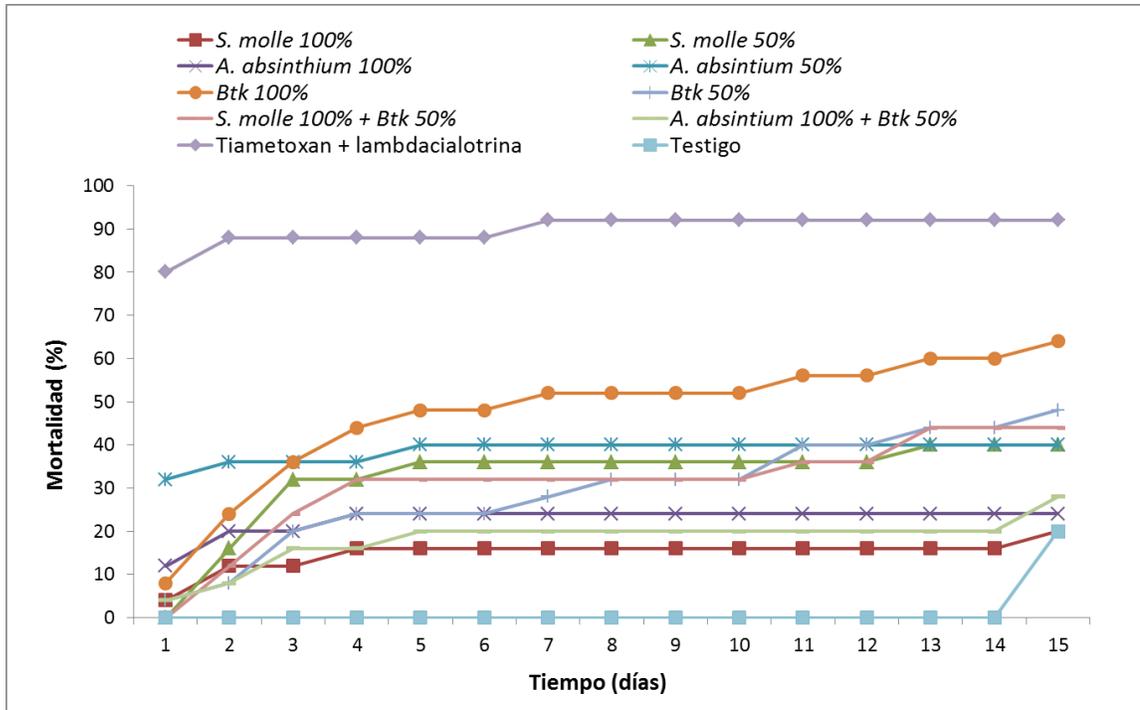


Figura 6. Mortalidad acumulada (%) de larvas de *H. zea* por efecto de los extractos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, durante 15 d de evaluación.

En la Figura 6 se aprecia una muerte rápida de casi todas las larvas de tercer estadio de *H. zea* el primer día en el tratamiento con tiametoxan + lambdacialotrina, que alcanzó su máximo acumulado el día 7, mientras las larvas que no recibieron ninguna aplicación tuvieron una supervivencia constante hasta el día 14, cuando comenzaron a morir. El tratamiento con *Btk* al 100% presentó un aumento constante de la mortalidad de las larvas de *H. zea* a lo largo de los 15 d de evaluación, al igual que *Btk* al 50%, aunque en este tratamiento el porcentaje de mortalidad acumulada final fue menor, como se esperaba por la menor concentración. Al 15 dda los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* al 100% v/v, solos y en mezcla con *Btk* al 50%, presentaron una mortalidad acumulada menor al efecto de *Btk* al 100 y 50%.

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de mortalidad a 1, 8 y 15 dda, que se analizaron estadísticamente.

Cuadro 5. Mortalidad promedio ($\% \pm$ error estándar) de larvas de *H. zea* por efecto de los extractos acuosos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos y en mezcla con *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*), a 1, 8 y 15 d después de la aplicación (dda) en laboratorio.

Tratamientos	Días después de la aplicación (dda)		
	1	8	15
Testigo	0,0 \pm 0,0 c *	0,0 \pm 0,0 c	4,0 \pm 1,8 c
<i>S. molle</i> 100% v/v	4,0 \pm 1,8 c	16,0 \pm 3,3 bc	20,0 \pm 6,1 bc
<i>S. molle</i> 50% v/v	0,0 \pm 0,0 c	24,0 \pm 6,6 bc	28,0 \pm 6,6 bc
<i>A. absinthium</i> 100% v/v	12,0 \pm 2,2 bc	24,0 \pm 6,6 bc	24,0 \pm 6,6 bc
<i>A. absinthium</i> 50% v/v	32,0 \pm 4,6 b	40,0 \pm 4,0 b	40,0 \pm 4,0 b
<i>Btk</i> 100%	8,0 \pm 2,2 c	52,0 \pm 4,6 ab	64,0 \pm 1,8 ab
<i>Btk</i> 50%	4,0 \pm 1,8 c	32,0 \pm 2,2 bc	48,0 \pm 3,6 b
<i>S. molle</i> 100% v/v+ <i>Btk</i> 50%	0,0 \pm 0,0 c	32,0 \pm 2,2 bc	44,0 \pm 3,3 b
<i>A. absinthium</i> 100% v/v+ <i>Btk</i> 50%	4,0 \pm 1,8 c	20,0 \pm 4,0 bc	28,0 \pm 2,2 bc
Tiametoxan + lambdacialotrina	76,0 \pm 0,0 a	92,0 \pm 1,8 a	92,0 \pm 1,8 a

* Promedios en una columna con la misma letra no son diferentes significativamente ($P \leq 0,05$) según prueba de Tukey.

A 1 dda tiametoxan + lambdacialotrina se diferenció significativamente del testigo sin aplicación al obtener una mortalidad de 76%, seguido del extracto de *A. absinthium* al 50% con 32% (Cuadro 5).

A 8 dda tiametoxan + lambdacialotrina continuó presentando diferencias significativas con el testigo sin aplicación, y la mortalidad acumulada aumentó a 92%. El tratamiento con *Btk* 100% y *A. absinthium* 50% v/v le siguió en eficacia, con 52 y 40% de mortalidad, respectivamente. El resto de los tratamientos no presentó diferencias significativas con el testigo sin tratar (Cuadro 5).

A 15 dda tiametoxan + lambdacialotrina y *Btk* 100% causaron la mayor mortalidad en comparación con el testigo, 92 y 64%, respectivamente. También, los tratamientos con *Btk* 50%, *S. molle* 100 % v/v + *Btk* 50% y *A. absinthium* 50% v/v, difirieron estadísticamente del testigo, con 48, 44 y 40%, de mortalidad, respectivamente (Cuadro 5).

