

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE CUENCA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA  
DE LOS RECURSOS NATURALES**

*Trabajo de titulación previo a la  
obtención del título de Ingeniero en  
Biotecnología de los Recursos Naturales*

**TRABAJO EXPERIMENTAL:**

**“FORMULACIÓN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE SANTA MARÍA (*TANACETUM  
PARTHENIUM* L.) PARA CONTROLAR EL ATAQUE DEL GORGOJO DE MAÍZ  
(*SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY) A GRANOS ALMACENADOS”**

**AUTOR:**

LEONARDO ANTONIO ESPINOZA GONZÁLEZ

**TUTOR:**

ING. VICENTE HERNÁN AVILÉS LANDÍVAR

CUENCA - ECUADOR

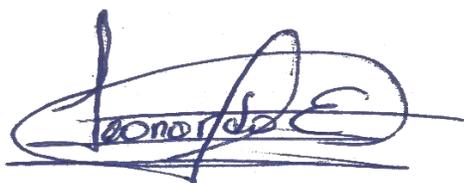
2021

## CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Leonardo Antonio Espinoza González con documento de identificación N° 0302595798, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **“FORMULACIÓN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE SANTA MARÍA (*TANACETUM PARTHENIUM* L.) PARA CONTROLAR EL ATAQUE DEL GORGOJO DE MAÍZ (*SITOPHILUS ZEAMAI*S *MOTSCHULSKY*) A GRANOS ALMACENADOS”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Leonardo E', with a large, stylized flourish above the name.

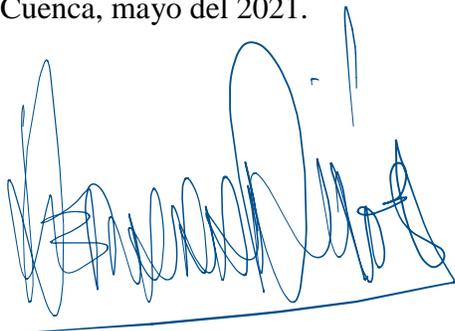
Leonardo Antonio Espinoza González

C.I. 0302595798

## CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“FORMULACIÓN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE SANTA MARÍA (*TANACETUM PARTHENIUM* L.) PARA CONTROLAR EL ATAQUE DEL GORGOJO DE MAÍZ (*SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY) A GRANOS ALMACENADOS”**, realizado por Leonardo Antonio Espinoza González, obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2021.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and flourishes, positioned above a horizontal line.

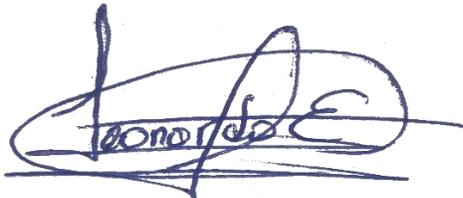
Ing. Vicente Hernán Avilés Landívar

C.I. 0101401040

## DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Leonardo Antonio Espinoza González con documento de identificación N° 0302595798, autor del trabajo de titulación: **“FORMULACIÓN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE SANTA MARÍA (*TANACETUM PARTHENIUM* L.) PARA CONTROLAR EL ATAQUE DEL GORGOJO DE MAÍZ (*SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY) A GRANOS ALMACENADOS”**, certifico que el contenido total del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, mayo del 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Leonardo E', enclosed within a large, stylized circular scribble.

Leonardo Antonio Espinoza González

C.I. 0302595798

## **DEDICATORIA**

Dedico mi tesis a mis padres por su apoyo incondicional, paciencia y amor, su bendición y consejos a lo largo de mi vida me protegen y me guían por el camino del bien.

A mis hermanos por su apoyo incondicional, durante todas las etapas de mi vida siendo un pilar fundamental para alcanzar cada meta en mi vida, compartiendo cada uno de mis triunfos, alegrías y tristezas.

A mi esposa e hijos por ser el motor para seguir adelante, mi mayor motivación en busca de ser un mejor ser humano cada día, mis compañeros en los momentos tristes y alegres de la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, agradecer a Dios y a la Virgen Santísima por la salud, la inteligencia, sabiduría y entendimiento que me han regalado para lograr una meta más en mi vida.

A todos mis familiares y amigos por el apoyo brindado.

Al Ing. Vicente Hernán Avilés Landívar, docente de la Universidad Politécnica Salesiana por toda la ayuda, apoyo y motivación brindada para el desarrollo del presente trabajo experimental.

A todos mis profesores de la carrera de Biotecnología, por la paciencia, la amistad, el tiempo empleado para transmitir sus conocimientos, los momentos compartidos serán guardados en el corazón y recordados con gran aprecio y agradecimiento.

**TABLA DE CONTENIDO**

RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO UNO.....	3
1.1  Introducción .....	3
1.2  Planteamiento del problema.....	4
1.2.1  Formulación del problema o pregunta de investigación .....	6
1.3  Justificación.....	7
1.4  Limitación del problema .....	8
1.5  Objetivos .....	8
1.5.1  Objetivo general .....	8
1.5.2  Objetivos específicos.....	8
1.6  Hipótesis.....	9
2  CAPÍTULO DOS .....	10
MARCO DE REFERENCIA.....	10
2.1  Antecedentes de la investigación .....	10

2.2	Bases teóricas .....	14
2.2.1	Maíz - <i>Zea mays</i> L.- .....	14
2.2.1.1	Taxonomía del maíz - <i>Zea mays</i> L.-.....	14
2.2.1.2	Grano de maíz .....	15
2.2.1.3	Composición química del grano maíz.....	15
2.2.1.4	Producción de maíz en Ecuador .....	15
2.2.1.5	Plagas de mazorca y almacenamiento .....	16
2.2.2	Gorgojo del maíz - <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky- .....	17
2.2.2.1	Taxonomía del gorgojo de maíz - <i>Sitophilus zeamais</i> M.-.....	18
2.2.2.2	Morfología del gorgojo de maíz - <i>Sitophilus zeamais</i> M.-.....	18
2.2.2.3	Ciclo de vida del gorgojo de maíz - <i>Sitophilus zeamais</i> M.-.....	18
2.2.2.4	Daño directo e indirecto que provoca el gorgojo de maíz - <i>Sitophilus zeamais</i> M.-.....	20
2.2.3	Santa María - <i>Tanacetum parthenium</i> L.- .....	20
2.2.3.1	Descripción de la Santa María - <i>Tanacetum parthenium</i> L.- .....	20
2.2.3.2	Taxonomía de la Santa María - <i>Tanacetum parthenium</i> L.- .....	22
2.2.3.3	Usos y aplicaciones de la Santa María - <i>Tanacetum parthenium</i> L.- .....	22

2.2.3.4	Composición química de la Santa María - <i>Tanacetum parthenium</i> L.- ..	23
2.2.4	Insecticidas .....	23
2.2.4.1	Insecticidas químicos .....	23
2.2.4.2	Fumigante: Gas fosfina .....	24
2.2.5	Aceites esenciales como insecticidas .....	25
2.2.5.1	Aceites esenciales.....	25
2.2.5.2	Usos de los aceites esenciales .....	25
2.2.5.3	Métodos de obtención .....	25
2.2.5.4	Composición química.....	25
2.2.5.5	Mecanismo de acción .....	26
2.2.6	Bioinsecticidas .....	26
2.2.6.1	Plaguicidas botánicos .....	26
2.2.6.2	Metabolismo vegetal .....	27
2.2.6.3	Metabolitos secundarios.....	27
2.2.6.4	Mecanismo de acción de los bioinsecticidas.....	29
2.2.7	Definición de términos básicos .....	30
3	CAPÍTULO TRES.....	31

MARCO METODOLÓGICO.....	31
3.1 Nivel de investigación.....	31
3.2 Diseño de investigación .....	31
3.2.1 Obtención del aceite esencial .....	31
3.2.2 Determinación de la composición química del aceite esencial .....	32
3.2.3 Crianza de insectos <i>Sitophilus zeamais</i> M. ....	32
3.2.4 Pruebas preliminares .....	33
3.2.5 Formulación del bioinsecticida .....	34
3.2.6 Bioensayos de repelencia, toxicidad y protección .....	34
3.2.6.1 Bioensayo de repelencia.....	34
3.2.6.2 Bioensayo de toxicidad .....	35
3.2.6.3 Bioensayo de protección .....	36
3.2.6.4 Prueba de germinación.....	37
3.3 Población y muestra .....	37
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	37
3.4.1 Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	38
4 CAPÍTULO CUATRO.....	39

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	39
4.1 Obtención del aceite esencial .....	39
4.2 Determinación de la composición química del aceite esencial .....	41
4.3 Crianza de insectos <i>Sitophilus zeamais</i> M. ....	43
4.4 Pruebas preliminares .....	44
4.5 Formulación del bioinsecticida .....	48
4.6 Bioensayos de repelencia, toxicidad y protección .....	49
4.6.1 Bioensayo de repelencia.....	49
4.6.2 Bioensayo de toxicidad .....	54
4.6.3 Bioensayo de protección .....	61
4.6.4 Prueba de germinación .....	64
5 CAPÍTULO CINCO .....	68
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	68
5.1 Conclusiones .....	68
5.2 Recomendaciones.....	69
REFERENCIAS.....	70
ANEXOS .....	82

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Ciclo de vida del insecto <i>Sitophilus zeamais</i> .....	19
Figura 2 <i>Tanacetum parthenium</i> L. ....	21
Figura 3 Toxicidad obtenida según las diferentes concentraciones evaluadas. ....	47
Figura 4 Índice de repelencia corregido.....	52
Figura 5 Gráfico de perfil de tratamientos aplicados, días de exposición y toxicidad obtenida...	59
Figura 6 Promedio de porcentaje de pérdida de peso en los granos según los distintos tratamientos aplicados .....	63
Figura 7 Promedio de porcentaje de germinación en los granos según los distintos tratamientos aplicados .....	66

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Formulaciones de fumigantes registradas en Ecuador.....	24
Tabla 2 Modo de acción de metabolitos secundarios sobre insectos.....	28
Tabla 3 Significado del índice de repelencia .....	35
Tabla 4 Resumen de los principales componentes del aceite esencial de <i>Tanacetum parthenium</i> L .....	42
Tabla 5 ANOVA de un factor según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	44
Tabla 6 Subconjuntos homogéneos de la Prueba de Tukey según el programa <i>IBM SPSS Statistics</i> <i>25</i> .....	45
Tabla 7 Comparación de métodos realizados para la formulación .....	48
Tabla 8 ANOVA de un factor según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	50
Tabla 9 Comparación múltiple DMS según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	51
Tabla 10 Resultado de ANOVA de dos factores según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	56
Tabla 11 Resultado de prueba de Tukey subconjuntos homogéneos entre la mortalidad y concentración según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	57
Tabla 12 Resultado de prueba de Tukey subconjuntos homogéneos entre la mortalidad y días de exposición según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	58
Tabla 13 ANOVA de un factor según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	62

Tabla 14 Resumen de prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis según el programa <i>IBM SPSS Statistics 25</i> .....	65
---	----

**ÍNDICE DE ANEXOS**

Anexo A. Selección, limpieza y secado de <i>Tanacetum parthenium</i> L .....	82
Anexo B. Equipo de la Universidad Politécnica Salesiana para la destilación por arrastre de vapor .....	83
Anexo C. Maíz infestado con <i>Sitophilus zeamais</i> M .....	84
Anexo D. Pruebas preliminares .....	85
Anexo E. Bioensayo de repelencia .....	86
Anexo F. Bioensayo de toxicidad .....	87
Anexo G. Bioensayo de protección .....	88
Anexo H. Bioensayo de germinación .....	89
Anexo I. Aceite esencial de <i>Tanacetum parthenium</i> L. obtenido por arrastre de vapor.....	90
Anexo J. Componentes del aceite esencial de <i>Tanacetum parthenium</i> L.....	91
Anexo K. Insectos adultos generación F1 para utilizar en los bioensayos .....	94
Anexo L. Datos obtenidos de las pruebas preliminares .....	95
Anexo M. Bioinsecticida realizado empleando el aceite esencial de <i>Tanacetum parthenium</i> L..	96
Anexo N. Datos obtenidos en el bioensayo de repelencia .....	97

Anexo O. Porcentaje de mortalidad ocasionada con las diferentes concentraciones y en los diferentes días evaluados .....	98
Anexo P. Mortalidad ocasionada sobre <i>Sitophilus zeamais</i> M. ....	99
Anexo Q. Promedios de pérdida de peso [%] de granos evaluados en el bioensayo de protección con el bioinsecticida.....	100
Anexo R. Resultados de las pruebas aplicadas al bioensayo de porcentaje germinación de maíz .....	101

## RESUMEN

*Sitophilus zeamais* Motschulsky es el agente causante de mayores pérdidas de granos de maíz, estos insectos infestan en el campo o en el almacenaje ocasionando pérdidas de hasta el 50 % de la producción a nivel general y en Ecuador las pérdidas son del 10 – 30 %, para el control de esta plaga en la mayoría de ocasiones se emplea insecticidas químicos que por su uso irracional provocan resistencia y daños al ambiente, debido a esto, los aceites esenciales representan una alternativa para el control de esta plaga ocasionando toxicidad y repelencia además de presentar baja toxicidad en mamíferos y ser biodegradables. En este contexto, el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. al poseer terpenoides en su mayoría alcanfor [37,85 %] en su composición química que en conjunto con los demás componentes pueden ser usados para el control de estos insectos, se empleó en la formulación de un bioinsecticida para evaluar en condiciones controladas la toxicidad, repelencia, pérdida de peso del grano y germinación de semillas después de 30 días de aplicación del bioinsecticida. Obteniendo 100 % de mortalidad con la concentración de 4 %. Índice de repelencia alto de 0,38 con la concentración de 2 %, no existe diferencias de pérdida de peso en relación con el testigo y no afecta a la germinación, por lo que, el bioinsecticida ocasiona toxicidad, repelencia sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky y no afecta la germinación de las semillas de maíz, presentado una alternativa agroecológica para el control de esta plaga.

**Palabras clave:** Aceite esencial, insectos, repelencia, toxicidad.

## ABSTRACT

*Sitophilus zeamais* Motschulsky is the agent causing the greatest losses of corn grains, these insects infest in the field or in storage causing losses of up to 50 % of production in general and in Ecuador losses are 10-30 %, For the control of this pest, most of the time chemical insecticides are used, which due to their irrational use cause resistance and damage to the environment. Due to this, essential oils represent an alternative for the control of this pest, causing toxicity and repellency, in addition to presenting low toxicity in mammals and being biodegradable. In this context, the essential oil of *Tanacetum parthenium* L. possessing terpenoids, mostly camphor [37,85 %] in its chemical composition, which together with the other components can be used for the control of these insects, was used in the formulation of a bioinsecticide to evaluate under controlled conditions the toxicity, repellency, loss of grain weight and seed germination after 30 days of application of the bioinsecticide. Obtaining 100 % mortality with a concentration of 4 %. High repellency index of 0,38 with the concentration of 2 %, there is no difference in weight loss in relation to the control and it does not affect germination, therefore, the bioinsecticide causes toxicity, repellency on *Sitophilus zeamais* Motschulsky and does not affect the germination of corn seeds, presenting an agroecological alternative for the control of this pest.

**Keywords:** Essential oil, insects, repellency, toxicity.

## CAPÍTULO UNO

### 1.1 Introducción

Hace más de 6 mil años empezó el proceso de domesticación del cultivo del maíz por los nativos en gran parte de las Américas, en donde los rastros fósiles de aquellas plantas son muy diferentes a las que tenemos en la actualidad, cultivo que se ha convertido en uno de los de mayor producción del planeta (Méndez, 2016).

En Ecuador el cultivo de maíz *-Zea mays L.-* es de gran importancia económica, social y alimentaria para los agricultores de las zonas rurales, la producción de este cereal se da a diferentes altitudes, temperaturas, suelos, condiciones ambientales y zonas de las regiones del país.

En la producción y almacenaje del maíz la problemática que enfrentan los pequeños agricultores son las plagas y enfermedades que ocasionan grandes pérdidas de la producción, por lo que varios estudios son realizados principalmente con el objetivo de proteger los granos en el almacenaje contra el ataque de los insectos.

Entre los agentes perjudiciales que ocasionan las mayores pérdidas se encuentra la especie *Sitophilus zeamais* Motschulsky -Coleoptera: Curculionidae- que “puede infestar 10 % de los granos en el momento de la cosecha” (Cerna *et al.*, 2010; p. 136), y si la infestación continúa en el almacenaje, “basta 6 meses para ocasionar la destrucción de los granos en un 90 a 100 %” (Granados *et al.*, 2016).