Efecto en el número de larvas detectadas y daño en mazorcas

El número de larvas de *H. zea* de diferentes estadíos encontrados en la evaluación de las mazorcas frescas en el campo se presenta en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Número de larvas de *H. zea* (promedio \pm error estándar) en 20 mazorcas tratadas por aspersión con atomizador manual cada 4 d desde la aparición de los primeros estilos de maíz de grano suave INIAP-101 en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.

Tratamientos	Número promedio de larvas en 20 mazorcas
Testigo	10,0 \pm 1,8 a *
<i>S. molle</i> 100% v/v	4,8 \pm 1,3 bc
<i>S. molle</i> 50% v/v	5,4 \pm 0,8 abc
<i>A. absinthium</i> 100% v/v	5,0 \pm 1,2 abc
<i>A. absinthium</i> 50% v/v	5,6 \pm 1,0 abc
<i>Btk</i> 100%	4,4 \pm 0,5 bc
<i>Btk</i> 50%	5,6 \pm 0,9 abc
<i>S. molle</i> 100% v/v + <i>Btk</i> 50%	3,4 \pm 0,9 c
<i>A. absinthium</i> 100% v/v + <i>Btk</i> 50%	8,6 \pm 1,0 ab
Tiametoxan + lambdacialotrina	2,6 \pm 0,9 c

* Promedios en una columna con la misma letra no son diferentes significativamente ($P \leq 0,05$) según prueba de Tukey.

Los tratamientos que presentaron diferencias significativas en el promedio de larvas detectadas a la cosecha de choclos con el testigo sin tratar fueron tiametoxan + lambdacialotrina, *S. molle* 100% v/v + *Btk* 50%, *Btk* 100% y *S. molle* 100% v/v con un promedio de 2,6; 3,4; 4,4 y 4,8, respectivamente (Cuadro 6).

Los resultados obtenidos en la evaluación del daño de mazorcas después de aplicar los tratamientos con un aspersor manual en los estilos frescos del maíz cada 4 d después de la primera aparición hasta 4 d antes de la cosecha se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Mazorcas dañadas, mazorcas dañadas y penetradas (porcentajes promedio \pm error estándar) e intensidad del daño causado por larvas de *H. zea* en estilos de maíz tratado de grano suave INIAP-101 en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.

Tratamientos	Mazorcas dañadas (%)	Mazorcas dañadas y penetradas (%)	Intensidad de daño
Testigo	41,0 \pm 7,0 a *	61,0 \pm 6,0 a	1,8 \pm 0,3 a
<i>S. molle</i> 100% v/v	50,0 \pm 6,9 a	64,0 \pm 6,8 a	2,0 \pm 0,3 a
<i>S. molle</i> 50% v/v	57,0 \pm 6,4 a	69,0 \pm 5,3 a	2,2 \pm 0,3 a
<i>A. absinthium</i> 100% v/v	56,0 \pm 6,9 a	71,0 \pm 4,9 a	2,1 \pm 0,2 a
<i>A. absinthium</i> 50% v/v	52,0 \pm 4,9 a	61,0 \pm 5,6 a	2,0 \pm 0,2 a
<i>Btk</i> 100%	58,0 \pm 6,8 a	65,0 \pm 5,0 a	2,0 \pm 0,3 a
<i>Btk</i> 50%	68,0 \pm 8,3 a	73,0 \pm 7,5 a	2,8 \pm 0,5 a
<i>S. molle</i> 100% v/v + <i>Btk</i> 50%	46,0 \pm 4,9 a	55,0 \pm 4,7 a	1,8 \pm 0,2 a
<i>A. absinthium</i> 100% v/v + <i>Btk</i> 50%	54,0 \pm 7,3 a	68,0 \pm 6,8 a	2,4 \pm 0,4 a
Tiametoxan + lambdacialotrina	14,0 \pm 4,0 b	21,0 \pm 4,3 b	0,6 \pm 0,1 b

* Promedios en una columna con la misma letra no son diferentes significativamente ($P \leq 0,05$) según prueba de Tukey.

En relación a las mazorcas dañadas, dañadas y penetradas y la intensidad de daño, sólo el tratamiento de tiametoxam + lambdacialotrina obtuvo un daño significativamente menor al testigo sin aplicación. Los tratamientos de extractos solos y combinados con *Btk* no se diferenciaron del testigo sin aplicación (Cuadro 7).

Discusión

Efecto antialimentario

La mayoría de las plantas hospederas tienen metabolitos inhibitorios de alimentación o deterrentes para insectos que no son sus huéspedes habituales. Los insectos monófagos y oligófagos son más sensibles a estos deterrentes que los insectos polífagos. Los dos primeros grupos sólo tolerarían sustancias deterrentes de uno o ciertos grupos botánicos mientras que el último grupo toleraría de varios grupos (Schoonhoven, 2005). Por lo tanto, al comparar el efecto antialimentario de los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* sobre larvas de *H. zea* con otros insectos hay que considerar su hábito alimentario.

La tolerancia a sustancias deterrentes sería característica de larvas de *H. zea*. Tanto los granos tratados con extractos de hojas de *S. molle* al 100 y 50% v/v como *A. absinthium* al 100 y 50% v/v no presentaron diferencias significativas en el consumo de larvas de tercer estadio de *H. zea* con respecto al control. Además el efecto antialimentario de los extractos de hojas de *S. molle* al 100 y 50% v/v fue 45,2 y 48,8%, respectivamente; porcentajes menores si se comparan con el efecto antialimentario de extractos acuosos de hojas de *S. molle* sobre adultos de *X. luteola*, donde un rango de concentración (2,5; 3,0; 4,3 y 5,6% p/v) causó diferencias significativas con el control y un efecto antialimentario superior a 98,32% (Huerta *et al.*, 2010), lo que sugiere que ante el mismo extracto hay grados diferentes de efecto antialimentario entre especies de insectos. Así, las larvas polífagas de *H. zea* tolerarían una mayor variedad de sustancias deterrentes, como las presentes en *S. molle*, mientras los adultos monófagos de *X. luteola* no la tolerarían.

Heliothis zea también toleraría otro tipos de extractos de plantas debido a su condición polífaga. Al comparar el efecto antialimentario del extracto de *S. molle* en ambas concentraciones sobre el tercer estadio larvario de *H. zea* con el estudio de Silva *et al.* (2013) sobre el efecto antialimentario del extracto de hojas *P. boldus* sobre larvas de tercer estadio de *H. zea* se observan resultados similares. Con los extractos acuosos de hojas de *P. boldus* en concentraciones desde 0,50 a 8% p/p, el efecto antialimentario varió entre 37,7 y 57,3%, sin diferencias significativas entre las concentraciones. Esta tolerancia a sustancias disuasivas explicaría también el efecto antialimentario nulo de los extractos acuosos de *A. absinthium*.

En resumen, las larvas polífagas de *H. zea* tendrían una mayor tolerancia a sustancias disuasivas de plantas que no son sus huéspedes como *S. molle* y *A. absinthium* y esto explicaría por qué consumieron indistintamente granos de maíz tratados con los extractos y granos sin tratar, por lo que no se encontraron diferencias significativas con respecto a su control en las varias concentraciones aplicadas.

Efecto insecticida

Extractos de *S. molle* y *A. absinthium*

Los resultados obtenidos indican en general un efecto menor de los extractos acuosos de *S. molle* y *A. absinthium* sobre la mortalidad de larvas de *H. zea* que el resto de tratamientos. El extracto de *A. absinthium* 50% v/v causó una mortalidad promedio larvaria significativa (40%). Este efecto fue manifiesto a 1 dda (32%), se mantuvo al 8 dda (40%) y continuó hasta 15 dda. Cabe resaltar que este nivel de mortalidad no se obtuvo con la concentración mayor del extracto de *A. absinthium*, la que causó apenas 24% de mortalidad promedio a 15 dda. Los porcentajes de mortalidad promedio producidos por estos extractos sobre insectos son menores a los de otros estudios (Brudea, 2007; Huerta *et al.*, 2010; Chiffelle *et al.*, 2013). Una vez más, los rangos de asociación de los insectos con sus plantas hospederas podrían explicar las diferencias.

En este estudio, el extracto acuoso de *S. molle* 100% v/v causó una mortalidad promedio del 16% al día 8 de evaluación. Esta cifra es inferior a la mortalidad promedio producida por extractos acuosos de *S. molle* al 5,6% p/v sobre el adulto de *X. luteola*, de 27,8% al día 4 de evaluación (Huerta *et al.*, 2010), y muy inferior al 67 y 63% de mortalidad obtenidos con extractos acuosos de hojas jóvenes y nuevas, respectivamente, sobre el tercer estadio larvario de *X. luteola* con la concentración de 4,3% p/v (Chiffelle *et al.*, 2013).

La mortalidad causada por el extracto acuoso de *A. absinthium* sobre larvas de *H. zea* fue menor si se compara con otros insectos plaga. Por ejemplo, este extracto produjo en el presente estudio sólo 24% de mortalidad promedio de *H. zea* al 8 dda, mientras que en el trabajo de Brudea (2007), el extracto acuoso de *A. absinthium* obtenido a partir de 25 g/L agua sobre *Aphis spiraephaga* causó 80% de mortalidad al 4 dda.

En el caso de *S. molle* 100 y 50% v/v, hubo tan solo 20 y 28% de mortalidad acumulada, y para *A. absinthium* 100 y 50% v/v niveles de mortalidad de 24 y 40%, respectivamente, al 15 dda. Este porcentaje menor de mortalidad también se encontró al utilizar extracto acuoso de hojas de boldo (*P. boldus*) contra *H. zea* en ensayos de laboratorio donde se obtuvo solo 30% de mortalidad con la mayor concentración (8% v/v) (Silva *et al.*, 2013).

La especie polífaga *H. zea* muestra también tolerancia y poca sensibilidad a sustancias tóxicas presentes en los extractos de *S. molle*, *A. absinthium* y *P. boldus*, plantas no hospederas, lo que explicaría el menor porcentaje de mortalidad obtenido en comparación con los producidos por el extracto de *S. molle* y *A. absinthium* sobre las especies monófaga y oligófaga como *X. luteola* y *A. spiraephaga*, respectivamente.

Se debe considerar que esta relación de asociación de insectos con su planta hospedera y grado de tolerancia no siempre se cumple. Por ejemplo, Silva *et al.* (2013) encontraron 75% de mortalidad con 8% v/v de concentración del extracto de hojas de *P. boldus* sobre el tercer estadio larvario de la polífaga *S. frugiperda*, mientras a la misma concentración el extracto de hojas de *P. boldus* causó solo 30% de mortalidad en larvas de *H. zea* del mismo estadio.

Según Silva *et al.* (2013), al tratar las larvas con extracto acuoso de *P. boldus*, el tamaño, diámetro, peso de las larvas y número de ellas que llegan al estado de pupa disminuyó a medida que aumentó la concentración del extracto; también registró una mayor demora de las larvas en comenzar a pupar. Las mayores concentraciones de los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* no reflejaron porcentajes promedio superiores de mortalidad. Por tanto para tener una comprensión más completa del efecto insecticida de estos últimos extractos a diferentes concentraciones sobre *H. zea*, se debería continuar con estudios que incorporen otras variables, como peso y tamaño de las larvas, número de larvas que pupan, tiempo en pupar, tamaño de los adultos, etc.

Bacillus thuringiensis var kurstaki

Los promedios de mortalidad producidos por *Btk* 100 y 50% aumentaron en el tiempo y variaron con la concentración. Las concentraciones de *Btk* de 100 y 50% produjeron un porcentaje promedio menor de mortalidad (8 y 4%, respectivamente), sin diferencias significativas con el control al 1 dda. Posteriormente la concentración mayor de *Btk* 100% tuvo diferencias significativas con el testigo (52%) al 8 dda, finalmente ambas concentraciones tuvieron diferencias significativas con el testigo (64 y 48%, respectivamente) al 15 dda.

Cabe señalar que según recomendación de los fabricantes, *Btk* actúa mejor con los estadios más tempranos de desarrollo, y expresamente señalan el 1^{er} y 2^{do} estadio, lo que lleva a pensar que al trabajar con esos estadios se hubieran obtenido porcentajes de mortalidad mayores.

Extractos de *S. molle* y *A. absinthium* en mezcla con *Btk*

Al ponerse en contacto los compuestos con acción sinérgica, en este caso los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* con *Btk*, cuya toxicidad es conocida, como resultados posibles se tenía: ninguna interacción, la mezcla no produciría ningún efecto aditivo, sinergismo, en que el efecto de la mezcla es superior a la suma de cada efecto individual y antagonismo, en que el efecto es menor de lo previsto (Philogène, 2003).