En la mayoría de ocasiones se opta por el uso de insecticidas químicos para reducir las pérdidas ocasionadas por estos insectos plaga; sin embargo, su uso irracional degrada la biota silvestre, contamina agua y suelo, genera resistencia en las plagas y aumenta los costos de

producción, además, su aplicación atenta contra la salud humana, ya que ciertos insecticidas comerciales provocan deterioro neurológico, hepático y renal (Juárez *et al.*, 2010).

Debido a las consecuencias ocasionadas por el uso de insecticidas sintéticos, “los aceites esenciales representan una alternativa para el control de plagas asociadas a granos almacenados” (Aros *et al.*, 2019; p. 283), “ya que presentan la ventaja de ser seguros para el consumo, baja toxicidad en mamíferos y son biodegradables” (Rodríguez, 2017; p.5), por lo que, el propósito de la presente investigación es crear una alternativa agroecológica que disminuya daños al ambiente, así como a la salud humana mediante el empleo del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. en la formulación de un bioinsecticida para controlar el ataque de esta plaga a los granos almacenados de maíz.

## 1.2 Planteamiento del problema

De la producción mundial de granos los insectos plaga son los responsables de la pérdida entre 5 a 10 %, anualmente esta cantidad de granos alcanzaría para alimentar a 130 millones de personas. En América Latina se pierde entre 30 y 40 % de la producción de maíz durante el almacenamiento (Martínez *et al.*, 2013) y en Ecuador entre 10 al 30 % (Zurita *et al.*, 2017).

La producción de maíz en el país de Ecuador según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2019) de maíz duro seco -grano seco-: fue de 1.801.766 toneladas con un rendimiento de 6,56 [t/ha]. El maíz suave seco -grano seco-: fue de 61.275 toneladas con un rendimiento de 1,37 [t/ha], en cuanto al maíz suave -en choclo-: fue de 74.324 toneladas con un rendimiento de 4,03 [t/ha]. De esta producción gran parte es almacenada, consumida o procesada a lo largo de todo el año, además, los pequeños productores obtienen ingresos económicos por la

venta de los granos que ayudan en el mantenimiento de la familia, siendo el almacenaje de los granos postcosecha un punto crítico para proteger el valor del maíz.

De acuerdo a Larraín (como se citó en Salvadores *et al.*, 2007) presenta que la principal dificultad que enfrenta el agricultor en postcosecha es la pérdida de granos en almacenaje. Rees citado en el mismo artículo expresa que las mayores pérdidas las ocasionan los insectos, siendo las especies más dañinas *Sitophilus oryzae* L., *S. granarius* L. y *S. zeamais* Motschulsky, estos insectos encuentran en los sitios de almacenaje el ambiente necesario para multiplicarse con condiciones de temperatura y humedad óptimas, teniendo abundante alimento que garantiza su multiplicación y sobrevivencia (Archuleta *et al.*, 2012).

Según Salvadores *et al.* (2007) en la cosecha *S. zeamais* M. puede infestar cerca del 10 % de los granos de cereales y si en el almacenaje continúa la infestación entre 30 al 50 % de la producción se pierde al cabo de seis meses; lo que concuerda con Morales *et al.* (2010) que presentan que “en las regiones cálidas las pérdidas causadas por las plagas del almacén pueden superar el 40 %” (p. 64). Según Zurita *et al.* (2017) “en Ecuador se da pérdidas del 10-30 %” (p. 121), es decir, de maíz duro seco -grano seco-: entre 180.176 – 540.529 toneladas de pérdida.

Por estos motivos el almacenamiento de granos en lugares mal acondicionados, con falta de desinfección o juntar granos sanos con contaminados son los principales factores para que se desarrolle un ataque de *Sitophilus zeamais* M., un problema frecuente en Latinoamérica como de Ecuador. *Sitophilus zeamais* M. ocasiona daños a los granos a lo largo de su vida provocando pérdida de peso, disminución del valor comercial, reduce en el valor nutritivo y afecta la capacidad germinativa de las semillas (Salgado *et al.*, 2012).

Según Tapia (2013) “para el control de estas plagas se usa la fosfamina” (p.15). Causando afecciones directas a la salud y al ambiente por los efectos residuales que ocasionan estos plaguicidas sintéticos. Además, estudios recientes en Brasil demostraron que insectos *Sitophilus zeamais* M. eran altamente resistentes a la fosfina, con tasas de resistencia de 32,2-186,2 veces mayores que las de poblaciones susceptibles (Souza *et al.*, 2016).

En sí el problema radica en la susceptibilidad de granos de *Zea mays* L. almacenados a ser atacados por *Sitophilus zeamais* M., lo que ocasiona pérdidas económicas, reducción de la cantidad de alimento, reduce la biodiversidad local de semillas, reducción de materia prima para productos elaborados y cambios fisiológicos del grano, obligando a la utilización de plaguicidas sintéticos que ocasionan resistencia de los insectos a dichos compuestos, afectan a la salud y al ambiente, creando la necesidad de “una agricultura económica y ecológicamente sustentable, en el mediano y en el largo plazo, buscando nuevas alternativas de manejo de plagas durante el almacenaje de granos” (Rodríguez, 2015).

### **1.2.1 Formulación del problema o pregunta de investigación**

¿Cuál es el efecto de la formulación bioinsecticida a partir de aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky?

### 1.3 Justificación

Los granos almacenados representan una parte importante de la dieta de personas en zonas rurales que practican la agricultura para consumo humano y animal, también, estos son usados como fuente de ingresos económicos, por lo que, en el caso de presentarse una infestación de *Sitophilus zeamais* M., representaría pérdida de diversidad de maíz, disminución de alimentos, pérdida económica y evita obtener productos procesados a base del maíz, obligando a emplear insecticidas químicos para el control de esta plaga, provocando residuos tóxicos luego de su aplicación.

Considerando los daños originados por el insecto plaga *S. zeamais* M., en el período de almacenamiento del grano de maíz, los altos costos de los insecticidas sintéticos y los problemas asociados al uso de dosis mayores a las sugeridas de los mismos, es necesario examinar los efectos de toxicidad y repelencia sobre el gorgojo de maíz de productos alternativos buscando reducir posibles daños a la salud humana y al ambiente (Gómez *et al.*, 2016).

“Una alternativa a este problema es el uso de extractos botánicos que son biodegradables y no alteran el ecosistema” (Martínez *et al.*, 2013; p. 82). Debido a que las plantas tienen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios, pueden ser empleados para la elaboración y uso de medios biológicos como mecanismo de defensa contra el ataque de plagas y enfermedades (Alvarado, 2017), generando una opción para controlar el ataque del gorgojo de maíz a granos almacenados, “teniendo efectos ovicidas, inhibidores de la alimentación, repelentes, tóxicos o biocidas sobre el gorgojo de maíz” (Rodríguez, 2017; p.5).

Mediante esta investigación se busca aprovechar el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. que en su composición química presenta abundantes monoterpenos tales como el

B-farneseno, acetato de bornilo y alcanfor (Mendoza, 2015) para encontrar y generar una alternativa que permita prevenir, controlar y reducir el ataque de *Sitophilus zeamais* M., lo que conllevaría a una alimentación más sana, reducción de los costos de almacenamiento, cuidado del ambiente, protección a las semillas y que sean aptos para el consumo humano y animal.

#### **1.4 Limitación del problema**

El trabajo experimental se realizó en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca y en la parroquia Guapán [coordenadas -2.704872, -78.862103] ubicada en la Provincia de Cañar.

#### **1.5 Objetivos**

##### ***1.5.1 Objetivo general***

Formular un bioinsecticida con el aceite esencial de Santa María -*Tanacetum parthenium* L.- para el control del ataque de gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais* Motschulsky- a granos almacenados de maíz -*Zea mays* L.-.

##### ***1.5.2 Objetivos específicos***

- Identificar el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas -GC/MS- para el análisis fitoquímico de sus principales componentes.
- Establecer la dosificación adecuada de cada componente del bioinsecticida mediante pruebas preliminares de aplicación directa asegurando que el aceite esencial ocasione los efectos deseados sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky.

- Evaluar el bioinsecticida mediante bioensayos de toxicidad y repelencia asegurando la efectividad de la formulación para el control del ataque de *Sitophilus zeamais* Motschulsky a granos almacenados.
- Valorar estadísticamente los resultados de los bioensayos del bioinsecticida mediante un software estadístico para la comprobación del efecto del bioinsecticida.
- Elaborar una propuesta de artículo científico respetando los formatos internacionales para la posible divulgación de los resultados obtenidos.

## 1.6 Hipótesis

Si el bioinsecticida a base de aceite esencial de Santa María -*Tanacetum parthenium* L.- tiene efecto tóxico o repelente sobre el gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais* Motschulsky-.

## 2 CAPÍTULO DOS

### MARCO DE REFERENCIA

#### 2.1 Antecedentes de la investigación

En el estudio realizado por Domingues *et al.* (2020) evaluaron los compuestos bioactivos de hojas de *Duguetia lanceolata* -Annonaceae- contra *S. zeamais* M., en donde a 1500 mg/kg, la fracción hexánica del extracto etanólico de la hoja de *D. lanceolata* causó mortalidad significativa de *S. zeamais* M. adultos. A la concentración de 750 mg/kg, las subfracciones 2 y 6 de columna de cromatografía en gel de sílice de partición hexánica del extracto etanólico de hojas de *D. lanceolata* -principalmente subfracción 2- causó mortalidad significativa de adultos de *S. zeamais*, a través de contacto.

En el estudio realizado por Babarinde *et al.* (2019) evaluaron el aceite de la semilla de *Jatropha curcas* en la eficacia como tóxica contra *Sitophilus zeamais* Mostchulsky; los datos que obtuvieron fueron los siguientes: el mayor porcentaje de mortalidad se obtuvo con 200 µl/L de aire. Para la toxicidad por contacto observaron con la aplicación del aceite de semillas tostadas a 1,50 µl/cm<sup>2</sup> provocó un 18,88 % más que los otros tratamientos. Recomiendan el uso de semillas tostadas como tratamiento previo a la extracción para la producción de aceite destinado a usar como insecticida.

En el estudio realizado por Monteiro *et al.* (2019) evaluaron el aceite esencial de *Croton pulegioidorus* Baill en las poblaciones de *S. zeamais* Motschulsky de diferentes regiones de Brasil, en donde la población de Espírito Santo do Pinhal-SP presentó la CL50 más alta [6.02 µL.20 g<sup>-1</sup>], y la de Serra Talhada-PE presentó la más baja [4.21 µL.20 g<sup>-1</sup>]. La relación de toxicidad basada

en el CL50 varió de 1,01 para la población de Picos-PI a 1,43 para la de Serra Talhada-PE. La relación de resistencia basada en el CL50 varió de 1,13 para la población de Crixás-GO a 1,43 para la población de Espírito Santo do Pinhal-SP. El efecto residual del aceite esencial de *C. pulegiodorus* en las poblaciones de *S. zeamais* no mostró un efecto significativo del período de almacenamiento [30 y 60 días] en la aparición de *S. zeamais* adulto. Concluyen que el aceite esencial de *C. pulegiodorus*, a concentraciones evaluadas, mostró un efecto insecticida en las poblaciones de *S. zeamais*.

En el estudio realizado por Kamanula *et al.* (2017) evaluaron la eficacia del aceite de *L. javanica* contra *S. Zeamais* adulto bajo condiciones de laboratorio; en donde después de 48 h de exposición la concentración de 10 mg/ml de aceite esencial de *L. javanica*, linalol, perillaldehído y una mezcla de perillaldehído y linalol, causaron 85; 100; 99,5 y 100 % de mortalidad de adultos de *S. zeamais*, respectivamente, para la toxicidad fumigante la dosis más alta [370  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ ] causó una mortalidad del 60 % después de 72 h.

En el estudio realizado por Oliveira *et al.* (2017) observaron que el aceite esencial de *L. sidoides* fue más tóxica que el timol, con excepción de la población de Sete Lagoas, en la que no hubo diferencias significativas en las concentraciones de estos tratamientos para matar al 50 % de esta población; además, el tiempo letal requerido para matar al 50 % de las poblaciones de *S. zeamais* varió de 5,8 a 62 h. El aceite esencial de *L. sidoides* mostró una acción más rápida en comparación con su principal compuesto timol y en todos los casos, las nanoformulaciones tardan más en causar la misma mortalidad. En el consumo de grano a dosis de 1600  $\mu\text{L}$  de nanoformulación/kg de maíz todos los insectos fueron eliminados. La efectividad de la nanoemulsión en el tiempo alcanzó valores de hasta 95,6 %.

En el estudio realizado por Zurita *et al.* (2017) encontraron que los porcentajes de mortalidad sobre el gorgojo del maíz de la ruda fue 53,35 y marco 41,65 %. La menor pérdida de peso del grano la obtuvieron con la ortiga y la mayor con matico. El menor número de granos de maíz perforados observado fue 6,33 con marco y 6,67 con ruda y no observaron diferencias entre la cantidad de desecho producido en granos a los que se aplicó algún tipo de polvo vegetal. Concluyen que el polvo de ruda y marco muestran la mayor actividad insecticida sobre el gorgojo de maíz.

En el estudio realizado por González *et al.* (2016) observaron la mortalidad del aceite esencial de *E. globulus* fue mayor a 40 % en los tratamientos de 4 y 8 % a las 72 horas de iniciado el bioensayo. En cuanto a la toxicidad por contacto, para ambas especies de *Eucalyptus*, obtuvieron una mortalidad de 10 %. La emergencia de insectos adultos con *E. globulus* la F1 fue de 50,6 % [49,4 % de inhibición] y 47,7 % [52,3 % de inhibición] en las dosis de 4 y 8 % respectivamente. El efecto fumigante de *E. nitens* mostró mortalidad superior al 40 % a partir de los 15 µL en cambio con *E. globulus* se alcanzó una toxicidad confiable a los 35 µL con 82,1 %. Todos los tratamientos fueron repelentes, ya que el índice de repelencia -IR- mostró valores menores a 1.

En el estudio realizado por Martínez *et al.* (2015) observaron que *L. palmeri* a 1,000 µl/L de aceite esencial mató el 78 % de los gorgojos del maíz a las 24 horas. La concentración letal promedio [CL50] calculada a las 24 horas de exposición al aceite de *L. palmeri* fue de 441,45 ± 3 µl/L. La cantidad de huevos que eclosionaron fue cero a 1,000 µl/L. Los autores concluyen que el gorgojo del maíz es susceptible al aceite de *L. palmeri*.

En el estudio realizado por Nwachukwu y Asawalam (2014) demuestran que el jugo fresco de GUN -Nigeria- causa una tasa de mortalidad acumulada del 73 % y GAG -Alemania- con una

tasa de mortalidad del 87 %. En la prueba de toxicidad por contacto mediante aplicación tópica el jugo fresco de GUN causó una mortalidad del 100 %, mientras que el jugo GAG causó una mortalidad del 90 % 48 h después de la aplicación tópica, los granos tratados con GAG y GUN perdieron <0,5 % de su peso promedio después de 60 días. Concluyen que el jugo de ajo recién preparado tiene alicina como su principal compuesto biológicamente activo, posee un efecto insecticida potencial sobre *S. zeamais* M.

Entre las investigaciones realizadas sobre la Santa María se pueden mencionar los efectos ansiolíticos y antidepresivos de extracto acuoso de *Tanacetum parthenium* L. en ratones; la actividad insecticida frente a *Spodoptera littoralis* -rosquilla negra- de los extractos obtenidos por extracción e hidrodestilación; en combinación con *Artemisia absinthium* la actividad in vitro de flavonoides y lactonas sesquiterpénicas contra los gusanos *Schistosoma mansoni*; investigación fitoquímica y biológica de la especie cultivada en Egipto encontrando actividades analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antiespasmódicas y estimulantes uterinas además del efecto citotóxico in vitro. También se encontró referencias de la actividad antioxidante y antiinflamatoria; efecto antiespasmódico en intestino de ratas Wistar; entre otros; si bien la especie *Tanacetum parthenium* L. ha sido objeto de múltiples estudios, no se encontró información en cuanto al efecto insecticida sobre *Sitophilus zeamais* M., por lo que, la presente investigación se la puede considerar entre las pioneras acerca del efecto insecticida sobre *Sitophilus zeamais* del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Maíz -*Zea mays* L.-

“El maíz evolucionó a partir de un ancestro similar denominado teocintle-conocido también como *teosinte*-, surgido y aún presente en México” (Méndez, 2016; p.5), llegando a convertirse en uno de los cultivos de mayor producción y consumo a nivel mundial. “El maíz se ha convertido en un alimento esencial en el planeta, empleado para consumo humano como animal, con una producción a gran escala ocupando el tercer lugar por detrás del trigo y el arroz” (Mayorga *et al.*, 2013; p.5).