Al comparar la mortalidad promedio de las larvas de *H. zea* causada por el extracto de *S. molle* 100% v/v y por *Btk* 50% con la mezcla de *S. molle* 100% v/v + *Btk* 50% (20, 48 y 44%, respectivamente) no hubo un aumento en el promedio de mortalidad acumulada producto de la mezcla, lo que indicaría que no hubo un efecto aditivo del extracto sobre *Btk*. También al comparar la mortalidad causada por el extracto de *A. absinthium* 100% v/v y por *Btk* 50% con la mezcla de *A. absinthium* 100% v/v + *Btk* 50% (24, 48 y 28%) no se evidencia un aumento en la mortalidad producto de la mezcla lo que indicaría que tampoco hubo algún efecto aditivo del extracto sobre la efectividad de *Btk*. En síntesis, la interacción entre el extracto de *S. molle* y *A. absinthium* con *Btk* no aumentó el efecto de *Btk*. Silva (2010) tampoco encontró un efecto de potenciación entre del extracto de *P. boldus* sobre *Btk* al evaluar la mortalidad de *S. frugiperda*.

Cabe mencionar que algún experimento con un diseño factorial que considere más concentraciones de los extractos y de *Btk* puede representar mejor las relaciones posibles entre los extractos evaluados en mezcla con *Btk*.

Aunque los extractos solos de *S. molle* 100 y 50% v/v no aumentaron significativamente la mortalidad promedio, sí lo hizo la mezcla de *S. molle* 100% v/v + *Btk* 50%. Esto sugiere que el *Btk* 50% presente en la mezcla fue lo que produjo tal aumento.

Efecto en el número de larvas de *H. zea* a la cosecha

Los tratamientos que presentaron diferencias significativas en el promedio de larvas detectadas a la cosecha de choclos con el testigo sin tratar fueron tiametoxan + lambdacialotrina, *S. molle* 100% v/v + *Btk* 50%, *Btk* 100% y *S. molle* 100% v/v, con promedios de 2,6; 3,4; 4,4 y 4,8, respectivamente. Estos resultados indican la influencia de la concentración de *S. molle* y *Btk* para disminuir significativamente la infestación de larvas de *H. zea* en las mazorcas. El extracto de *S. molle* únicamente a la mayor concentración utilizada, causó una disminución significativa de la infestación, indicando que la concentración fue un factor importante para reducirla. También se obtuvo una disminución significativa al aplicar *Btk* en la dosis recomendada por el fabricante, indicando nuevamente que la concentración fue clave para disminuir la infestación de forma significativa.

En cambio, con el extracto acuoso de hojas *A. absinthium*, solo y en mezcla con *Btk*, no se produjeron diferencias significativas con el control, lo que indica que el extracto acuoso de hojas de *A. absinthium*, bajo el modo de aplicación realizado, no son una opción a considerar para reducir la infestación de larvas de *H. zea* en condiciones de campo.

Efecto en el daño de larvas de *H. zea* en choclos a la cosecha

Extractos de *S. molle* y *A. absinthium*

Los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* al 100 y 50% v/v, no redujeron significativamente el daño causado por larvas en *H. zea* en mazorcas a la cosecha. Si bien los extractos acuosos de hojas de *S. molle* al 100%, disminuyen significativamente el número de larvas detectadas a la cosecha de choclos en campo; pero con este tratamiento, el daño debido a las larvas no difirió estadísticamente del testigo. Varias pueden ser las causas biológicas o de aplicación de los extractos usados que pudieron influir en estos resultados.

Desde el punto de vista biológico cabe señalar: alta población del insecto en la zona de cultivo; la especie muestra preferencia por la ovoposición en estilos de maíz; tolerancia a sustancias tóxicas; ausencia de enemigos naturales, efecto lento de los extractos y *Btk*; mínima presencia para causar daño importante; son algunos elementos a considerar para explicar por qué los extractos empleados y sus mezclas con *Btk* no lograron reducir significativamente el daño en mazorcas producido por las larvas de *H. zea*.

Como se mencionó, la presencia e intensidad de daño en mazorcas puede ser explicada por una mayor presión de una plaga que es típica de regiones tropicales y subtropicales (Fitt 1989). *H. zea* en Ecuador tiene varias generaciones en un año, está distribuida ampliamente

y tiene gran incidencia en los cultivos de maíz de variedad suave (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Ecuador, 1986).

Además, las larvas prefieren estructuras vegetales con mayor contenido en nitrógeno, como el que se concentra en los estilos del maíz (Fitt, 1989), lo que hizo que su presencia sea todavía mayor en las parcelas experimentales.

En el ensayo de mortalidad de laboratorio, la especie polífaga *H. zea* mostró que es tolerante y poco sensible a sustancias tóxicas presentes en los extractos de *S. molle* y *A. absinthium*, lo que explicaría la presencia de larvas en número suficiente para dañar gravemente las mazorcas en las parcelas en las que se aplicó. En observaciones de campo se muestra cómo una sola larva en mazorcas cosechadas puede realizar un daño importante (Figura 5).

Cabe destacar también que se encontraron larvas (2,6% en 20 mazorcas) en el tratamiento donde se aplicó tiametoxam + lambdacialotrina. Esto indica la habilidad de las larvas de escapar a la acción de los compuestos químicos usados. Se ha demostrado la resistencia desarrollada por *H. zea* a numerosos insecticidas clorados, fosforados y piretroides en diversas partes del mundo, incluso hasta niveles que han causado el colapso en los sistemas agrícolas (Fitt 1989; Abd-Elghafar *et al.*, 1993). Se destaca que uno de los graves problemas del control de *H. zea* en el maíz es precisamente el ingreso rápido del primer estadio larvario desde los estilos frescos al interior de la mazorca, donde está a salvo de la acción de insecticidas de contacto o sustancias que afecten su alimentación (Flores, 2010).

Los compuestos neonicotinoides y piretroides son eficaces pero poco selectivos. Estos compuestos son los principios activos de varios insecticidas que se usan en el cantón Chambo para el control del gusano del choclo y probablemente sean los responsables de la disminución de la población de enemigos naturales de *H. zea*. En el campo durante las aplicaciones no se observó en los estilos la presencia de *Orius*, hemíptero que si bien no reduce el daño, sí decrece la población de huevos de *H. zea*.

En laboratorio, recién a 15 dda, *Btk* 100% v/v, *Btk* 50%, *S. molle* 100 % v/v + *Btk* 50% y *A. absinthium* 50% v/v, difirieron estadísticamente en mortalidad con el testigo (64, 48, 44 y 40%, respectivamente). Esto indica el efecto tóxico lento y paulatino de los extractos y *Btk* sobre las larvas de *H. zea*. En el campo, si las larvas consumieron los estilos tratados y *Btk*, todavía tuvieron tiempo de entrar y dañar gravemente las mazorcas antes de morir.

El daño causado por larvas de *H. zea* en las parcelas experimentales también pudo deberse al generalmente bajo efecto residual de los extractos, fotodegradación y sensibilidad a la temperatura, y a la diferente composición de los extractos (Philogène *et al.*, 2003; Isman, 2006). Aquí se hicieron aplicaciones cada 4 d debido a que estudios anteriores proponían un efecto residual de hasta 5 d, pero no se determinó este efecto ni la fotodegradación de los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* sobre los estilos en parcelas de maíz antes de su aplicación. Si el efecto residual de los extractos no fue semejante al de los extractos de hoja del género *Ryania*, que permanecen hasta 5 d después de la aplicación, sino igual o menor al del extracto de semillas de neem, cuya actividad es de unas 20 h después de su aplicación, entonces quedaron casi 3 d sin ninguna protección.

Otro aspecto a considerar en el menor desempeño de los extractos botánicos en ensayos de campo es precisamente la calidad de los extractos. Los extractos crudos a menudo contienen bajas concentraciones de ingredientes activos y sin cuantificación adecuada. Por lo cual el potencial insecticida del extracto puede variar según el tiempo y a la posición geográfica de la planta de donde se obtiene el extracto. La estandarización del producto se apunta como un aspecto a trabajar todavía en la mayoría de los extractos botánicos sugeridos como opciones repelentes e insecticidas (Isman, 2006).

Bacillus thuringiensis var. kurstaki

Tampoco *Btk* en las dos concentraciones utilizadas redujo significativamente el daño en mazorcas. La baja persistencia en el ambiente de *Btk* y tiempo de acción de la proteína Cry, la aplicación directa del producto, dosis, tiempo de intervalo de la aplicación, presión y comportamiento de las larvas, entre otros factores, pueden explicar por qué el bajo control que ejerció sobre las larvas de *H. zea* en condiciones de campo.

La baja toxicidad residual de *Btk* en las parcelas puede deberse a que las proteínas Cry, que se degradan en el ambiente, tuvieron un efecto activo corto. Se conoce que las esporas de *Btk* pueden inactivarse por la acción de la luz ultravioleta a las 48 h, y una de las nuevas líneas de investigación en torno a *Bt* consiste en el desarrollo de bacterias recombinantes con genes Cry o cepas de *Bt* modificadas con otros genes distintos a las endotoxinas delta con el objetivo de aumentar la toxicidad residual (Sauka y Benintende, 2008). Otras soluciones para mejorar el efecto residual de *Bt* ha sido encapsular las toxinas en materiales que las protejan de altas temperaturas como el carboximetil-celulosa (Cokmus y Elçin, 1995), añadir pigmentos fotorreceptores como Rojo Congo, o encapsularlos en almidones o harinas para protegerlos de la luz ultravioleta (Ragaei, 1999) y pueden retener hasta 12 d el 50% de su actividad insecticida. Algunos estudios han encontrado un aumento significativo en la persistencia de la actividad de una formulación de *Btk* con almidón con respecto a la formulación comercial. En ensayos de campo se encontró que luego de 72 h de la aplicación, la actividad del producto comercial descendía en 50%, mientras que la formulación con almidón mantenía una actividad de 70% de mortalidad sobre *H. armigera* (Singh *et al.*, 2007).

Para la aplicación de Dipel® WG en cultivos en crecimiento se recomienda añadir dispersantes y adherentes a la mezcla de agua y gránulos (Valent BioSciences, 2005). Si bien se usó el Indicate 5 para mejorar el cubrimiento, no se usó una sustancia adherente que lograra una mejor fijación de los tratamientos usados y protegerlos de la lluvia y de la radiación solar. Estos adherentes también se recomiendan para insecticidas botánicos y pudieron ayudar también para un lograr una mayor permanencia activa de *Btk*. Este adherente no se usó debido a que no fue posible conseguirlo en el mercado local. La aplicación directa del producto comercial, sin adherente ni formulaciones como las arriba anotadas, en una zona de alto índice de radiación ultravioleta como es el Cantón Chambo (17-18 UVI), con altas temperaturas (hasta 30 °C), explicaría la corta e insuficiente actividad insecticida de *Btk* para reducir el daño en mazorcas.

También se debe considerar la dosis usada y el tiempo de aplicación como factores que influyeron en los resultados. Según recomendaciones de los fabricantes para que *Btk* tenga

efecto, los depósitos activos de Dipel® WG presentes en los estilos deben ser ingeridos por las larvas y para que esto sea posible en caso de alta presión de la población de la plaga, se requieren dosis mayores de las indicadas en la etiqueta. En el ensayo se usó sólo la dosis recomendada por Valent BioSciences (2005); posiblemente una dosis mayor de gránulos dispersables de Dipel® WG pudo haber dado mejores resultados. Los fabricantes de Dipel® WG recomiendan que en un cultivo en crecimiento las aplicaciones deben hacerse entre 3 a 15 d (Valent BioSciences, 2005). Si bien se consideró hacer aplicaciones con intervalos cortos, cada 4 d pudo ser insuficiente debido a la presión alta y constante de la plaga y al efecto residual corto del producto.

Además hay que considerar que durante el tiempo en que los estilos se mantuvieron frescos, alrededor de 1 mes, hubo una eclosión continua de huevos, y muchas larvas, cuyo hábito es introducirse de inmediato bajo las chalas de la mazorca, pudieron no ingerir los depósitos activos de Dipel® WG y por tanto la proteína Cry no causó su muerte y las larvas causaron el mismo nivel de daño que el producido en la parcelas sin aplicación.

Extractos de *S. molle* y *A. absinthium* en mezcla con *Btk*

Si los extractos botánicos de *S. molle* y *A. absinthium* y *Btk* tuvieron un breve tiempo de acción sobre las larvas de *H. zea* se explicaría la incapacidad de estos productos de reducir significativamente el daño en mazorcas en campo. En campo no se registró un efecto aditivo de los extractos sobre *H. zea* que lograra la disminución significativa del daño producido por las larvas en mazorcas a la cosecha.

Extractos botánicos y *Btk* como una opción dentro del manejo integrado de *H. zea* en el campo

La alta presión de *H. zea* en una zona agrícola importante como el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador, donde se cultiva maíz de la variedad duro suave (choclos) para el consumo humano en parcelas pequeñas (menores a 2 ha), ha llevado a la utilización de mezclas de insecticidas piretroides, neonicotinoides y fosforados cada vez con mayor frecuencia en las aplicaciones, con riesgos para la salud humana y ambiental.