#### 2.2.1.1 Taxonomía del maíz -*Zea mays* L.-

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *Mays* (Miranda, 2016)

### **2.2.1.2 Grano de maíz**

El grano de maíz maduro Según Alvarado (2017, p 6) está conformado por:

5-6 % la cubierta compuesta de pericarpio y la testa, 80-85 % el endospermo que incluye la capa de aleurona, 10-12 % el embrión o esporofito y 0,8-1,1 % de pedicelo o piloriza que es tejido inerte en que se unen el grano y el carozo.

El grano de maíz tiene muchos usos alimentarios -grano, harina, jarabe y aceite- y usos no alimentarios -cosméticos, adhesivos, almidón, aceite, pinturas y barnices- (Babarinde *et al.*, 2019).

### **2.2.1.3 Composición química del grano maíz**

El grano de maíz está conformado por una mezcla de nutrientes, según Méndez (2016) “el maíz posee 13 % de proteínas y un 7 % de grasas, es rico en betacarotenos, vitamina A, B, E, hierro, potasio y fibra” (p. 14).

### **2.2.1.4 Producción de maíz en Ecuador**

Dentro de la producción agrícola del país el cultivo de maíz es una parte primordial en la economía nacional, ya que cerca del 75 % de la producción total procede de hogares campesinos, la mayoría de ellos de economías de subsistencia (Mayorga *et al.*, 2013).

En la sierra de Ecuador la siembra se realiza en pequeñas parcelas de hasta una hectárea en suelos marginales y laderas, en la mayoría de los casos se realiza la siembra en asociación con otros cultivos que evitan el monocultivo (Boada y Espinosa, 2016).

De acuerdo a la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC, 2020) del 100 % de la producción de cultivos transitorios en el país el 39,41 % corresponde al maíz duro seco y 5,70 % de maíz suave seco (p. 16).

En los últimos 10 años el país ha superado el millón de toneladas en producción de maíz duro seco, con una superficie de plantación anual entre 270 a 360 mil hectáreas. De esta producción más del 85 % se destina a la industria elaboradora de balanceados (Triviño y Villena, 2019).

En el año 2019 se obtuvo en el país una producción de maíz duro seco -grano seco- con 13 % de humedad y 1 % de impurezas de 1.801.766 toneladas con un rendimiento de 6,56 [t/ha] y de maíz seco suave -grano seco- 61.275 toneladas con un rendimiento de 1,37 [t/ha] (INEC, 2019).

#### **2.2.1.5 Plagas de mazorca y almacenamiento**

Los insectos plagas de granos almacenados varían de acuerdo con la región, la estación del año, el sistema y el período de almacenamiento. Dentro del grupo de plagas primarias se destacan- el gorgojo del maíz -*Sitophilus zeamais* M.-, el barrenador grande del grano -*Rhizopertha dominica*- y la palomita de los cereales -*Sitotroga cerealella*-. Entre las plagas secundarias se destacan- la polilla bandeada -*Plodia interpunctella*-, el escarabajo castaño -*Tribolium castaneum*- y el barrenador de los granos -*Rhizopertha dominica*-. (Loza y Otermin, 2012; p.8)

*Sitophilus zeamais* puede hallarse en el grano guardado del año anterior o en las mazorcas que han permanecido por un período prolongado en el campo y han sufrido ataques por las aves o con falta de cobertura. Estas mazorcas al ser almacenadas junto a las mazorcas sanas, permiten una rápida propagación de la plaga (Yáñez *et al.*, 2010).

Esta plaga además de alimentarse y destruir al grano, lo contaminan con bacterias, virus y hongos, infectándolos con sus excrementos y cuerpos muertos, por otra parte, debido al metabolismo de estos insectos producen una condición anormal del grano, disminuyen la calidad alimentaria, se reduce el valor económico y el poder germinativo de las semillas (Alvarado, 2017).

Otra de las plagas de gran importancia es *Sitotroga cerealella* -Oliv-. Ataca todo tipo de cereal, pero en mayor medida al maíz y trigo llegando a ocasionar pérdidas de la mitad de producción de trigo y de maíz una cuarta parte de la producción (Peña *et al.*, 2019).

### **2.2.2 Gorgojo del maíz -*Sitophilus zeamais* Motschulsky-**

El *Sitophilus zeamais* “considerado como un insecto procedente de la India” (Alvarado, 2017; p. 7), es un pequeño escarabajo de color oscuro o pardo, se le diferencia por el -pico- que utiliza para alimentarse y con el cual agujerean los granos, se los conoce comúnmente como picudos o gorgojos del maíz y es una importante plaga de los granos almacenados (Morales, 2019; p.10).

### **2.2.2.1 Taxonomía del gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais* M.-**

La clasificación taxonómica de *Sitophilus zeamais* M., de acuerdo a Bastida (2016) es la siguiente:

Reino: Animal

Clase: Insecta

Orden: Coleóptera

Suborden: Polyphaga

Familia: Curculionidae

Género: *Sitophilus*

Especie: *zeamais*

### **2.2.2.2 Morfología del gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais* M.-**

Es un coleóptero con cabeza alargada en forma de pico, con aparato bucal masticador con probóscide alargada, cuerpo redondeado y exoesqueleto duro y áspero, con tamaños que van desde 1,5 mm hasta 3,5 mm según la especie (Padilla, 2015).

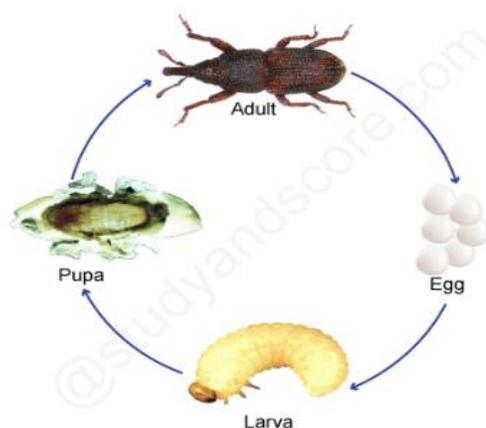
### **2.2.2.3 Ciclo de vida del gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais* M.-**

Los gorgojos sobreviven por 7 meses a un año. Las hembras pueden poner entre 50-250 huevos, con su aparato bucal perforan una cavidad en el grano, ovipositan en su interior y tapan esta perforación con un mucílago que luego endurece (Archuleta *et al.*, 2012), las hembras colocan

un huevo dentro de cada grano, pudiendo depositar de 8 a 10 huevos por día. El huevo mide 0,7 mm con forma oval y eclosiona de 3-5 días después de ser depositado. De este salen larvas blancas, sin patas, de cuerpo grueso con cabeza pequeña (Patiño, 2019), “que se alimentarán del endosperma” (Pizarro *et al.*, 2014; p.172).

“La larva pasa en el interior del grano cerca de un mes antes de llegar al estado de pupa, en este estado permanece una semana y finalmente emerge al exterior como adulto” (Archuleta *et al.*, 2012; p. 266), como se puede apreciar en el ciclo de vida del insecto en la figura 1, “Las condiciones de reproducción requieren temperaturas entre 15 y 34 °C y 40 % de humedad relativa” (Patiño, 2019; p. 10).

**Figura 1** *Ciclo de vida del insecto Sitophilus zeamais*



*Nota.* Se muestra el ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* posee 4 fases larvales por los cuales pasa en un periodo de 19-34 días antes de llegar a convertirse en adulto. Fuente: Patiño (2019).

#### **2.2.2.4 Daño directo e indirecto que provoca el gorgojo de maíz -*Sitophilus zeamais***

**M.-**

El daño directo se da cuando *Sitophilus zeamais* M., se alimenta del embrión o endospermo, generando disminución de la calidad nutritiva, menor peso del grano de maíz y limita la capacidad germinativa de las semillas. Además, se produce el daño directo por contaminación con el excremento y formación de telas por las polillas. Los daños indirectos suceden por presencia de humedad y temperatura alta lo que hace que rechacen el producto en el mercado (Vaca, 2019).

#### **2.2.3 Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-**

*Tanacetum parthenium* L., pertenece a la familia Asteraceae. Se encuentra naturalmente en Asia Central, Europa y la región mediterránea y se ha adaptado a regiones con climas templados, se le conoce como -feverfew- en el idioma Inglés y en el español como Santa María (Benassi *et al.*, 2019).

##### **2.2.3.1 Descripción de la Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-**

*Tanacetum parthenium* L. es una planta herbácea perenne, muy aromática al estrujarse, hasta de 80 cm de alto, pubérula en los tallos más jóvenes, hojas e involucros; tallos más o menos ramificados, erectos; hojas bipinatífidas, de contorno elíptico, hasta de 8 cm de largo; con  $\pm 50$  brácteas, las exteriores lineales, las interiores oblongas, hasta de 4 mm de largo; receptáculo convexo o hemisférico; las flores liguladas 10 a 21 -algunas formas cultivadas se observa más-, sus corolas blancas, las láminas oblongas de 2,5 a 8 mm de largo; con  $\pm 250$  flores de disco, sus corolas amarillas, tubulosas de  $\pm 1,5$  mm de largo; la forma de aquenios es cilíndricos de  $\pm 1,5$  mm de largo, provistos de 5 a 10 costillas, glabros,

vilano en forma de corona diminuta y crece a una altitud de 2250-2550 m., como se puede apreciar en la figura 2. (Mendoza, 2015; pp. 28-29)

**Figura 2:** *Tanacetum parthenium* L.



*Nota.* Santa María -*Tanacetum parthenium* L.- en estado de floración. Fuente: Autor.

### **2.2.3.2 Taxonomía de la Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-**

La clasificación botánica de la Santa María según Pareek *et al.* (2011) es la siguiente:

Reino: Plantae

Subreino: Trachiobionta (plantas vasculares)

Super división: Spermatophyta (plantas con semillas)

División: Mangliophyta (plantas florecidas)

Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas)

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Tanacetum*

Especie: *Tanacetum parthenium*

### **2.2.3.3 Usos y aplicaciones de la Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-**

Las partes aéreas de esta planta se utilizan ampliamente en la medicina popular para el tratamiento de la fiebre, la migraña, la artritis reumatoide, la gastritis, las picaduras de insectos, la infertilidad, los problemas dérmicos y menstruales (Benassi *et al.*, 2019).

Algunas especies de este género se han utilizado tradicionalmente en insecticidas, cosméticos, bálsamos, colorantes, medicamentos y conservantes (Mohsenzadeh *et al.*, 2011).

#### **2.2.3.4 Composición química de la Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-**

El aceite esencial está conformado de grandes cantidades de sesquiterpenos tipo lactona, particularmente la partenolida, principal constituyente en una proporción de 85 % del contenido total de sesquiterpenos y flavonoides, que exhiben una fuerte actividad antibacteriana (Mendoza, 2015; Mohsenzadeh *et al.*, 2011; Silveira *et al.*, 2016).

Según el screening fitoquímico realizado por Fuertes *et al.* (2010) la Santa María contiene saponinas -esteroidales, triterpenoides y aza-esteroidales-; triterpenoides y esteroides libres; taninos; quinonas -naftoquinonas y antraquinonas- y alcaloides.

*T. parthenium* L. contiene compuestos fenólicos flavonoides como la -luteína y apigenina- y terpenoides tipo mono y sesquiterpeno -a-metilenbutirolactonas- los más abundantes monoterpenos tales como el germacrano D, B-farneseno y alcanfor (Mendoza, 2015).

#### **2.2.4 Insecticidas**

Un insecticida es un compuesto químico de tipo biocida empleado para eliminar insectos plaga (Miranda, 2016).

##### **2.2.4.1 Insecticidas químicos**

El control del gorgojo de maíz se ha realizado lo largo del tiempo a gran escala mediante insecticidas sintéticos, actuando estos de manera preventiva y curativa, siendo el más empleado el

fumigante fosfina, este es aplicado al grano en movimiento o en el momento de trasladar el grano de un lugar a otro (Helder, 2014).

En Ecuador el fumigante autorizado para controlar el ataque de *Sitophilus zeamais* M., a granos almacenados es la Fosfina -Fosfuro de magnesio y Fosfuro de Aluminio- esto de acuerdo a -AGROCALIDAD- La Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (AGROCALIDAD, 2016).

#### 2.2.4.2 Fumigante: Gas fosfina

La fosfina -fosfuro de hidrógeno PH<sub>3</sub>- es un gas incoloro, este se difunde al interior del grano y actúa sobre todos los estadios de desarrollo del insecto, siendo letal inclusive para las plagas primarias. La fosfina no posee efecto residual, es decir, no ofrece protección posterior y no afecta el poder germinativo de las semillas. (Morales, 2019; p. 12). La fosfina -PH<sub>3</sub>- es altamente tóxica a humanos y otros animales. Se debe evitar la exposición de organismos no objetivo. (AGROCALIDAD, 2016; p. 9). En la tabla 1, se muestra las formulaciones registradas en Ecuador para el control de *Sitophilus zeamais* M.:

**Tabla 1**

*Formulaciones de fumigantes registradas en Ecuador*

Producto	Tipo	Unidades y peso en gramos	Gramos de fosfina
Gastoxin	FA	1 tableta; 3.0	1.0
Gastoxin	FA	1 pellet; 0.6	0.2

*Nota.* FA: Fosfuro de aluminio, datos tomados de AGROCALIDAD (2016).

## **2.2.5 Aceites esenciales como insecticidas**

### **2.2.5.1 Aceites esenciales**

Son originados de forma natural por el metabolismo secundario de las plantas derivados de los terpenoides, con más de cien componentes químicos orgánicos, en mezclas complejas de fracciones volátiles y sustancias aromáticas líquidas (Costa *et al.*, 2020).

### **2.2.5.2 Usos de los aceites esenciales**

Desde el punto de vista comercial, los aceites esenciales se emplean en 4 formas primarias: en productos farmacéuticos, potenciadores del sabor en muchos productos alimenticios, olores en las fragancias y como insecticidas. Numerosos aceites esenciales han mostrado efectos biocidas sobre bacterias, hongos, virus, protozoos, insectos y plantas. (Jaramillo *et al.*, 2012; p. 56)

### **2.2.5.3 Métodos de obtención**

El método más frecuente es la extracción en corriente de vapor -destilación-. En casos específicos se utiliza la expresión que consiste en exprimir las cáscaras de los cítricos, el llamado enflorado con grasas para extraer los aceites esenciales de las flores, la extracción con disolventes orgánicos y la maceración (López, 2004).

### **2.2.5.4 Composición química**

Los aceites esenciales -AE- están conformados primordialmente por compuestos terpénicos formados por isoprenoides, monoterpenos y sesquiterpenos (Jaramillo *et al.*, 2012), en

menor cantidad los compuestos derivados del fenilpropano -aldehído cinámico, eugenol, anetol, aldehído anísico y safrol, entre otros- (López, 2004).

#### **2.2.5.5 Mecanismo de acción**

Aunque el mecanismo de acción de los aceites esenciales aún no ha sido identificado por completo, los síntomas presentados por los insectos intoxicados indica un efecto neurotóxico, además, provocan daños en los mecanismos físicos como disrupción de la membrana celular o bloqueo del sistema traqueal (Arias *et al.*, 2017).

Los aceites esenciales presentan diferentes efectos en los insectos pudiendo ocasionar trastornos bioquímicos, fisiológicos y del comportamiento que conducen a su muerte o afectan su desarrollo y reproducción (Monteiro *et al.*, 2019).

#### **2.2.6 Bioinsecticidas**

Se conoce como bioinsecticida a los recursos utilizados en la exterminación o manejo de insectos, que pueden ser de origen microbiano -hongos, bacteria, virus- o bioquímico -origen botánico- (Mendoza, 2016).

##### **2.2.6.1 Plaguicidas botánicos**

Se conoce como plaguicidas botánicos a los extractos o metabolitos secundarios de las diferentes especies vegetales. Las plantas presentan diferentes principios activos o una mezcla de metabolitos tales como saponinas, taninos, alcaloides, di y triterpenoides, entre otros, que presentan gran actividad insecticida (Nava *et al.*, 2012).

“La mayoría de especies vegetales que se utilizan en la protección vegetal, muestran un efecto insectistático” (Alvarado, 2017; p. 1), es decir, “inhiben el desarrollo normal de los insectos al actuar como repelentes, disuasivos de la alimentación u ovipostura, disruptores y reguladores de crecimiento” (Zurita *et al.*, 2017; p.121).

Los efectos más significativos en el comportamiento de los insectos según Salvadores *et al.* (2007) están relacionados con la selección del hospedero para alimentación y oviposición, en cuanto a la alteración del metabolismo las consecuencias más importantes son aquellas relacionadas con la duración del ciclo del insecto, fecundidad y sobrevivencia. (p. 148)

#### **2.2.6.2 Metabolismo vegetal**

Las plantas son seres autosuficientes capaces de biosintetizar una gran variedad de componentes químicos superiores a partir de otras más simples o viceversa, también son consideradas la mayor fuente de sustancias químicas que existe, además de tener metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario con el que pueden sintetizar y acumular diversos principios activos que pueden ser empleados como defensa contra herbívoros, virus, hongos y bacterias (Mendoza, 2016).