El extracto de *S. molle* 100% v/v, y *S. molle* 100% v/v + *Btk* 50%, y *Btk* 100%, disminuyeron significativamente el número de larvas de *H. zea* en las mazorcas, aunque no evitaron el daño a la cosecha. Se podrían hacer nuevos ensayos de aplicación de los extractos en mezcla con *Btk*, tomando en cuenta el efecto residual, fotodegradación, adherentes, y dosis mayores de *Btk* que las propuestas por el fabricante para el control del *H. zea* en el Cantón Chambo, Ecuador. Además, al disminuir significativamente el número de larvas de *H. zea* en las mazorcas, este extracto y su mezcla con *Btk* podrían ser evaluados en otros cultivos agrícolas hospederos de la plaga, como tomate, tabaco, algodón, etc.

Por otra parte, en un sistema de manejo integrado de plagas en el maíz, la sola utilización de extractos botánicos y *Btk* puede ser insuficiente. Se requieren más estrategias, orientadas a evitar la ovipostura, la eclosión de los huevos en los estilos y el desarrollo de las larvas para disminuir significativamente el daño en los choclos y de este modo reducir el uso de insecticidas para controlar el daño causado por *H. zea*.

Conclusiones

La hipótesis planteó que los extractos botánicos de *S. molle* y *A. absinthium*, solos o en mezcla con *Btk*, tenían efectos antialimentarios e insecticidas sobre *H. zea* en maíz para consumo fresco. A continuación se concluye en base a los resultados de laboratorio y campo.

Los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* no presentan efectos antialimentarios estadísticamente significativos sobre el tercer estadio larvario de *H. zea* en laboratorio, por lo que la hipótesis se rechaza.

Solo los extractos acuosos de hojas de *S. molle* 100 % v/v + *Btk* 50% y *A. absinthium* 50% v/v tuvieron efectos insecticidas significativos sobre el tercer estadio larvario de *H. zea* en laboratorio, por lo que se acepta parcialmente la hipótesis. Para tener una comprensión más acabada del efecto insecticida de los extractos de *S. molle* y *A. absinthium* sobre *H. zea* se debería continuar esta línea de investigación con estudios que incorporen otras variables, como peso y tamaño de las larvas, número de larvas que pupan, tiempo en pupar, tamaño de los adultos, etc.

Los tratamientos con el extracto acuoso de hojas de *S. molle* y *Btk*, solos y en mezcla, disminuyeron significativamente el número de larvas detectadas a la cosecha de mazorcas frescas en el campo. Esta información abre las puertas a evaluar estos tratamientos en otros cultivos agrícolas hospederos de la plaga, como tomate, alfalfa, pimiento, etc.

Los tratamientos con el extracto acuoso de hojas de *S. molle*, *A. absinthium*, solos y en mezcla con *Btk*, no disminuyeron significativamente el daño causado por larvas de *H. zea* en mazorcas frescas en el campo.

En base a las conclusiones y a la discusión desarrollada se considera que el daño producido por *H. zea* en mazorcas de consumo humano podría reducirse en forma sostenible mediante el uso de extractos botánicos en mezcla con *Btk* en el campo, previas pruebas del efecto residual y de fotodegradación e implementación de técnicas de aplicación de los extractos acuosos de hojas de *S. molle* y *A. absinthium* y de *Btk* en una zona tropical con una presión alta y contante de la plaga en el campo, como elemento a considerar dentro del manejo integrado.

LITERATURA CITADA

Abd-Elghafar, S.; C. Knowles and M. Wall. 1993. Pyrethroid resistance in two field strains of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 86(6): 1651-1655.

Abdel-Sattar, E.; A. Zaitoun; M. Farag; S. El-Bayed and F. Harraz. 2009. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod.* 25: 1-10.

Agencia Pública de Noticias del Ecuador y Suramérica ANDES. Ecuador ya no importará maíz duro amarillo; producción de 2013 convierte al país en autosuficiente. Ecuador. 22 de marzo de 2013. Rev. 9 enero 2014 en:

<<http://www.andes.info.ec/es/reportajes/ecuador-ya-no-importara-maiz-duro-amarillo-produccion-2013-convierten-pais-autosuficiente>>

Arnason, J.; T. Durst y B. Philogène. 2003. Prospección de insecticidas fitoquímicos en plantas de las zonas templadas y tropicales, comunes o raras. Cap 3: 41-52, En: Regnault-Roger C.; C. Philogène y C. Vincent. (eds.), Biopesticidas de origen vegetal. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. 337 p.

Arretz, P.; F. Maddaleno y J. Araya. 1976. Evaluación de insecticidas, antialimentarios, repelentes y microorganismos en el control de *Heliothis zea* (Boddie) en maíz. *Investigación Agrícola* 2(1): 27-32.

Artigas, A. 1994. Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario. Volumen II. Chile, Concepción: Universidad de Concepción. 1986 p.

Auger, J. y É. Thibout, 2003. Sustancias azufradas de los *Allium* y de las Crucíferas: potencial fitosanitario. Cap. 6: 77-96, En: Regnault-Roger C.; C. Philogène y C. Vincent (eds.), Biopesticidas de origen vegetal. Mundi-Prensa, Madrid. 337 p.

Brudea, V. 2007. The efficacy of some biopesticides and vegetal metabolites in the control of spirea aphid *Aphis spiraephaga* Müller (O. Homoptera - F. Aphididae). *Lucrari Stiintifice, Serie Agronomie* 52: 611-616.

Busvine, J. 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. FAO, Rome. 132 p.

Capinera, J. 2001. Handbook of vegetable pests. Academic Press, San Diego. 729 p.

Celis, A.; C. Mendoza; M. Pachón; M. Cardona; J. Delgado y L. Cuca. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agron. Colomb.* 26(1): 97-106.

- Chiasson, H.; A. Bélanger; N. Bostonian; C. Vincent and A. Poliquin. 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *J. Econ. Entomol.* 94(1): 167-201.
- Chiffelle, I.; A. Huerta; M. Celis and J. Araya. 2013. Proximal analysis and insecticidal effects of extracts from pepper tree (*Schinus molle*) leaves on elm leaf beetle (*Xanthogaleruca luteola*) larvae. *Industrial Crops and Products* 43: 523-528.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 1988. Recent advances in the conservation and utilization of genetic resources. In: Nathan, D.F. (ed.), Proc. Global Maize Germoplasm Workshop. México. 184 p.
- Cokmus, C. and M. Elçin. 1995. Stability and controlled release properties of carboxymethyl cellulose encapsulated *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Pest Science* 45: 351-355.
- Defagó, M.; G. Valladares; E. Banchio; C. Carpinella and S. Palacios. 2006. Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola*. *Fitoterapia* 77(7): 500-505.
- Devine, G.; D. Eza; E. Ogussuku y M. Furlong. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev. Peruana Med. Exp. Salud Pública* 25(1): 74-100.
- Derwich, E; B. Zineb and B. Abdellatif. 2009. Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three *Artemisia* plants: *Artemisia Herba-alba*, *Artemisia absinthium*, and *Artemisia pontica* (Morocco). *Electronic J. Environmental, Agricultural & Food Chemistry* 8(12): 1202-1211.
- Di Rienzo, J.; M. Casanoves; L. Balzarini; M. González; C. Cuadroda and C. Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Ecuaquímica, 2014. Productos para el cultivo de maíz. Guayaquil. Ecuador. Rev. 9 enero 2014 en: <http://www.ecuaquimica.com/cultivo_maiz.html>
- Ferrero, A; J. Werdin y C. Sánchez. 2006. Actividad biológica de *Schinus molle* en *Triatoma infestans*. *Fitoterapia* 77: 381-383.
- Ferrero, A.; C. Sánchez; J. Werdin and R. Alzogaray. 2007. Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*. *Fitoterapia* 78: 311-314.
- Fitt, G. 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Ann. Rev. Entomol.* 34: 17-52.
- Flores, F. 2010. Manejo de plagas en el cultivo de maíz. Córdoba, Argentina. Estación Experimental Agropecuaria INTA Marcos Juárez. 6 p.

González-Coloma, A.; M. Bailen; C. Díaz; B. Fraga; R. Martínez-Díaz; G. Zuñiga; R. Contreras; R. Cabrera and J. Burillo. 2012. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops & Products* 37(1): 401-407.

Guevara, D. y G. Granda. 2009. Noctuidae y los cultivos agroforestales en el Ecuador. *Nuestra Ciencia* 11: 22-25.

Guevara, D. y R. Mogollón. 2011. Las mil y una plagas del maíz. Y entre las peores, los Noctuidae. *Nuestra Cienci*, 13: 18-21.

Huerta, A.; I. Chiffelle; K. Puga; F. Azúa and J. Araya. 2010. Toxicity and repellence of aqueous and ethanolic extracts from *Schinus molle* on the elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola*. *Crop Protection* 29: 1118-1123.

Isman, M. 2006. Botanical isecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Ann. Rev. Ent.* 51: 45-66.

INEC. (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2010. Sistema agroalimentario del país. Quito, Ecuador. Rev. 10 de enero de 2014 en:
<<http://www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Maiz.pdf>>

INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias). 2003. INIAP-101. Variedad de maíz blanco precoz. Plegable Divulgativo N°82. Estación Experimental Santa Catalina, INIAP, Quito, Ecuador. 4 p.

Kamel, A.; M. Abd-El and N. El-Barky. 2010. Biochemical effects of three comercial formulations of *Bacillus thuringiensis* (Agerin, Dipel® WG and Dipel® DF) on *Spodoptera littoralis* larvae. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* 3(1): 21-29.

Knaak, N.; S. Wiest; T. Andreis and L. Fiuza. 2013. Toxicity of essential oils to the larvae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Biopesticides* 6(1): 49-53.

Larraín, P. y F. Graña. 1988. Gusano del choclo. Plaga clave del maíz dulce en Atacama y Coquimbo. *Tierra Adentro* 23: 31-32.

Leotau, M; S. Pacheco y C. Tavera. 2010. Intoxicación por organofosforados con necesidad de altas dosis de atropina y administración tardía de oximas. *MedUNAB*, 13(1): 44-50.

Marketing ARM International, s/a. Rev 20 junio 2013 en:
<http://www.ecuaquimica.com/pdf_agricola/INDICATE.pdf>

Mansaray, M. 2000. Herbal remedies, food or medicine? *Chem. Ind.* 20(16): 677-678.

Maredia, K. and D. Baributsa (eds.). 2007. Integrated pest management in Central Asia. Proc. Central Asia Region Integrated Pest Management Stakeholders Forum. Dushanbe, Tajikistan. 99 p.

Ministerio de Agricultura y Ganadería, Ecuador. 1986. Inventario de plagas, enfermedades y malezas del Ecuador. 185 p.

Monserate, P. 2009. Daño de *Heliothis zea* y su control natural con *Orius* sp. en cinco híbridos de maíz, en la zona de Babahoyo. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos, Ecuador. 60 h.

Navarro, R. y Dorestes, E. 1982. Desarrollo de *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) sobre dietas natural y artificial. *Agronomía Tropical* 32(1-6): 69-79.

NRC. National Research Council 1992. *Neem: a Tree for Solving Global Problems*. National Academy Press, Washington. USA. 152 p.

Ottaway, P. 2001. The roots of a healthy diet. *Chem. Ind.*, 22: 42-44.

Peñaherrera, D. 2011. Módulo IV: Manejo integrado del cultivo del maíz suave. Módulos de Capacitación para Capacitadores. INIAP, Quito, Ecuador. 50 p.

Philogène, B. 2003. Acción sinérgica de los compuestos de origen vegetal. Cap.5: 67-76, En: Regnault-Roger C.; C. Philogène y C. Vincent (eds.). *Biopesticidas de origen vegetal*. Madrid: Mundi-Prensa. 337 p.

Philogène, B.; C. Regnault-Roger y C. Vincent. 2003. Productos fitosanitarios insecticidas de origen vegetal: promesas de ayer y de hoy. Cap. 1: 1-18. En: *Biopesticidas de origen vegetal*. Madrid: Mundi-Prensa. 337 p.

Pingali, P. (ed.). 2001. World maize facts and trends. Meeting world maize needs: Technological opportunities and priorities for the public sector. CIMMYT 1999-2000. CIMMYT, México D.F. 60 p. Rev. 9 de enero en: <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/23727/1/fa01pi01.pdf>

Ragaei, M. 1999. Radiation protection of microbial pesticides. *J. Appl. Entomol.* 123: 381-384.

Regnault-Roger, C. 2004. ¿Nuevos fitoinsecticidas para el tercer milenio? Cap. 2: 19-40, En: Regnault-Roger C.; C. Philogène y C. Vincent. (eds.), *Biopesticidas de origen vegetal*. Madrid: Mundi-Prensa. 337 p.

Rodríguez, H. 1998. Determinación de toxicidad y bioactividad de cuatro insecticidas orgánicos recomendados para el control de plagas en cultivos hortícolas. *Rev. Latinoam. de Agricultura y Nutrición (RELAN)* 1(3): 32-41.

Roh, J.Y.; Y.C. Jae; S.L. Ming; R.J. Byung and H.J. Yeon. 2007. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J. Microbiol. & Biotechnol.* 17(4): 547-559.

Rossetti, M.; M. Defagó; M. Carpinella; S. Palacios y C. Valladares. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67(1-2): 115-125.