#### **2.2.6.3 Metabolitos secundarios**

Las plantas sintetizan una amplia variedad de moléculas orgánicas a las que se denominan metabolitos secundarios, que pueden cumplir funciones determinadas como atrayentes o repelentes de animales y brinda un medio de defensa contra distintos predadores funcionando

como pesticidas naturales de acuerdo al metabolito secundario que presenten como se puede apreciar en la tabla 2 (Bastida, 2016).

**Tabla 2** *Modo de acción de metabolitos secundarios sobre insectos*

<b>Metabolito secundario</b>	<b>Modo de acción</b>
<b>Alcaloides</b>	Interfieren en la replicación de DNA Interfieren con el transporte en membranas Inhibición de enzimas Agonista de la Acetil Colina
<b>Flavonoides</b>	Inhibición de NADH deshidrogenasa en el transporte respiratorio de electrones Actúan como inhibidores enzimáticos y tienen actividad repelente
<b>Terpenoides</b>	Repelentes y disuasorios Interfieren en el desarrollo de la hormona de la muda y de la hormona juvenil Inhibidores de la síntesis de quitina Inhibición de hormonas digestivas Provocan repelencia, inapetencia y evitan la oviposición
<b>Glicósidos cianogénicos</b>	Inhibición de la citocromo oxidasa en el transporte respiratorio de electrones Tóxicos y repelentes
<b>Glucosinolatos</b>	Repelentes y disuasorios
<b>Cumarinas</b>	Reaccionan de forma irreversible con el ADN Inhiben el crecimiento de hongos y son tóxicas para nemátodos, ácaros e insectos
<b>Taninos, Ligninas y Quinonas</b>	Reductores de la digestibilidad Brindan una barrera por su sabor amargo

<b>Piretrinas</b>	Actúan sobre los canales de sodio de las neuronas interfiriendo con el impulso nervioso
<b>Saponinas</b>	Repelentes y disuasivos Alteran la estructura de las membranas

---

*Nota.* Información obtenida de Bastida (2016) y Nava *et al.* (2012).

#### **2.2.6.4 Mecanismo de acción de los bioinsecticidas**

Los mecanismos de acción de los bioinsecticidas son los siguientes:

**Reguladores de Crecimiento** Alteran la metamorfosis produciendo una metamorfosis precoz, insectos con malformaciones, estériles o muertos (Mindiola, 2019).

**“Inhibidores de la Alimentación** Son aquellas sustancias que luego de una pequeña prueba, el insecto deja de alimentarse y muere por inanición” (Mendoza, 2016).

**“Repelentes** Se da en el caso de sustancias que tienen mal olor o efectos irritantes” (Mindiola, 2019; p. 8).

**“Veneno de contacto** Mata al insecto plaga por acción directa al entrar en contacto con el mismo”.

**“Confusores.** Hace que el insecto no pueda encontrar la fuente de alimento” (Mendoza, 2016; p.16).

**“Acción de disfrazar olores.** Utiliza los olores fuertes y desagradables que expelen algunas plantas para ocultar el olor del cultivo principal y evitar que sea atacado por las plagas” (Mindiola, 2019; p.10).

### 2.2.7 Definición de términos básicos

**Aceite esencial:** “Los aceites volátiles, aceites esenciales o simplemente esencias, son las sustancias aromáticas naturales responsables de las fragancias de las flores y otros órganos vegetales” (López, 2004; p. 88).

**Repelencia:** “Es una respuesta defensiva, física o química, de las plantas contra los herbívoros, directamente o a distancia, además, reduce la posibilidad de una plaga para utilizarlas como alimento, refugio o sitio de ovipostura” (Ortiz *et al.*, 2017; p. 222).

**Tóxico:** Cualquier agente que produce una respuesta adversa en un sistema biológico.

**Concentración letal media ( $CL_{50}$ ):** Concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que mate al 50 % de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas (Repetto y Sanz, 1995).

**Concentración letal 90 ( $CL_{90}$ ):** Concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que mate al 90 % de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas.

### 3 CAPÍTULO TRES

#### MARCO METODOLÓGICO

##### 3.1 Nivel de investigación

El presente estudio es de carácter cuantitativo, ya que la variable dependiente es numérica, con un nivel de medición de razón. El enfoque del estudio es de tipo experimental, ya que se busca determinar la causa-efecto; es decir, observar el porcentaje de toxicidad o repelencia que genera el bioinsecticida.

##### 3.2 Diseño de investigación

Se realizó una investigación experimental para lo cual se desarrolló la siguiente metodología:

###### 3.2.1 *Obtención del aceite esencial*

La obtención del aceite esencial se realizó mediante el método de destilación por arrastre de vapor, para separar el agua del aceite se ocupó un decantador y para purificarlo se utilizó una centrífuga (Bravo, 2019; p. 29).

La materia prima se recolectó es estado de floración de la Santa María, en la parroquia Guapán, luego se realizó una limpieza y desinfección usando agua destilada con hipoclorito de sodio al 1 %, se procedió a secar el material vegetal a temperatura ambiente por tres días teniendo cuidado que el sol no dé directamente sobre la materia prima y por último se procedió a trozar el material vegetal -ver anexo A-.

La destilación por arrastre de vapor se realizó en el laboratorio de ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana en el equipo para destilación con capacidad de destilar 2 kg en un tiempo de 2 horas, para separar el agua del aceite esencial se ocupó un decantador de 500 mL y para purificarlo se utilizó una centrífuga a 3000 rpm durante 8 minutos -ver anexo B-.

“El aceite esencial obtenido fue almacenado en una botella ámbar en refrigeración con temperatura de 6 a 10 °C para preservar sus características” (Monteiro *et al.*, 2019; p.330).

### **3.2.2 Determinación de la composición química del aceite esencial**

Se realizó en la Universidad Estatal de Bolívar -UEB-, en los laboratorios de investigación y vinculación, mediante un cromatógrafo de gases Agilent Technologies modelo 7890A, equipado con un puerto de inyección Split [250 °C, relación de split 1:10]. Los espectros de masa se obtuvieron por impacto de electrones con energía de 70 eV, en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies modelo 5977A, equipado con un puerto de inyección Split [250 °C, relación de split 1:10]. Se usó una columna capilar de sílice fundida HP-5MS de 30 m x 0,25 mm de diámetro interior, con fase estacionaria de 5 %-fenil-poli-metilsiloxano- de 0,25 µm de grosor. El gas de arrastre fue helio con flujo de 1 mL/min. El horno fue programado a temperatura inicial de 40 °C con aumento de 2 °C por minuto hasta llegar a 180 °C, luego con aumento de 20 °C hasta llegar a la temperatura final de 260 °C. La identificación de los picos obtenidos se realizó con la base de datos *National Institute of Standards and Technology* -NIST 14-.

### **3.2.3 Crianza de insectos *Sitophilus zeamais* M**

Primero, antes de introducir los insectos adultos de *Sitophilus zeamais*, los granos fueron expuestos a -6 °C por tres días, para eliminar posibles contaminantes (Domingues *et al.*, 2020).

Para establecer la colonia con la que se realizó los bioensayos se siguió la metodología descrita por Cerna *et al.* (2010), se tomaron insectos adultos sin sexar de maíz infestado y se colocaron en recipientes de vidrio con granos de maíz sano, por un período de 5 días. Después del período de oviposición los adultos fueron removidos y la cámara de crianza con los granos ovipositados se mantuvo a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C y fotoperíodo 18:6 horas luz:oscuridad hasta obtener la siguiente generación -ver anexo C-.

La obtención y crianza de los insectos *Sitophilus zeamais* Motschulsky se realizó en la parroquia Guapán [coordenadas -2.704872, -78.862103] ubicada en la Provincia de Cañar, de los agricultores de la zona que guardan el maíz sin el empleo de insecticidas químicos, para evitar resultados erróneos. Así mismo, el grano de maíz con el que se realizó la crianza de los insectos fue obtenido en esta localidad.

#### **3.2.4 Pruebas preliminares**

Se llevaron a cabo pruebas preliminares de toxicidad por contacto con grano tratado para determinar el efecto de cada componente por separado del bioinsecticida sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Las concentraciones evaluadas de aceite esencial fueron mezcladas con acetona y se dejó evaporar por una hora, las concentraciones evaluadas fueron 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % [v/v], 1 mL de acetona, 10 mL de Polisorbato 20 -Tween 20- y 1 mL de agua Miliq. La metodología empleada fue la descrita por González *et al.* (2016), con algunas modificaciones, para lo que se mezcló en un tubo de ensayo las diferentes concentraciones de aceite esencial con acetona. Se evaluó por separado el Polisorbato 20, agua Miliq y la acetona. Se colocó cada componente en los vasos plásticos con 20 g de maíz, luego, se cubrió los vasos con sus tapas perforadas y cubiertas con tela tul para permitir el intercambio gaseoso y evitar que los insectos escapen. Los vasos se agitaron

manualmente durante dos minutos y se infestó con 10 adultos de *S. zeamais* no sexados, en un diseño completamente al azar con 4 repeticiones de cada tratamiento, los resultados se determinaron después de 3 días -ver anexo D-.

### **3.2.5 Formulación del bioinsecticida**

Para la formulación del bioinsecticida se usó la metodología descrita por Oliveira *et al.* (2017) con algunas modificaciones. Se desarrolló mediante la adición gota a gota de surfactante en un recipiente de vidrio con agitación magnética durante 10 min. Luego, el ingrediente activo se adicionó lentamente. La mezcla -tensioactivo y el ingrediente activo en fase oleosa- fue homogeneizada por agitación magnética a temperatura ambiente. Después de 20 min, se añadió agua pura Miliq -fase acuosa-. El sistema se mantuvo bajo agitación según las proporciones determinadas a temperatura ambiente hasta su completa homogeneización.

### **3.2.6 Bioensayos de repelencia, toxicidad y protección**

#### **3.2.6.1 Bioensayo de repelencia**

Se realizó según la metodología de González *et al.* (2016) con pequeñas modificaciones, el bioensayo consistió en una arena de libre elección formada por cinco vasos plásticos con sus tapas perforadas y cubiertas con tela tul para permitir el intercambio gaseoso y evitar que los insectos escapen, estando un vaso central conectado a los otros cuatro por medio de una manguera transparente de ½” de diámetro y de 10 cm de largo en posición diagonal formando una -X-. Las concentraciones evaluadas del bioinsecticida fueron 0,5; 1; 1,5 y 2 % [v/v], estas se mezclaron con acetona y con 20 g de maíz que se ubicaron en dos vasos plásticos diagonalmente opuestos dejando 1 hora destapados para que la acetona evapore. En los otros dos vasos se ubicó el testigo consistente

en el grano mezclado con acetona está se dejó 1 hora para que evapore la acetona. Luego, en el recipiente central se liberaron 20 insectos adultos sin diferenciación de sexo y después de 24 horas se contó el número de insectos por vaso. Cada tratamiento constó de 4 repeticiones con diseño completamente al azar -ver anexo E-.

Para determinar el índice de repelencia se utilizó la fórmula propuesta por Mazzonetto (como se citó en Granados *et al.*, 2016; p.432) que es  $IR = 2G / (G + P)$ , donde: IR= índice de repelencia corregido, G= porcentaje de insectos en el tratamiento, P= porcentaje de insectos en el testigo, teniendo los significados en la tabla 3.

**Tabla 3** Significado del índice de repelencia corregido

Índice de repelencia (IR)	Significado
IR=1	Neutro
IR>1	Atrayente
IR<1	Repelente
0,76-0,99	Repelencia débil
0,51-0,75	Repelencia moderada
0,26-0,50	Repelencia alta
0,0-0,25	Repelencia muy alta

*Nota.* Información obtenida de Aros *et al.* (2019) y Granados *et al.* (2016).

### 3.2.6.2 Bioensayo de toxicidad

Este bioensayo se realizó con la metodología de González *et al.* (2016), la cual consistió en mezclar en vasos plásticos 20 g de maíz con el bioinsecticida en concentraciones de 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % [v/v], más un testigo con acetona. A continuación, los frascos se dejaron por una hora a

temperatura ambiente y posteriormente cada frasco se infestó con 10 adultos de *S. zeamais* M. sin sexar. Luego, cada frasco se cubrió con sus tapas perforadas más una tela de tul para permitir el intercambio gaseoso y evitar el escape de insectos. Cada tratamiento se realizó con 4 repeticiones y los frascos fueron almacenados en oscuridad total. La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 horas, luego a los 15 y 30 días de iniciado el bioensayo -ver anexo F-.

Se determinó el porcentaje de mortalidad, el cual fue corregido por la fórmula de Abbott (1925).

$$MC = \frac{Mtr - Mte}{100 - MTe} \times 100$$

Donde:

MC = Porcentaje Mortalidad Corregida

Mtr = Porcentaje Mortalidad en el tratamiento

Mte = Porcentaje Mortalidad en el testigo absoluto

Se considera insecto muerto cuando no tiene movilidad locomotora o presente movimientos descoordinados tendientes a la muerte (Gómez *et al.*, 2016; p. 118).

### **3.2.6.3 Bioensayo de protección**

Se determinó la pérdida de peso del grano a los 30 días de infestación -DDI-, por diferencia, entre el peso inicial (20 g) y final del grano (González *et al.*, 2016) -ver anexo G-.

El porcentaje de pérdida de peso fue calculado siguiendo el método de la FAO (como se citó en Nwachukwu y Asawalam, 2014) de la siguiente manera:

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{[U_a N - (U + D)]}{U_a N} \times 100$$

donde: U - peso de la fracción no dañada en la muestra, N - número total de granos en la muestra, U<sub>a</sub> - peso promedio de los granos no dañados, D - peso de la fracción dañada en la muestra.

#### **3.2.6.4 Prueba de germinación**

A los 30 DDI se realizó una prueba de germinación con 10 semillas por unidad experimental a temperatura ambiente [ $20 \pm 5$  °C], durante siete días en platos plásticos con papel filtro humedecido en su base y cubiertos con tierra, luego se determinó el porcentaje de germinación (González *et al.*, 2016) -ver anexo H-.

### **3.3 Población y muestra**

La población utilizada en esta investigación fue 100 adultos sin sexar de *Sitophilus zeamais* M., obtenidos de la parroquia Guapán, escogidos al azar de maíz infestado, esta fue una población accesible.

La muestra fue la generación F1 obtenida a partir de los 100 adultos sin sexar de *Sitophilus zeamais* M. y fueron elegidos de manera aleatoria en un muestreo al azar simple.

### **3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Para el desarrollo de la investigación, en primer lugar, se realizó mediante la técnica inductiva-deductiva basada en la observación de los hechos y fenómenos que ocasiona el gorgojo de maíz al grano almacenado y el olor fuerte de la hierba de Santa María que podría controlar estos fenómenos, luego, se obtuvo información teórica y referencial de artículos, tesis e investigaciones publicadas en base de datos públicas y de la Universidad Politécnica Salesiana, que, a través de la

página personal permite el acceso a la base de datos de *Scopus*, *Springer*, *Web of Science*, entre otros; y por último se realizó el método experimental utilizando el aceite esencial de la hierba de Santa María en la formulación de un bioinsecticida para el control del gorgojo de maíz, comprobando los efectos mediante los bioensayos ya mencionados.

#### ***3.4.1 Técnicas de procesamiento y análisis de datos***

Los datos fueron obtenidos de 8 tratamientos con 4 repeticiones de cada uno para las pruebas preliminares; 5 tratamientos y 4 repeticiones de cada ensayo, para el bioensayo de repelencia siendo un tratamiento el testigo y para los demás bioensayos se realizaron 6 tratamientos con 4 repeticiones de cada uno, siendo un tratamiento el testigo.

Los bioensayos de repelencia y toxicidad se corrigieron mediante las fórmulas del índice de repelencia y Abbot respectivamente ya descritas anteriormente. Luego, estos resultados se sometieron a un análisis estadístico para lo que se utilizó un Diseño Completamente al Azar -DCA- y fueron sometidos a un análisis de varianza con la ayuda del software *IBM SPSS Statistics 25*.

## 4 CAPÍTULO CUATRO

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Obtención del aceite esencial

La obtención del aceite esencial se realizó en 6 días, utilizando un total de 12 kg de materia prima, obteniendo 5 mL de aceite esencial de Santa María -*Tanacetum parthenium* L.-, con un color verde opaco y el olor concentrado característico de la planta, el aceite esencial fue conservado en una botella ámbar a refrigeración con temperatura de 6 °C para su posterior uso -ver anexo I-.

La densidad obtenida del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. fue de 0,93 g/mL calculada a partir del peso de su volumen en un recipiente calibrado, lo que concuerda con (Pavela *et al.*, 2010; Végh *et al.*, 2016), que empleando el mismo método obtuvieron la densidad de 0,93 g/mL.

Con la densidad relativa y el volumen obtenido del aceite esencial, calculamos la masa del aceite con la siguiente fórmula:

$$D = \frac{m}{V}$$

$$m = D \times V$$

$$m = 0,93 \frac{g}{mL} \times 5 mL$$

$$m = 4,65 g$$

Luego con la masa obtenida y el peso total de la materia prima utilizada, calculamos el % de rendimiento con la fórmula propuesta por Ovares (2016).

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{m_{a.e}}{m_{MV}} \times 100$$

Donde:

$m_{a.e}$  = masa del aceite esencial (g).

$m_{MV}$  = masa de materia prima (g).

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{4,65 \text{ g}}{12000 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$\% \text{rendimiento} = 0,039 \left[ \frac{p}{p} \right]$$

El rendimiento obtenido del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. fue de 0,039 [p/p], equivalente a 0,04 % [v/p], esto concuerda con lo expuesto por Ovares (2016), que menciona que en general el porcentaje de rendimiento de aceite esencial de especies vegetales es muy bajo, este se encuentra por debajo a un 2 % en peso.

Usando el mismo equipo para la obtención de aceite esencial que en el presente estudio Bravo (2019) obtuvo un rendimiento de 0,10 % [v/p] para las hojas de *Schinus molle*. En el estudio realizado por Shafaghat *et al.* (2017) usando el método de hidrodestilación para la obtención del aceite esencial de las hojas de *Tanacetum parthenium* L., obtuvieron un rendimiento de 0,8 % [v/p], utilizando el mismo método en las partes aéreas de la planta, Akpulat *et al.* (como se citó en Végh *et al.*, 2016) alcanzaron un rendimiento de 0,78 % [v/p]. Mientras que, Sharopov *et al.*

(2015) alcanzaron un rendimiento del 0,1 al 0,2 %. Omidbaigi *et al.* (2013), compararon si el método de secado en las flores intervienen en el rendimiento del aceite esencial obteniendo con las flores secadas a la sombra 0,48 % [p/p], las flores secadas al sol 0,27 % [p/p] y las flores secadas en un horno a 40 °C 0,42 % [p/p]. Las diferentes variaciones porcentuales de contenido de aceite esencial en la especie *Tanacetum parthenium* L., puede ser objeto de los métodos empleados en la obtención del aceite esencial, de las diferentes zonas y condiciones en las que fueron cultivadas las especies, el manejo y tratamiento que se dio a la materia prima, así como, al diferente manejo de las condiciones de los equipos como la temperatura, la presión y el tiempo de destilación.

#### **4.2 Determinación de la composición química del aceite esencial**

El análisis mediante cromatografía de gases acoplado al espectrómetro de masas -GC/MS- identificó un total de 99,91 % de los componentes del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L., los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4** Resumen de los principales componentes del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L.

N°	Compuesto	RT [min]	%
1	$\alpha$ -Pino	9,758	3,05
2	Canfeno	10,541	10,23
3	p-cimeno	14,913	8,11
4	Crisantenona	21,282	3,98
6	Alcanfor	22,853	37,85
7	Acetato de transcrisantenilo	28,734	2,13
8	Acetato de bornilo	31,996	5,63

*Nota.* Componentes mayoritarios del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. valores obtenidos por GC/MS en los laboratorios de la Universidad Estatal de Bolívar. RT = tiempo de retención en minutos. Datos acoplados por el autor. -Para los datos completos ver anexo J-.

Como se puede apreciar en la tabla 4 se identificaron 8 componentes que representan el 70,98 % de la composición total del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L., los componentes principales fueron los monoterpenos alcanfor [37,85 %], canfeno [10,23 %], p-cimeno [8,11 %] y acetato de bornilo [5,63 %], estos resultados concuerdan con (Mohsenzadeh *et al.*, 2011; Omidbaigi *et al.*, 2013; Pavela *et al.*, 2010; Shafaghat *et al.*, 2017; Sharopov *et al.*, 2015) que presentan componentes similares a los encontrados en la presente investigación, aunque, con variaciones en el contenido de los componentes, esto puede ser debido a los diferentes países en los que se realizó la identificación de los componentes principales del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L.

### 4.3 Crianza de insectos *Sitophilus zeamais* M

Se estableció la colonia con la que se realizó los bioensayos, mediante la selección al azar de 100 insectos adultos sin sexar y se colocaron en una cámara de crianza con 2 kg de granos de maíz no infestado, por un período de 5 días. Después del período de oviposición los adultos fueron removidos y la cámara de crianza con los granos ovipositados se mantuvo a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C y fotoperíodo 18:6 horas luz:oscuridad hasta obtener la siguiente generación.

Los insectos adultos son fáciles de diferenciar porque estos perforan los granos de maíz para ovopositar en su interior y cuando se convierten en adultos emergen al exterior del grano, por lo que, los insectos utilizados en las pruebas fueron los que se encontraban en el exterior de los granos.

De acuerdo a Patiño (2019) las hembras depositan un huevo dentro de cada grano, lo que no concuerda con lo obtenido en la crianza realizada, pues, en varios granos se observó el desarrollo de hasta 3 insectos, estos cambios observados pueden ser debido a la cantidad de maíz empleado para la crianza, ya que al existir una cantidad limitada de granos estos deben abarcar el desarrollo de más de un insecto.

Según Patiño (2019) el período del insecto *Sitophilus zeamais* M. hasta llegar a convertirse en adulto es de 19-34 días; Archuleta *et al.* (2012) propone entre 34 y 43 días hasta obtener insectos adultos, esto en condiciones óptimas, con temperaturas entre 15 y 34 °C, 40 % de humedad relativa y fotoperíodo de 18:6 horas luz:oscuridad; la crianza realizada se llevó a cabo en 60 días, si bien los resultados no están entre los rangos propuestos esto puede ser efecto de las condiciones en las que se efectuó la crianza, entre la condición más influyente está la temperatura, ya que, a temperaturas bajas la actividad de los insectos disminuye y no encuentran las condiciones

necesarias para su reproducción, esto se evidenció en la cámara de crianza que en los primeros 15 días no se observó actividad de los insectos, luego de alcanzar la temperatura de  $25 \pm 2$  °C el desarrollo de la generación F1 se dio en 45 días -ver anexo K-.

#### 4.4 Pruebas preliminares

El aceite esencial de *T. parthenium* L. mostró toxicidad por contacto con grano tratado sobre *S. zeamais* M. según las diferentes concentraciones empleadas. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianzas ANOVA -ANalysis Of VAriance- de un factor, a continuación, se presentan los resultados obtenidos después de 3 días de aplicación de cada tratamiento, para lo cual se propuso las siguientes hipótesis, con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

H<sub>0</sub>: No hay diferencias entre las medias de los diferentes tratamientos:  $\mu_1=\mu_2\dots\mu_k=\mu$  -el aceite esencial no tiene efecto tóxico-.

H<sub>1</sub>: Al menos un par de medias son significativamente distintas una de otra -el aceite esencial tiene efecto tóxico-.

**Tabla 5** ANOVA de un factor según el programa IBM SPSS Statistics 25

	GL	SC	MC	F	Sig.
Tratamientos	7	378,469	54,067	28,676	0,000
Error	24	45,250	1,885		
Total	31	423,719			

*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa IBM SPSS Statistics 25 por el autor. Con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo a la tabla 5 la significancia es menor a 0,05 se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ , demostrando que, existe diferencia entre los distintos tratamientos aplicados, es decir, el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. tiene efecto tóxico sobre *Sitophilus zeamais* M.

Para determinar las diferencias entre las medias obtenidas de cada tratamiento, los datos fueron sometidos a la Prueba de Tukey, los resultados se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla 6** Subconjuntos homogéneos de la Prueba de Tukey según el programa IBM SPSS Statistics 25

HSD Tukey <sup>a</sup>	Toxicidad				
	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
Tratamientos aplicados	N	1	2	3	4
Acetona	4	X			
Polisorbato 20	4	X			
Agua miliq	4	X			
0,5 %	4		X		
1 %	4		X	X	
1,5 %	4		X	X	
2 %	4			X	X
4 %	4				X
Sig.		1,00	,133	,213	,325

*Nota.* Se visualizan los subconjuntos homogéneos. a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000. Fuente: Datos obtenidos del programa IBM SPSS Statistics 25 por el autor.

Los datos expresados en la tabla 6 muestran que medias son significativamente diferentes de otras con un nivel de confianza del 95 %. En donde cada subgrupo en la línea horizontal numerada de 1 a 5 con -X- verticales representan los grupos homogéneos que no tienen diferencias estadísticamente significativas entre ellos, por lo que, se podría decir que la acetona, el polisorbato y el agua pura miliq no muestran diferencia significativa, al igual que, las concentraciones de 0,5; 1 y 1,5 % que son grupos homogéneos, también, las concentraciones 1; 1,5 y 2 %, por último las concentraciones 2 y 4 % son grupos homogéneos, obteniendo efecto de toxicidad sobre *Sitophilus zeamais* M. a partir de la concentración de 0,5 % de aceite esencial y el mayor efecto con la concentración de 4 % de aceite esencial.

Con las medias obtenidas se realizó la siguiente figura que muestra que a mayor concentración de aceite esencial existirá mayor toxicidad.

**Figura 3** Toxicidad obtenida según las diferentes concentraciones evaluadas



*Nota.* Se muestra las diferentes medias obtenidas de cada tratamiento realizado transcurridos 3 días de la aplicación de cada tratamiento. Realizada con el programa *IBM SPSS Statistics 25*. Fuente: Autor -ver anexo L-.

En la figura 3 se puede apreciar que la acetona, polisorbato y agua miliq no interfieren en el ciclo de vida normal del insecto *S. zeamais* M., ya que los porcentajes de toxicidad obtenidos fueron de 5 %. Mientras que, con 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % de aceite esencial se obtuvo 40; 53; 68; 78 y 100 % de toxicidad respectivamente, demostrando que a mayor concentración de aceite esencial mayor es el efecto tóxico sobre *S. zeamais* M., mostrando mejores resultados con las concentraciones de 2 y 4 % de aceite esencial.

Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Oliveira *et al.* (2017), aunque en la formulación realizada utilizaron el aceite esencial de *L. sidoides* y surfactante -Procetyl-, demostraron en las pruebas preliminares que el aceite esencial es el responsable de la toxicidad sobre *S. zeamais* M., y que los componentes diferentes del aceite esencial como el solvente acetona y el surfactante no interfieren en la supervivencia de los insectos.

#### 4.5 Formulación del bioinsecticida

Se realizó en el laboratorio de ciencias de la vida de química general de la Universidad Politécnica Salesiana, mediante la adición gota a gota de 16 mL de surfactante Polisorbato 20 - Tween 20- en un vaso de precipitación de 50 mL con agitación magnética durante 10 minutos. Luego, se adicionó lentamente 2 mL del ingrediente activo -aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L.-. La mezcla fue homogeneizada por agitación magnética a temperatura ambiente. Después de 20 minutos, se añadió 22 mL de agua pura Miliq. El sistema se mantuvo bajo agitación magnética durante 2 horas y la formulación fue almacenada en un vial ámbar, en la oscuridad a temperatura ambiente -ver anexo M-.

**Tabla 7** Comparación de métodos realizados para la formulación

Ejecutor	Cantidad de componentes de formulación			Total
	Surfactante	Principio activo - aceite esencial-	Agua pura Miliq	
Oliveira et al. (2017)	72 mL Procetyl® AWS	18 mL <i>Lippia sidoides</i>	10 mL	100 mL
Autor	16 mL Polisorbato 20	2 mL <i>Tanacetum parthenium</i> L.	22 mL	40 mL

*Nota.* Información acoplada de Oliveira *et al.* (2017) a la información obtenida por el autor.

Se desarrolló teniendo como base la formulación realizada por Oliveira *et al.* (2017), como se puede apreciar en la tabla 7, con cambios en la cantidad, tipo de surfactante y principio activo, esto en principio por la cantidad obtenida de aceite esencia de *Tanacetum parthenium* L. y luego por la densidad alcanzada en la formulación realizada se modificó los valores de los componentes del bioinsecticida.

## **4.6 Bioensayos de repelencia, toxicidad y protección**

### **4.6.1 Bioensayo de repelencia**

El bioinsecticida mostró efectos de repelencia según las diferentes concentraciones empleadas, según lo demuestra los datos obtenidos.

Estos datos fueron sometidos a análisis de varianzas ANOVA de un factor, a continuación, se presentan los resultados obtenidos transcurridas 24 horas, para lo cual se propuso las siguientes hipótesis, con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

$H_0$ : No hay diferencias entre las medias de los diferentes tratamientos:  $\mu_1=\mu_2\dots\mu_k=\mu$  -el bioinsecticida no tiene efecto repelente-.

$H_1$ : Al menos un par de medias son significativamente distintas una de otra -el bioinsecticida tiene efecto repelente-.

**Tabla 8** ANOVA de un factor según el programa IBM SPSS Statistics 25

	GL	SC	MC	F	Sig.
Tratamientos	4	42,800	10,700	4,721	0,011
Error	15	34,000	2,267		
Total	19	76,800			

*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa IBM SPSS Statistics 25 por el autor. Con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo a la tabla 8 la significancia es menor a 0,05 se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ , demostrando que existen diferencias significativas entre las medias aritméticas de los grupos experimentales, teniendo efecto repelente que pueden ser atribuidas a las distintas dosis del bioinsecticida empleadas.

Para la comparación múltiple de los distintos tratamientos se utilizó el método LSD - DMS diferencia mínima significativa-, los resultados se presentan en la siguiente tabla.

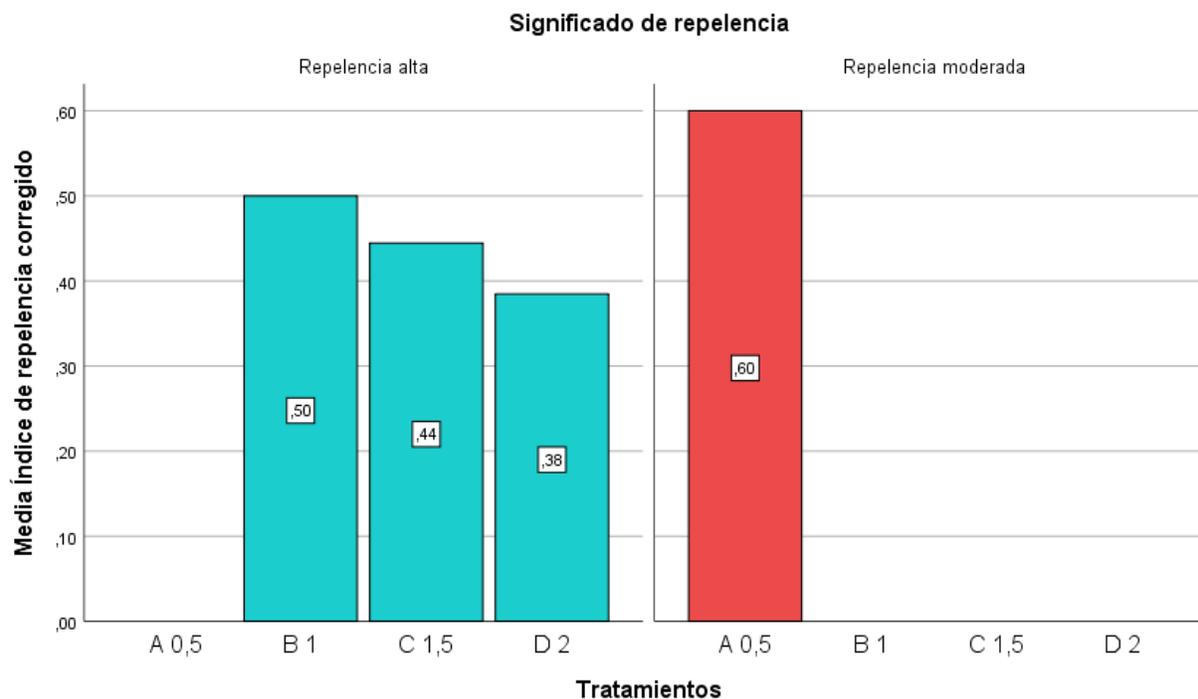
**Tabla 9** Comparación múltiple DMS según el programa IBM SPSS Statistics 25

Comparaciones múltiples		
Variable dependiente: Índice de repelencia		
DMS		
Tratamientos	1	2
Testigo	X	
0,5 %		X
1 %		X
1,5 %		X
2 %		X

*Nota.* Datos obtenidos en el programa *IBM SPSS 25*. Fuente: Autor. \*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Según la tabla 9 de la diferencia mínima significativa existen diferencias entre las concentraciones empleadas del bioinsecticida en relación con el testigo, teniendo acción repelente con todas las concentraciones empleadas, por lo que, el índice de repelencia está estrechamente relacionado con la dosis empleada del bioinsecticida es decir a mayor dosis existe una mayor acción repelente. Con las medias obtenidas de cada tratamiento se obtuvo el índice de repelencia corregido mediante la fórmula propuesta por Mazzonetto (como se citó en Granados *et al.*, 2016; p.432).