Salazar, Y. 2011. Efectividad de insecticidas orgánicos y convencionales sobre *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en *Zea mays*. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología. Santiago. Chile. 46 h.

Sauka, D. y G. Benintende. 2008. *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Rev. Argentina Microbiología* 40: 124-140.

Schoonhoven, L.; J. van Loon and M. Dicke. 2005. *Insect-Plant Biology*. 2nd Ed. Oxford University Press, London, UK. 421 p.

SESA (Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria). 2008. Principales plagas cuarentenarias para Rusia, Estados Unidos, Canada, Unión Europea y otros mercados de exportación de ornamentales. Quito, Ecuador. s.n.p.

Silva, G. 2010. Actividad de polvo, extractos y aceite esencial de *Peumus boldus* Molina solos y en mezcla con *Bacillus thuringiensis* Berliner contra *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) y *Helicoverpa zea* (Boddie). Tesis Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Montecillo, México. 149 h.

Silva, G.; C. Rodríguez; C. Blanco and A. Lagunes. 2013. Bioactivity of a water extract of boldus (*Peumus boldus* Molina) against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae). *Chilean J. Agric. Res.* 73(2): 135-141.

Singh, A.; K. Boora and K. Chaudhary. 2007. Effect of different additives on the persistence and insecticidal activity of native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Indian J. Microbiol.* 47: 42-45.

Syngenta, 2009. Ficha técnica. Rev. 20 de junio 2013 en:
<http://www.syngenta.com.mx/Data/Sites/1/agroquimicos_productos/insecticidas/engeo/engeo.fichatecnica.doc.pdf>

Sturtevant, L. 1899. Varieties of corn. USDA Office of Experiment Stations. Bull. 57, U.S. Gov. Printing Office. Washington D.C. 108 p.

Townsend, G. y J. Heuberger. 1945. Methods for estimating losses caused by diseases in Fungicides. *Plant Dis. Rep.* 27: 340-345.

Valent BioSciences, 2005. Dipel WG. *Bacillus thuringiensis*. Granulado Dispersable (WG) Rev. 15 feb 2013. En:

http://www.anasac.cl/AGROPECUARIOS/rps_anasac_v57/OpenSite/Agropecuarios/Carga%20Documentos/Etiquetas/Etiqueta%20Dipel.pdf>

Valladares, G.; M. Garbin; C. Defagó; C. Carpinella y S Palacios. 2003. Actividad antialimentaria e insecticida de un extracto de hojas senescentes de *Melia azedarach* (Meliaceae). *Rev. Soc. Entomol. Arg.* 62(1-2): 53-61.

Waldbauer, G.; R. Cohen and S. Friedman. 1984. Improved procedure for laboratory rearing the corn earworm, *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *The Great Lakes Entomol.*,12(2): 113-118.

Watson, L. and M. Dallwitz 1992. The grass genera of the world: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references. Rev. 9 enero 2014 en: <<http://delta-intkey.com/grass/>>

Weinzeirl, R. 1998. Botanicals Insecticides, Soaps and Oils. Cap. 4: 101-122. *En: Biological, biotechnological control of insect pest.* Florida: Lewis Publ. 392 p.

White, C.; B. Leonard; E. Burris and B. Graves. 1999. Arthropod management. Laboratory and field evaluations of *Bacillus thuringiensis* Berliner insecticides against tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Cotton Sci.* 3: 92-101.

Zúñiga, A.; A. Angulo; R. Rebolledo y M. Navarro. 2011. Comparación de estadios larvales de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) mediante longitud de cápsula cefálica y distancia entre setas frontales. *IDESIA (Chile)* 29(3): 83-86.

ANEXOS

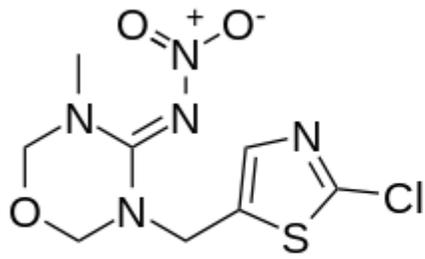
ANEXO I. Dieta utilizada para la crianza de larvas de *H. zea* en condiciones de laboratorio.

Mezcla para 2 kg (30-40 potes)

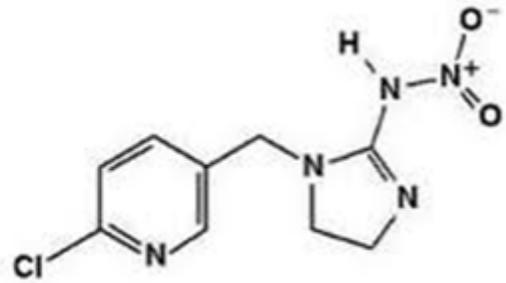
Ingrediente	Cantidad	Unidad
Agar	40	g
*Polenta	112	g
*Chuchoca	100	g
*Germen de trigo	71	g
*Levadura de cerveza	75,5	g
*Leche descremada en polvo	10	g
Ácido Benzoico	4,5	g
*Ácido Ascórbico	10	g
Pantiban (vitaminas)	2-5	mL
*Amoxicilina 500	2	g
Nistoral	28	gotas
Formalina al 37%	2,5	mL
Agua (destilada)	1,5	L
*Metilparabeno (preservante)	0,5-1	g

- *Se mezcla en seco.
- El agua se pone en el microonda durante 20 min. A los 2-3 min. se agrega agar-agar y se deja nuevamente continuar en el tiempo, revolver cada cierto tiempo.
- El Ácido benzoico se diluye en alcohol (2-3 mL en una botella pequeña) antes de agregarlo a la mezcla.
- A la mezcla en seco se le agrega el agar listo, Nistoral, Ac. Benzoico y la formalina (precaución al agregarla ya que los vapores irritan los ojos).
- La altura de mezcla en los potes es de 1 cm. Esterilizar todos los implementos con alcohol antes de ser usados.
- Duración aproximada de la dieta 30 d.
- Se recomienda poner la mezcla seca 4 h bajo luz UV, revolviéndola cada 30 min.

Receta elaborada por el INIA Quilamapu Alejandra Sánchez (alesb29@hotmail.com) y Karla Fernández. Fono: (42)209740.

ANEXO II. Fórmula estructural de los principios activos de Nockeo®

tiametoxan



lambda-daclotrin

APÉNDICE

Apéndice I. Principales especies de Noctuidae encontradas en cultivos de maíz en el Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo, Ecuador.



A. *Agrotis ipsilon* (Hufnagel). B. *Dargida grammivora* (Walker). C. *Spodoptera ornithogalli* (Guenée). D. *Heliothis zea* (Boddie).