**Figura 4** Índice de repelencia corregido



C.V. = 19,54%

*Nota.* Se muestra el índice de repelencia corregido mediante la fórmula propuesta por Mazzonetto. Los análisis fueron realizados en el programa *IBM SPSS 25*. Fuente: Autor. \* A, B, C y D formulación en concentración de 0,5; 1; 1,5 y 2 % [v/v]. \* C.V. = coeficiente de variación -ver anexo N-.

La categoría de repelencia está dada por:  $IR < 1$  repelente,  $IR = 0$  neutro e  $IR > 1$  atrayente esto según Granados *et al.* (2016), de acuerdo a la figura 4 las concentraciones empleadas en este estudio se puede considerar que el bioinsecticida tiene efecto repelente sobre *Sitophilus zeamais* M., Aros *et al.* (2019) propone intervalos más específicos para establecer la repelencia como son: 0,00-0,25 repelencia muy alta, 0,26-0,50 repelencia alta, 0,51-0,75 repelencia moderada y 0,76-0,99 repelencia débil, por lo que, mientras más cerca estén los valores de 0 mayor será la acción

repelente; de acuerdo a estos valores y las concentraciones empleadas del bioinsecticida se puede categorizar como repelencia moderada a la concentración de 0,5 % y repelencia alta a concentraciones de 1; 1,5 y 2 %, teniendo mayor efecto repelente con la concentración de 2 % con IR = 0,38.

El índice de repelencia en el presente estudio estuvo entre 0,38 y 0,60 sobre *Sitophilus zeamais* M., estos resultados coinciden con el estudio realizado por Aros *et al.* (2019) usando el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. -paico- obtuvieron valores entre 0,31–1 teniendo variación en la concentración de 0,25 % que lo clasifica como neutro. Arias *et al.* (2017) obtuvieron índices de repelencia en un rango de 0,2 a 0,7 utilizando aceite esencial de frutos de *Schinus molle* L., Costa *et al.* (2020) evaluaron el índice repelente de Niaouli, eucalipto y orégano obteniendo IR menores a 1, lo cual los clasifica como repelentes. González *et al.* (2016) evaluaron el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y *Eucalyptus nitens* H. obteniendo efecto repelente con las dos especies con IR de 0,43–0,62 con *E. globulus* y de 0,36–0,68 con *E. nitens*. En el estudio realizado por Morales (2019) evaluó el aceite esencial de menta y de eucalipto obteniendo IR entre 0,48–0,50 clasificando los tratamientos como repelentes. Pizarro *et al.* (2014) evaluaron el aceite esencial de follaje de boldo obteniendo IR menor a 1 con valores entre 0,11–0,23; sin diferencia significativa entre los tratamientos. Salgado *et al.* (2012) obtuvieron IR menores a 1 con un rango 0,13–0,30. De acuerdo a las diferentes investigaciones se podría considerar a los aceites esenciales como repelentes hacia *S. zeamais* M. y aunque, en la presente investigación el aceite esencial se empleó en un bioinsecticida se podría decir que no incide en la acción repelente, ya que, los resultados presentados de las investigaciones concuerdan con la presente investigación, puesto que, los valores del IR después de 24 horas de aplicado cada tratamiento fue menor a 1, considerando el bioinsecticida como una alternativa altamente repelente para controlar el ataque

de *S. seamaiz* M. a granos almacenados, debido a que, la capa de bioinsecticida que envuelve los granos luego del tratamiento, tiene influencia sobre el comportamiento de los insectos.

Por otro lado, los adultos de *S. zeamais* M., mediante el olfato detectan olores extraños, evitándolos cuando tienen oportunidad de escoger (Salgado *et al.*, 2012), debido a esto el efecto repelente es primordial al momento de optar por un aceite esencial para el control de *S. zeamais*. De modo general, a mayor repelencia, menor será el daño ocasionado al grano por estos insectos.

El efecto repelente puede estar relacionado con la naturaleza lipofílica de los aceites esenciales, ya que estos interfieren en los procesos esenciales para el desarrollo de los insectos, además del efecto citotóxico de los terpenoides (Bravo, 2019), ya que, según Arias *et al.* (2017) los terpenoides aumentan la actividad repelente al aumentar la dosis. Dado la presencia de terpenoides tipo mono y sesquiterpeno -a-metilenbutirolactonas- los más abundantes monoterpenos tales como el B-farneseno y alcanfor en el aceite esencial de *T. parthenium* L. y por consiguiente en el bioinsecticida estos provocan repelencia e inapetencia (Bastida, 2016).

Cabe destacar que, por un fenómeno de potenciación entre los compuestos, se obtiene un mayor efecto repelente al aplicar el aceite esencial en conjunto que usando alguno de sus componentes mayoritarios de manera individual (Pizarro *et al.*, 2014).

#### **4.6.2 Bioensayo de toxicidad**

El bioinsecticida ocasiona mortalidad sobre *S. zeamais* M. de acuerdo a las concentraciones y el tiempo de exposición, esto, según los datos obtenidos.

Estos datos fueron sometidos a análisis de varianzas ANOVA de dos factores o modelo general lineal univariado, con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$  para lo cual se propuso las siguientes hipótesis:

H<sub>0</sub>: No hay diferencias entre las medias de los diferentes tratamientos:  $\mu_1=\mu_2\dots\mu_k=\mu$  -el bioinsecticida no ocasiona mortalidad a *S. zeamais* M. y no depende de la concentración ni el tiempo de exposición-.

H<sub>1</sub>: Al menos un par de medias son significativamente distintas una de otra -el bioinsecticida ocasiona mortalidad a *S. zeamais* M y está depende de la concentración y el tiempo de exposición-.

**Tabla 10** Resultado de ANOVA de dos factores según el programa IBM SPSS Statistics 25

Prueba de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Mortalidad Corregida					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	160411,561 <sup>a</sup>	29	5131,433	22,336	,000
Intersección	138821,339	1	138821,339	560,568	,000
Trat	44779,249	5	8955,850	36,164	,000
Días		4	22718,744	91,740	,000
Trat * Días		20	1237,867	4,999	,000
Error		90	247,644		
Total	321520,860	120			
Total corregido	182699,522	119			

*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa *IBM SPSS Statistics 25* por el autor. Con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ . a. R al cuadrado = ,878 -R al cuadrado ajustada = ,839-.

En la tabla 10 se observa que la fila Modelo corregido se refiere a todos los efectos del modelo tomados juntos -el efecto de los dos factores, de la interacción y de la constante o intersección-. El nivel crítico asociado al estadístico F [sig. = 0,000 < 0,05] nos explica una parte significativa de la variación observada en la variable dependiente -mortalidad-. El valor  $R^2 = 0,878$  indica que los tres efectos incluidos en el modelo -Tratamientos, días y tratamientos\*días- explican el 87,8 % de la varianza de la variable dependiente -mortalidad-.

Las siguientes dos filas -Trat y Días- presentan los efectos individuales de estos factores. Los niveles críticos sig. = 0,000 en los dos casos indican que poseen mortalidad media significativamente diferentes. La siguiente fila presenta el efecto de la interacción Trat\*días con sig. 0,000 lo cual indica que esta interacción posee un efecto significativo sobre la mortalidad, por lo que, se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ , es decir, el bioinsecticida ocasiona mortalidad a *S. zeamais* M., y está depende de la concentración y tiempo de exposición.

Como los datos analizados muestran diferencias entre las medias estadísticas estas fueron sometidas a la Prueba de Tukey de tratamientos aplicados y los días en que se tomaron los datos, a continuación se presentan los resultados obtenidos.

**Tabla 11** Resultado de prueba de Tukey subconjuntos homogéneos entre la mortalidad y concentración según el programa IBM SPSS Statistics

HSD Tukey <sup>a b</sup>		Mortalidad Corregida			
		Subconjunto			
Tratamientos	N	1	2	3	4
Testigo	20	X			
0,5 %	20		X		
1 %	20		X		
1,5 %	20		X	X	
2 %	20			X	
4 %	20				X
Sig.		1,000	,147	,887	1,000

*Nota.* Se visualizan los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se basa en las medias observadas. El término de error es la media cuadrática -Error- = 247,644. a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 20,000. b.  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo con el procedimiento de Tukey y la tabla 11, existen diferencias estadísticas significativas entre el testigo y las concentraciones de bioinsecticida empleadas, siendo grupos homogéneos las concentraciones 0,5; 1; 1,5 % que no presentan diferencias significativas entre estos, también son grupos homogéneos sin presentar diferencia significativa las concentraciones 1,5 y 2 %, dejando como mejor opción a la concentración 4 % que presenta diferencias significativas respecto a los demás tratamientos.

**Tabla 12** Resultado de prueba de Tukey subconjuntos homogéneos entre la mortalidad y días de exposición según el programa IBM SPSS Statistics 25

Días de exposición	N	Mortalidad corregida		
		Subconjunto		
		1	2	3
24 hrs	24	X		
48 hrs	24	X		
72 hrs	24		X	
15 días	24			X
30 días	24			X
Sig.		,586	1,000	,886

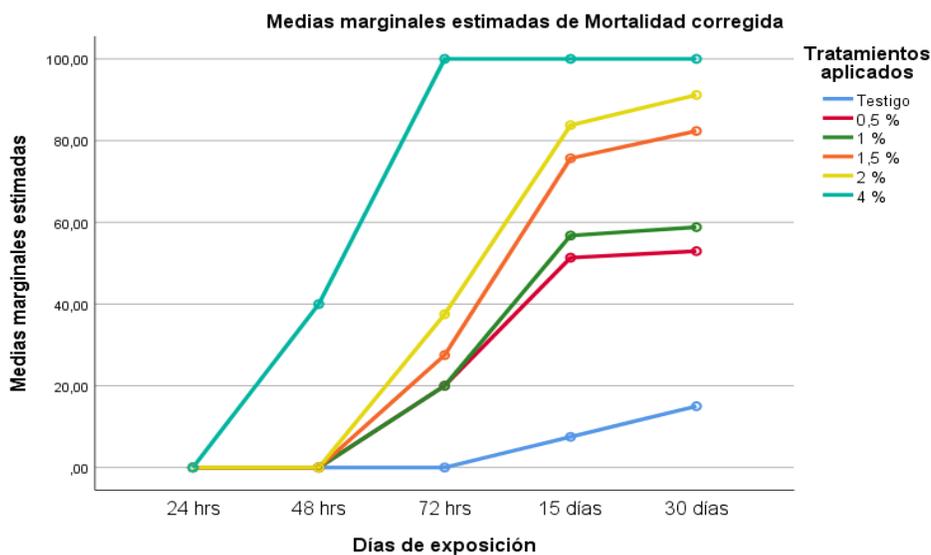
*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa IBM SPSS Statistics 25 por el autor. Se visualizan los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se basa en las medias observadas. El

término de error es la media cuadrática -Error- = 247,644. a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 24,000. b.  $\alpha=0,05$  -ver anexo O-.

Según la tabla 12 no hay diferencia significativa entre los valores de mortalidad obtenidos a las 24 y 48 horas siendo estos grupos homogéneos, al igual que los valores obtenidos a los 15 y 30 días, por lo que, se podría decir que se obtiene un mayor efecto de mortalidad a las 72 horas de aplicación del bioinsecticida.

Con los datos obtenidos se presenta a continuación las medias de mortalidad en cada tratamiento aplicado resultante de combinar los factores tratamientos, días de exposición y la mortalidad obtenida.

**Figura 5** Gráfico de perfil de tratamientos aplicados, días de exposición y toxicidad obtenida



*Nota.* Se muestra la mortalidad corregida mediante la fórmula propuesta por la FAO. Los análisis fueron realizados en el programa *IBM SPSS 25*. Fuente: Autor -ver anexo P-.

Según la figura 5 la mortalidad ocasionada por el bioinsecticida está estrechamente ligada con la concentración empleada y el tiempo de exposición, teniendo los siguientes valores a las 24 horas 0 % en los diferentes tratamientos, a las 48 horas 40 % con 4 % de bioinsecticida, a las 72 horas 20; 20; 27,5; 37,5 y 100 % con 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % de bioinsecticida respectivamente. A los 15 días se observó una mortalidad de 7,5 % en el testigo y 51,35; 56,76; 75,68; 83,79 y 100 % con 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % de bioinsecticida respectivamente. Por último, a los 30 días se obtuvo los siguientes valores 15 % en el testigo y 52,95; 58,83; 82,36; 91,18 y 100 % de mortalidad empleando concentraciones de 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % respectivamente y se determinó la concentración letal 50 % a los 30 DDI que fue  $CL_{50} = 1,5$  % equivalente a la aplicación de 0,75  $\mu\text{l/g}$  y la concentración letal 90 %  $CL_{90} = 2,2$  % equivalente a la aplicación de 1,10  $\mu\text{l/g}$  de bioinsecticida. Por último, se determinó el tiempo letal para ocasionar mortalidad en el 50 % de insectos se obtuvo  $TL_{50} = 19,5$  días y el tiempo letal para ocasionar mortalidad en el 90 % de insectos se obtuvo  $TL_{90} = 128,3$  días aplicando 0,5 % de bioinsecticida;  $TL_{50} = 48,9$  horas y  $TL_{90} = 61,1$  horas aplicando 4 % de bioinsecticida.

De acuerdo a Zurita *et al.* (2017) recomiendan la aplicación de un producto botánico cuando este provoque tasa de mortalidad superior al 50 %, por lo que, según los resultados obtenidos el bioinsecticida tendrá efecto tóxico a partir de las 72 horas con 4 % de concentración y a los 15 días con las concentraciones de 0,5; 1 y 2 % de bioinsecticida. Los resultados obtenidos con 4 % de bioinsecticida concuerdan con Oliveira *et al.* (2017) que alcanzaron 100 % de mortalidad con la nanoformulación a base de aceite esencial de *Lippia sidoides* en concentración de 1600  $\mu\text{l/kg}$  [1,6  $\mu\text{l/g}$ ]; determinaron el tiempo letal medio obteniendo  $TL_{50} = 49,3$  horas; además, la concentración letal media obtenida se aproxima a la  $CL_{50}$  obtenida por Martínez *et al.* (2013) que fue de 0,64  $\mu\text{l/g}$  de maíz empleando aceite esencial de *Piper aduncum*; mientras que,

en el estudio realizado por Arias *et al.* (2017) obtuvieron 96,3 % de mortalidad con la concentración de 8 % de aceite esencial de *Schinus molle* y una  $CL_{50} = 3,82$  y  $CL_{90} = 9,1$  %; y en el estudio realizado por González *et al.* (2016) empleando aceite esencial de dos especies de *Eucalyptus* en ninguno de los dos tratamientos a los 15 DDI obtuvieron una mortalidad superior al 10 %. En el estudio realizado por Pavela *et al.* (2010) determinaron la actividad insecticida del aceite esencial *T. parthenium* contra larvas de *Spodoptera littoralis* a las 24 horas de aplicación obteniendo los siguientes valores  $CL_{50} = 0,05$  y  $CL_{90} = 0,18$   $\mu\text{l/larva}$  demostrando que el aceite esencial posee actividad insecticida, pudiendo está ser atribuida a las sustancias terpénicas principalmente al alcanfor y el acetato de transcrisantenilo que según Bastida (2016) y Nava *et al.* (2012) actúan como disuasorios, inhiben la síntesis de las hormonas digestivas provocando inapetencia y evitando la oviposición.

#### **4.6.3 Bioensayo de protección**

Se realizó la evaluación del porcentaje de pérdida de peso transcurridos 30 días de aplicación de cada concentración a estudiar, teniendo un peso inicial de 20 g que representa el 100 % de peso y comparándolo con el peso final al cabo de 30 días.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianzas ANOVA de un factor, a continuación, se presentan los resultados obtenidos, para lo cual se propuso las siguientes hipótesis, con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

$H_0$ : No hay diferencias entre las medias de los diferentes tratamientos:  $\mu_1=\mu_2\dots\mu_k=\mu$  -el bioinsecticida no ofrece protección a los granos del ataque de *S. zeamais* M.-.

H<sub>1</sub>: Al menos un par de medias son significativamente distintas una de otra -el bioinsecticida ofrece protección a los granos del ataque de *S. zeamais* M.-.

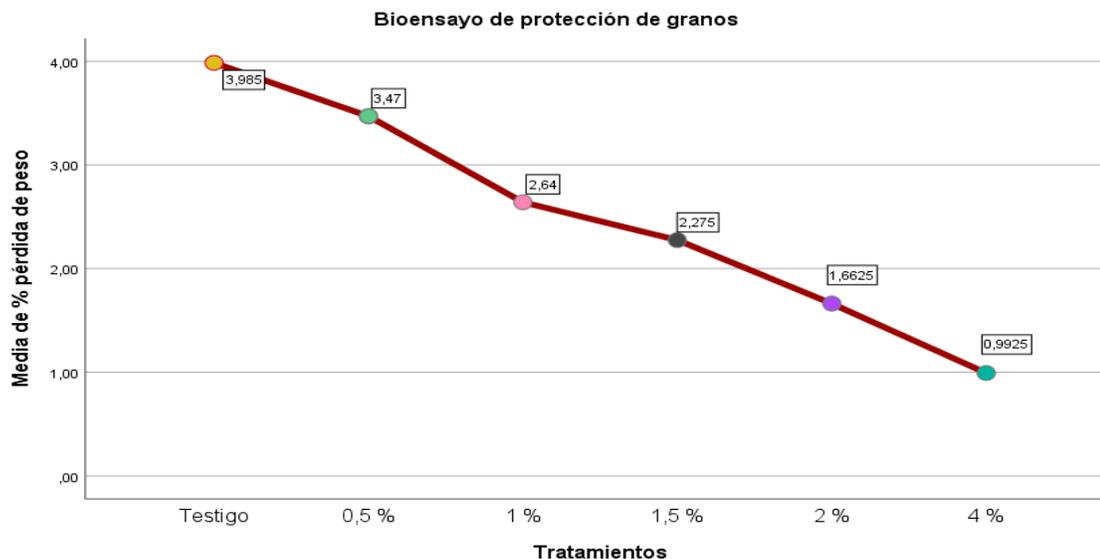
**Tabla 13** ANOVA de un factor según el programa IBM SPSS Statistics 25

	GL	SC	MC	F	Sig.
Tratamientos	5	24,761	4,952	1,471	0,248
Error	18	60,598	3,367		
Total	23	85,359			

*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa IBM SPSS Statistics 25 por el autor. Con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo a la tabla 13 la significancia obtenida fue mayor a 0,05 se acepta la H<sub>0</sub> demostrando que no hay diferencia significativa entre las medias de los diferentes tratamientos, por lo que, se podría decir que el bioinsecticida no ofrece protección a los granos del ataque de *S. zeamais* M. A continuación se presenta la relación que a mayor concentración de bioinsecticida menor pérdida de peso en los granos.

**Figura 6** Promedio de porcentaje de pérdida de peso en los granos según los distintos tratamientos aplicados



C.V. = 86,21 %

*Nota.* Se muestra el porcentaje de pérdida de peso de los granos según las distintas concentraciones empleadas en el estudio. Los análisis fueron realizados en el programa *IBM SPSS 25*. Fuente: Autor. \* C.V. = coeficiente de variación -ver anexo Q-.

La figura 6 indica que la pérdida de peso será menor cuando mayor sea la concentración del bioinsecticida, en ese sentido, en el testigo se dio una pérdida de 3,99 % de peso lo que equivale a 0,80 g de grano de maíz, con el bioinsecticida a 0,5 % = 3,47 % lo que equivale a 0,69 g; con 1 % = 2,64 esto es 0,53 g; con 1,5 % = 2,28 % esto es 0,46 g; con 2 % = 1,66 esto equivale a 0,33 g y con 4 % de bioinsecticida se observó una pérdida de peso de 0,99 % lo que equivale a 0,20 g. Según estos datos el mayor efecto de protección a los granos de maíz del ataque de *S. zeamais* M., se obtuvo con 4 % de bioinsecticida; y aunque, se observa un decaimiento en la pérdida de peso

en relación con el testigo y con el aumento de concentración del bioinsecticida, de acuerdo al análisis estadístico no existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, esto podría ser a causa del tiempo, ya que Salvadores *et al.* (2007) proponen que entre 30 al 50% de la producción se pierde al cabo de seis meses, es decir para un mejor análisis del efecto de protección del bioinsecticida a granos este bioensayo debería ser realizado en tiempo más prolongado.

Se obtuvieron valores de porcentaje de pérdida de peso entre 0,99 – 3,99 % que no presenta diferencias estadísticas significativas entre tratamientos lo que concuerda con González *et al.* (2016) que a los 55 DDI no observaron diferencias estadísticas entre tratamientos con valores entre 6,19–7,64 % con *E. globulus* y 9,12–13,73 % con *E. nitens*, además, Martínez *et al.* (2013) empleando el aceite esencial de *Piper aduncum* obtuvieron valores entre 4,24–6 % a los 34 DDI sin presentar diferencia estadística y difieren con Alvarado (2017) quien obtuvo a los 50 DDI los siguientes valores con *Azadirachta indica* 2,08 %; *Chenopodium ambrosoides* 2,72 %; *Ruta graveolens* 5,43 % y 7,75 % con *Tagetes erecta* obteniendo diferencias significativas en relación con 28,70 % de pérdida de peso en el testigo.

#### **4.6.4 Prueba de germinación**

Según el bioensayo realizado los distintos tratamientos no afectan la capacidad germinativa de las semillas de maíz después de 30 días de aplicación de las distintas concentraciones del bioinsecticida.

Los datos obtenidos según la prueba Shapiro-Wilk no siguen una distribución normal -ver anexo R-, por lo que, fueron sometidos a una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, a continuación, se presentan los resultados obtenidos transcurridos 30 días de aplicación de cada

tratamiento, para lo cual se propuso las siguientes hipótesis, con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

$H_0$ : La distribución es la misma entre las categorías de tratamientos aplicados:  
 $\mu_1=\mu_2\dots\mu_k=\mu$  -el bioinsecticida no afecta el porcentaje de germinación la semilla de maíz-.

$H_1$ : La distribución no es la misma entre las categorías de tratamientos aplicados -el bioinsecticida afecta el porcentaje de germinación de la semilla de maíz-.

**Tabla 14** Resumen de prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis según el programa IBM SPSS

*Statistics 25*

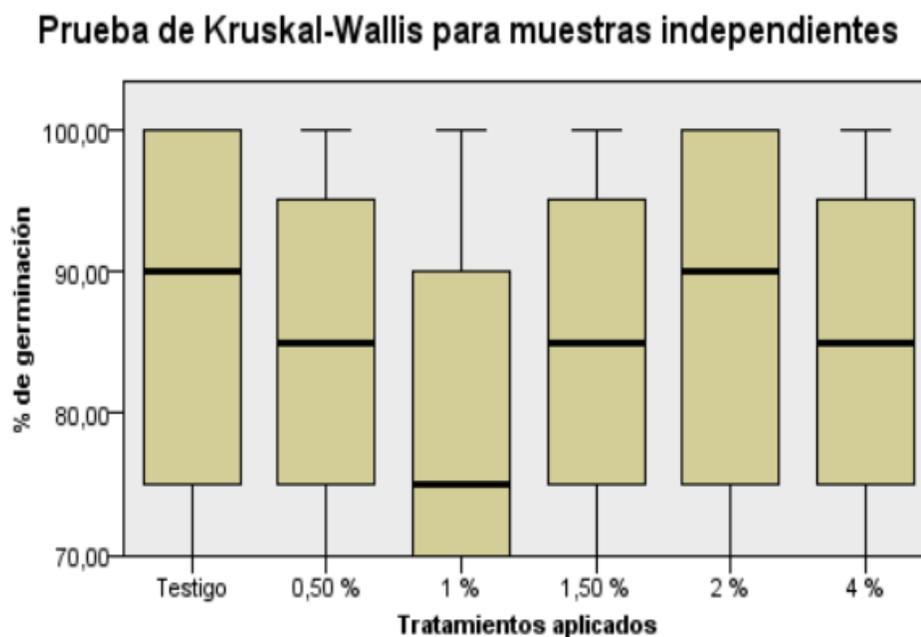
Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1 La Distribución de % de germinación es la misma entre las categorías de tratamientos aplicados	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	0,964	Retener la hipótesis nula

*Nota.* Datos acoplados obtenidos del programa *IBM SPSS Statistics 25* por el autor. Se muestran significaciones asintóticas. Con un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$ .

De acuerdo a la tabla 14 la significancia obtenida fue mayor a 0,05 se acepta la  $H_0$  demostrando que no hay diferencia significativa entre las distribuciones de los diferentes tratamientos, por lo que, se infiere que el bioinsecticida no afecta la capacidad germinativa de las semillas de maíz.

En la siguiente figura se puede apreciar el porcentaje de germinación según los distintos tratamientos aplicados.

**Figura 7** Promedio de porcentaje de germinación en los granos según los distintos tratamientos aplicados



*Nota.* Se muestra el porcentaje de germinación de los granos según las distintas concentraciones empleadas en el estudio. Los análisis fueron realizados en el programa *IBM SPSS* 25. Fuente: Autor.

De acuerdo a la figura 7 se obtuvo porcentajes de germinación de 88; 85; 80; 85; 88 y 85 % con las concentraciones de 0 -testigo-; 0,5; 1; 1,5; 2 y 4 % de bioinsecticida respectivamente, sin existir diferencia estadística significativa entre los diferentes tratamientos, aunque, según Peñaherrera (2011), para ser considerada semilla de calidad y de alta capacidad germinativa, la semilla debe tener un porcentaje de germinación mayor al 90 %, los valores obtenidos están por debajo del nivel propuesto, esto puede ser debido a que no se utilizó semilla certificada, por lo que, se podría decir que las distintas concentraciones del bioinsecticida a los 30 días no afectan la

capacidad germinativa de las semillas, estos resultados concuerdan con Arias *et al.* (2017) que utilizando aceite esencial de *Schinus molle* L. no observaron disminución significativa en el poder germinativo de las semillas de maíz, al igual que, Aros *et al.* (2019) con aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. no encontraron disminución en el porcentaje de germinación, también González *et al.* (2016) empleando aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus nitens* no reportan diferencia significativa en la disminución de la capacidad germinativa, en el estudio realizado por Pizarro *et al.* (2014) encontraron que el aceite esencial de *Peumus boldus* no afectó la germinación de las semillas de maíz, por último, difieren con Costa *et al.* (2020), que empleando aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* -niaouli-, *Eucalyptus globulus* -eucalipto- y *Origanum vulgare* -orégano- obtuvieron diferencias significativas indicando que a mayores concentraciones de aceite esencial el porcentaje de germinación disminuye.

## 5 CAPÍTULO CINCO

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

De acuerdo a los resultados demostrados, el bioinsecticida puede ser empleado como método alternativo para el control de *Sitophilus zeamais* M., ya que ocasiona mortalidad, repelencia y no afecta la capacidad germinativa de las semillas de maíz.

Se identificó 99,91 % de la composición química del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L., en donde, los componentes principales fueron los monoterpenos alcanfor [37,85 %], canfeno [10,23 %], p-cimeno [8,11 %] y acetato de bornilo [5,63 %] que representan el 61,82 % del total de los componentes identificados.

Los componentes empleados en la formulación del bioinsecticida como el polisorbato 20, el agua miliq, así como la acetona empleada en los diferentes bioensayos no interfieren en el ciclo de vida de *Sitophilus zeamais* M., por lo que, los diferentes efectos sobre los insectos podrían ser atribuidos directamente a los diferentes componentes del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L., ocasionando mortalidad de 100 % con la concentración de 4 %.

El efecto repelente en las pruebas de libre elección del bioinsecticida a base de aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. produce repelencia alta, con índice de repelencia -IR- de 0,38 cuando se emplea la concentración de 2 %, este efecto podría estar relacionado con los terpenoides presente en el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. que actúan en sinergismo y antagonismo con los diferentes compuestos presentes en el aceite esencial, debiendo ser utilizados estos en conjunto y no alguno de sus componentes mayoritarios de forma individual.

La mortalidad ocasionada por el bioinsecticida es de 100 % empleada en concentraciones de 4 % y esta puede estar asociada al alcanfor presente en el aceite esencial de *T. parthenium* L., de manera general a mayor concentración utilizada de bioinsecticida el tiempo de mortalidad de los insectos disminuye y viceversa.

## 5.2 Recomendaciones

Realizar estudios para el control de *Sitophilus zeamais* M. con el aceite esencial o con el polvo vegetal de *Tanacetum parthenium* L. comparando con los resultados obtenidos en la presente investigación para establecer el método de empleo de la especie que de mejores resultados.

Efectuar el bioensayo de protección a los granos de maíz en un tiempo más prolongado o con concentraciones diferentes a las estudiadas, ya que a los 30 días no se observó una diferencia significativa entre las diferentes concentraciones empleadas.

Realizar el bioensayo de germinación con semilla certificada para obtener datos más exactos del efecto que tiene el bioinsecticida o el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. sobre la capacidad germinativa de las semillas de maíz.

Evaluar el efecto residual sobre los granos de maíz o con granos de ciclo de producción más corto para establecer posibles afecciones al ecosistema o salud humana.

Emplear el aceite esencial o el bioinsecticida a base de *Tanacetum parthenium* L. sobre otras plagas de maíz u otros granos almacenados para comprobar sus efectos tóxicos, repelentes, protección y germinación.

## REFERENCIAS

- Alvarado Barreno, W. (2017). *Evaluación de especies vegetales para el control de gorgojo (Sitophilus zeamais) en maíz almacenado, Coatepeque, Quetzaltenango* [Tesis de pregrado en agronomía, Universidad Rafael Landívar]. <https://bit.ly/2XBdSEK>
- Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario [AGROCALIDAD]. (2016). *Manual de Tratamientos Fitosanitarios*. <https://bit.ly/2JITVZF>
- Archuleta-Torres, A., García-Gutiérrez, C., Ruelas, R. D., Gaxiola-Castro, L. A. y López, M. A. (2012). Aislamiento de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con medio selectivo y pruebas de toxicidad contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*. *Entomologia*, 266-269. <https://bit.ly/2z5jE9z>
- Arias P, J., Silva A, G., Fischer G, S., Robles-Bermúdez, A., Rodríguez-Maciel, C. y Lagunes-Tejeda, A. (2017). Actividad insecticida, repelente y antialimentaria del polvo y aceite esencial de frutos de *Schinus molle* L. para el control de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 33(2), 93-104. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902017005000301>
- Aros, J., Silva-Aguayo, G., Fischer, S., Figueroa, I., Rodríguez-Maciel, J. C., Lagunes-Tejeda, A., Castañeda-Ramírez, G. S. y Aguilar-Marcelino, L. (2019). Actividad insecticida del aceite esencial del paico *Chenopodium ambrosioides* L. sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Agro-ciencia*, 35(3), 282-292. ISSN: 0719-3890 <https://bit.ly/2TOL62y>
- Babarinde, G. O., Babarinde, S. A., Ojediran, T. K., Odewole, A. F., Odetunde, D. A. y Bamido, T. S. (2019). Chemical composition and toxicity of *Jatropha curcas* seed oil against

- Sitophilus zeamais* Motschulsky as affected by pre-extraction treatment of seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101333>
- Bastida Hernández, L. (2016). *Evaluación de extractos vegetales como una alternativa de control para el picudo de maíz (Sitophilus zeamaisMotschulsky)* [Tesis de pregrado en agronomía, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO]. <https://bit.ly/2ScBal9>
- Benassi-Zanqueta, É., Ferandes Marques, C., Machado Valone, L., Pellegrini, B. L., Bauermeister, A., Piloto Ferreira, I. C., Lopes, N. P., Vataru Nakamura, C., Dias Filho, B. P., Marçal Natali, M. R. y Ueda-Nakamura, T. (2019). Evaluation of anti-HSV-1 activity and toxicity of hydroethanolic extract of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip. (Asteraceae). *Phytomedicine*, 55, 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.06.040>
- Boada, R. y Espinosa, J. (2016). Factores que limitan el potencial de rendimiento del maíz de polinización abierta en campos de pequeños productores de la Sierra de Ecuador. *Siembra*, 3(1), 67-82. <https://doi.org/10.29166/siembra.v3i1.262>
- Bravo Almeida, P. (2019). *"Determinación de la actividad insecticida, repelente y antialimentaria del aceite esencial del molle (Schinus molle) en trips (Frankliniella occidentalis)"* [Tesis de pregrado en Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://bit.ly/3kAfKZ5>
- Cerna Chávez, E., Guevara Acevedo, L., Landeros Flores, J., Badii Zabeth, M., Ochoa Fuentes, Y. y Olalde Portugal, V. (2010). Evaluación de aceites y extractos vegetales para el control

de *Sitophilus zeamais* y su efecto en la calidad de semilla de maíz. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 42(1), 135-145. <https://bit.ly/2APqq3H>

Costa-Becheleni, F., Del Toro-Sánchez, C., Wong-Corral, F., Robles-Burgueño, M., Cárdenas-López, J. y Borboa-Flores, J. (2020). Aceites esenciales para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) y efecto sobre la calidad del grano de maíz *Zea mays* Linnaeus (Poales: Poaceae). *Revista Chilena de Entomología*, 46(4), 639-652. ISSN: 0718-8994 <https://bit.ly/3bF6e43>

Domingues, V. C., Ribiero, L. P., Padoan Gonçalves, G. L, Forim, M. R, Fernandes da Silva, M. F., Fernandes, J. B. y Vendramim, J. D. (2020). Grain-protectant compounds from *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) derivatives: Bioassay-guided searching and toxicity against the maize weevil. *Journal of Stored Products Research*, 85, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101549>

Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua [ESPAC]. (2020). *ecuadorencifras*. <https://bit.ly/2RuSuBW>

Fuertes, C. M., Jurado, B., Gordillo, G. C., Negrón, L. P., Núñez, E., Melissa, E. y Távara, A. (2010). Estudio integral de plantas biocidas del algodonero. *Ciencia e investigación*, 13(1), 34-41. <https://doi.org/10.15381/ci.v13i1.3186>

Gómez, F. C., Ramírez, M. B. y Gaona, E. F. (2016). Efecto insecticida del polvo de *Chenopodium ambrosioides* L. y carbonato de calcio en el control de *Sitophilus zeamais* en granos de maíz. *Investigación Agraria*, 18(2), 116-120. ISSN: 2305-0683 <https://bit.ly/3f15kks>

- González-Guiñez, R., Silva-Aguayo, G., Urbina-Parra, A. y Gerding-González, M. (2016). Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill Y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (Myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Agro-ciencia*, 32(3), 204-216. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902016005000005>
- Granados-Echegoyen, C., Ortega-Morales, B. O., Chan-Bacab, M. J., Reyes Estébanez, M. M. y Camacho-Chab, J. C. (2016). Polvos de especies vegetales para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *ENTOMOLOGÍA AGRÍCOLA*, 3, 430-435. ISSN: 2448-475X <https://bit.ly/3c0mJF9>
- Helder Castillo, V. (2014). *Evaluación de cal viva y Beauveria bassiana para el manejo del gorgojo del maíz (Sitophilus zeamais Motschulsky) en condiciones de laboratorio* [Tesis de pregrado en Agroindustrial, Benemerita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://bit.ly/3bdQi9E>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC]. (2018). Cifras agroproductivas. <http://bit.ly/2ZC9Ts9>
- Jaramillo C, B., Duarte R, E. y Delgado, W. (2012). Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(1), 54-64. <https://bit.ly/3hKJf9m>
- Juárez-Flores, B. I., Jasso-Pineda, Y., Aguirre-Rivera, J. R. y Jasso-Pineda, I. (2010). Efecto de polvos de asteráceas sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch). *Polibotánica*, 30, 123-135. ISSN: 1405-2768 <https://bit.ly/2ZMO7UT>

- Kamanula, J. F., Belmain, S. R., Hall, D. R., Farman, D. I., Goyder, D. J., Mvumi, B. M., Masumbu, F. F. y Stevenson, P. C. (2017). Chemical variation and insecticidal activity of *Lippia javanica* (Burm. f.) Spreng essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Industrial Crops and Products*, 110, 75-85. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.036>
- López Luengo, M. T. (2004). Los aceites esenciales Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Offarm: Farmacia y sociedad*, 23(7), 88-91. <https://bit.ly/3ejDQDk>
- Loza, F. y Otermin, F. (2012). *Insectos plaga en almacenaje de maíz: especies, cambios poblacionales y variación de la calidad comercial de los granos* [Tesis de pregrado en Agronomía, U.N.L.Pam.]. <https://bit.ly/3d0Ybgw>
- Martínez Ch, J. A., D'Antonino Faroni, L. R. y Soto G, A. (2013). Porcentaje de pérdida de masa en granos y efecto tóxico del aceite esencial *Piper aduncum* en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)\*. *Boletín Científico MUSEO DE HISTORIA NATURAL*, 17(1), 81-90. ISSN: 0123-3068 <https://bit.ly/2BdLCAz>
- Martínez-Evaristo, X. C., Borboa-Flores, J., Wong-Corral, F. J., Cinco-Moroyoqui, F. J., Del-Toro-Sánchez, C. L., González-de León, A., Ortega-Nieblas, M. M, Cornejo-Ramirez, Y. I., Osuna-Amarillas, P. S. y Cabral-Torres, F. A. (2015). Insecticidal efficacy and repellency of oregano (*Lippia palmeri*) essential oil for control of *Sitophilus zeamais* and *Prostephanus truncatus* in stored maize. *Southwestern Entomologist*, 40(4), 713-720. <http://dx.doi.org/10.3958/059.040.0410>

- Mayorga, V., Villacrés, E. y Paredes, M. (2013). Estudio de las propiedades reológicas y funcionales del maíz nativo racimo de uva (*Zea mays*. L). *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 21(1). 5-9. <http://bit.ly/35phGLk>
- Méndez Barceló, A. (2016). *Percepción de los productores de maíz (Zea mays, Lin.) sobre sus plagas claves. Principales aspectos agroecológicos en áreas agrícolas de Venezuela*. La Habana: Editorial Universitaria. <https://bit.ly/2QwifkS>
- Mendoza González, V. (2015). *Caracterización del crecimiento y la producción de metabolitos secundarios con potencial actividad contra el cáncer en cultivos in vitro de Tanacetum parthenium* [Tesis de pregrado en Biología, Universidad Autónoma del Estado de México]. <https://bit.ly/3d7nI7I>
- Mendoza Alvarado, F. S. (2016). *Formulación bioinsecticida apartir del aceite esencial de Ambrosia arborescens mill (altamisa) de aplicación canina* [Tesis de pregrado en Química, Universidad de Cuenca]. <https://bit.ly/3eJA8Do>
- Mindiola Salazar, A. J. (2019). *Proceso de elaboración del bioinsecticida botánico “Apichi” mediante la utilización de extractos vegetales con propiedades plaguicidas* [Tesis de pregrado en Agronomía, Universidad Técnica de Babahoyo]. <https://bit.ly/2M2p08c>
- Miranda Monar, H. P. (2016). *“Validación de tecnología de cinco insecticidas químicos y orgánicos en el control del gusano cogollero (Spodoptera frugiperda) del cultivo de maíz (Zea mays L.)”* [Tesis de pregrado en Agropecuaria, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. <https://bit.ly/3f3xziE>

- Mohsenzadeh, F., Chehregani, A. y Amiri, H. (2011). Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages. *Pharmaceutical Biology*, 49(9), 920-926.  
<https://doi.org/10.3109/13880209.2011.556650>
- Monteiro Dos Santos, P. É., Bezerra Da Silva, A., de Magalhaes Lira, C. R., Cysneiros Matos, C. H. y Ferreira De Oliveira, C. R. (2019). Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioidorus* baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Caatinga*, 32(2), 329-335.  
<https://dx.doi.org/10.1590/1983-21252019v32n205rc>
- Morales, H., Ramírez, P., Liere, H., Rodas, S. y López, J. C. (2010). Revalorando viejas prácticas mayas de manejo de plagas del maíz almacenado para la agricultura del futuro. *Agroecología*, 5, 63-71. <http://bit.ly/34UcTCb>
- Morales Velasco, M. J. (2019). “*Evaluación de la actividad insecticida de aceites esenciales de menta (Mentha pulegium) y eucalipto (Eucalyptus melliodora) para el control del gorgojo de maíz (Sitophilus zeamais)*” [Tesis de pregrado en Agronomía, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. <https://bit.ly/3yo42HY>
- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R. y Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3), 17-29. ISSN: 1665-0441 <https://bit.ly/2X2usOQ>
- Nwachukwu, I. D. y Asawalam, E. F. (2014). Evaluation of freshly prepared juice from garlic (*Allium sativum* L.) as a biopesticide against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*

- (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). *PLANT PROTECTION RESEARCH*, 54(2), 132-138. <https://dx.doi.org/10.2478/jppr-2014-002>
- Oliveira, A. P., Santana, A. S., Santana, E. D., Lima, A. P., Faro, R. R., Nunes, R. S., Lima, A. D., Blank, A. F., Araújo, A. P., Cristaldo, P. F. y Bacci, L. (2017). Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 107, 198-205. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.046>
- Omidbaigi, R., Kabudani, M. y Tabibzadeh, Z. (2013). Effect of drying methods on the essential oil content and composition of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip cv. Zardband. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(1), 26-30. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2007.10643514>
- Ortiz, C., Silva, G., Moya, E., Fischer, S., Urbina, A. y Rodríguez, J. C. (2017). Variación estacional de la repelencia de los aceites esenciales de monimiaceae sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Curculionidae). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 33(3), 221-230. ISSN: 0719-3890 <https://bit.ly/3cBAuKC>
- Ovares, J. (2016). *Determinación de los rendimientos y caracterización de aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación a partir de Lippia alba y Rosmarinus officinalis* [Tesis de maestría en Química, Universidad de Costa Rica]. <https://bit.ly/3hUnIeL>
- Padilla Álvarez, O. E. (2015). *Metodologías de tratamiento del gorgojo Sitophilus zeamais en maíz almacenado, como un aporte al manejo agroecológico de plagas*. [Tesis de maestría en Agroecología, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://bit.ly/3dzI6in>

- Pareek, A., Suthar, M., Rathore, G. y Bansal, V. (2011). Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 103-110. <https://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.79105>
- Patiño Restrepo, Á. D. (2019). *Control de insectos de granos almacenados mediante volátiles provenientes de bacterias marinas del caribe colombiano*. [Tesis de maestría en Química, Universidad Nacional de Colombia]. <https://bit.ly/3fv6cwD>
- Pavela, R., Sajfrtová, M., Sovová, H., Bárnet, M. y Karban, J. (2010). The insecticidal activity of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. extracts obtained by supercritical fluid extraction and hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 449-454. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.01.003>
- Peña Pérez, M., Pérez Zaldívar, J. C. y Serrano Oduardo, D. (2019). Manejo integrado de plagas de almacén en Jesús Menéndez. *Ojeando la agenda*, 3(60), 29-43. <https://bit.ly/2XxI44H>
- Peñaherrera, D. (Ed.). (2011). *Manejo integrado del cultivo de maíz de altura*. Activa Diseño Editorial. <https://bit.ly/2QzjuQv>
- Pizarro D, D., Silva A, G., Tapia V, M., Rodríguez M, J. C., Urbina P, A., Figueroa C, I., Lagunes T, A., Santillán-Ortega, C., Robles-Bermúdez, A., Aguilar-Medel, S. y Tucuch-Hass, I. (2014). Aceite esencial de follaje de *Peumus boldus* Molina colectado en otoño para el control de gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *CONACYT*, 30(3), 171-180. ISSN: 0719-3890 <https://bit.ly/376wwIT>
- Repetto, M. y Sanz, P. (1995). *Glosario de terminos usados en toxicología Recomendaciones de IUPAC-1993*. AET. <https://bit.ly/2SYS9rz>

- Rodriguez, A. M. (2017). *Compuestos fenólicos como bioplaguicidas de Sitophilus zeamais (Motschulsky)* [Tesina de pregrado de Biólogo, Universidad Nacional de Córdoba].  
<https://bit.ly/2XbtjUZ>
- Rodríguez, S. M. (2015). *Evaluación del efecto insecticida de Picrasma crenata (Vell.) Engl.-Simaroubaceae- sobre coleópteros plaga de los granos almacenados* [Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. <https://bit.ly/3gHfmGm>
- Salgado D, N., D'Antonino Faroni, L. R. y Soto G, A. (2012). *Aceite esencial de Piper crassinervum para el control de Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)*. *Boletín Científico Museo de Historia Natural*, 16(1), 99-107. ISSN: 0123-3068  
<https://bit.ly/3ewbJ3Q>
- Salvadores U, Y., Silva A, G., Tapia V, M. y Hepp G, R. (2007). Polvos de especias aromáticas para el control del gorgojo del maiz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en trigo almacenado. *Agricultura Técnica*, 2, 147-152. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072007000200004>
- Shafaghat, A., Ghorban-Dadras, O., Mohammadhosseini, M., Akhavan, M., Shafaghatlonbar, M. y Panahi, A. (2017). A comparative study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. Bip. and *Tanacetum punctatum* (Desr.) Grierson. leaves from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 1143-1150. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2017.1383859>
- Sharopov, F. S., Setzer, W. N., Isupov, S. J. y Wink, M. (2015). Composition and bioactivity of the essential oil of *Tanacetum parthenium* from a wild population growing in Tajikistan.

*American Journal of Essential and Natural Products*, 2(4), 32-34. ISSN: 2321-9114  
<https://bit.ly/2LDKyeE>

Silveira de Almeida, L. M., Aleixo de Carvalho, L. S., Coutinho Gazolla, M., Silva Pinto, P. L., Nascimento da Silva, M. P., De Moraes, J. y Da Silva Filho, A. A. (2016). Flavonoids and sesquiterpene lactones from *Artemisia absinthium* and *Tanacetum parthenium* against *Schistosoma mansoni* Worms. *Hindawi*, 1-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9521349>

Souza, A. H., Faroni, L. R., Pimentel, M. A., Silva, G. N. y Guedes, R. N. (2016). Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations under selection pressure from ozone. *Journal of Stored Products Research*, 65, 1-5.  
<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2015.11.001>

Tapia Zurita, O. G. (2013). *Control orgánico del gorgojo del maíz (Sitophilus zeamais), en semillas almacenadas de chulpi (Zea mays var rugosa) con ajeno "santa maría" (Parthenium hysterophorus) y romero (Rosmarinus officinalis)* [Tesis de pregrado en Agropecuaria, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://bit.ly/3evqpk4>

Triviño Veintimilla, A. B. y Villena Izurieta, N. P. (2019). La industria del maíz y su incidencia en la matriz productiva del Ecuador en el período 2013-2017. *Espacios*, 40(14), 2-14. ISSN: 0798-1015 <https://bit.ly/3iweTGV>

Vaca Chiriguayo, A. F. (2019). *Evaluación del efecto del Ozono (O3) en el control del gorgojo (Sitophilus zeamais) en granos almacenados* [Tesis de pregrado en Agropecuaria, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. <https://bit.ly/2ZT9jZn>

- Végh, K., Riethmüller, E., Tóth, A., Alberti, Á., Béni, S., Balla, J. y Kéry, Á. (2016). Convergence chromatographic determination of camphor in the essential oil of *Tanacetum parthenium* L. *Biomedical Chromatography*, 30(12), 1-21. <https://doi.org/10.1002/bmc.3781>
- Yáñez G, C., Velasquez, J., Peñaherrera, D., Zambrano, J. L., Caicedo, M., Heredia, J., Sangoquiza, C. y Quimbita, A. (2010). *Guía de producción de maíz de altura: Vol. 96. El cultivo de maíz de altura*. <https://bit.ly/2AIZkRf>
- Zurita Vásquez, H., Valle Velástegui, L., Vásquez, C., Curay Quispe, S., Buenaño Sánchez, M. y Guevara Freire, D. (2017). Eficiencia del uso de plantas insecticidas en el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, (Coleoptera: Curculionidae). *Investigación agraria*, 19(2), 120-126. <https://bit.ly/36CtqfE>

## ANEXOS

### Anexo A. Selección, limpieza y secado de *Tanacetum parthenium* L.



Material vegetal sometido a eliminación de partes sucias, con daños de insectos y trozada en partes más pequeñas para ser empleada en la destilación por arrastre de vapor.

**Anexo B.** Equipo de la Universidad Politécnica Salesiana para la destilación por arrastre de vapor de vapor.



Equipo para destilación de arrastre de vapor con capacidad de destilar 2 kg en un tiempo de 2 horas.

**Anexo C. Maíz infestado con *Sitophilus zeamais* M.**



Cámara de crianza con maíz infestado por *Sitophilus zeamais* M. de donde se obtuvo los insectos para los diferentes bioensayos.

#### Anexo D. Pruebas preliminares



Pruebas preliminares realizadas por separado con los diferentes componentes del bioinsecticida por contacto con grano tratado para asegurar que el aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. ocasione el efecto de toxicidad sobre los insectos de *Sitophilus zeamais* M.

**Anexo E. Bioensayo de repelencia**

Bioensayo de repelencia por libre elección en donde se liberó 20 insectos sin sexar de *Sitophilus zeamais* M. en el vaso central conectado 4 vasos con las concentraciones a evaluar colocadas opuestas diagonalmente.

**Anexo F. Bioensayo de toxicidad**

Bioensayo realizado para determinar la toxicidad por contacto con grano tratado con las diferentes concentraciones en donde se liberaron 10 insectos sin sexar de *Sitophilus zeamais* M.

**Anexo G.** Bioensayo de protección

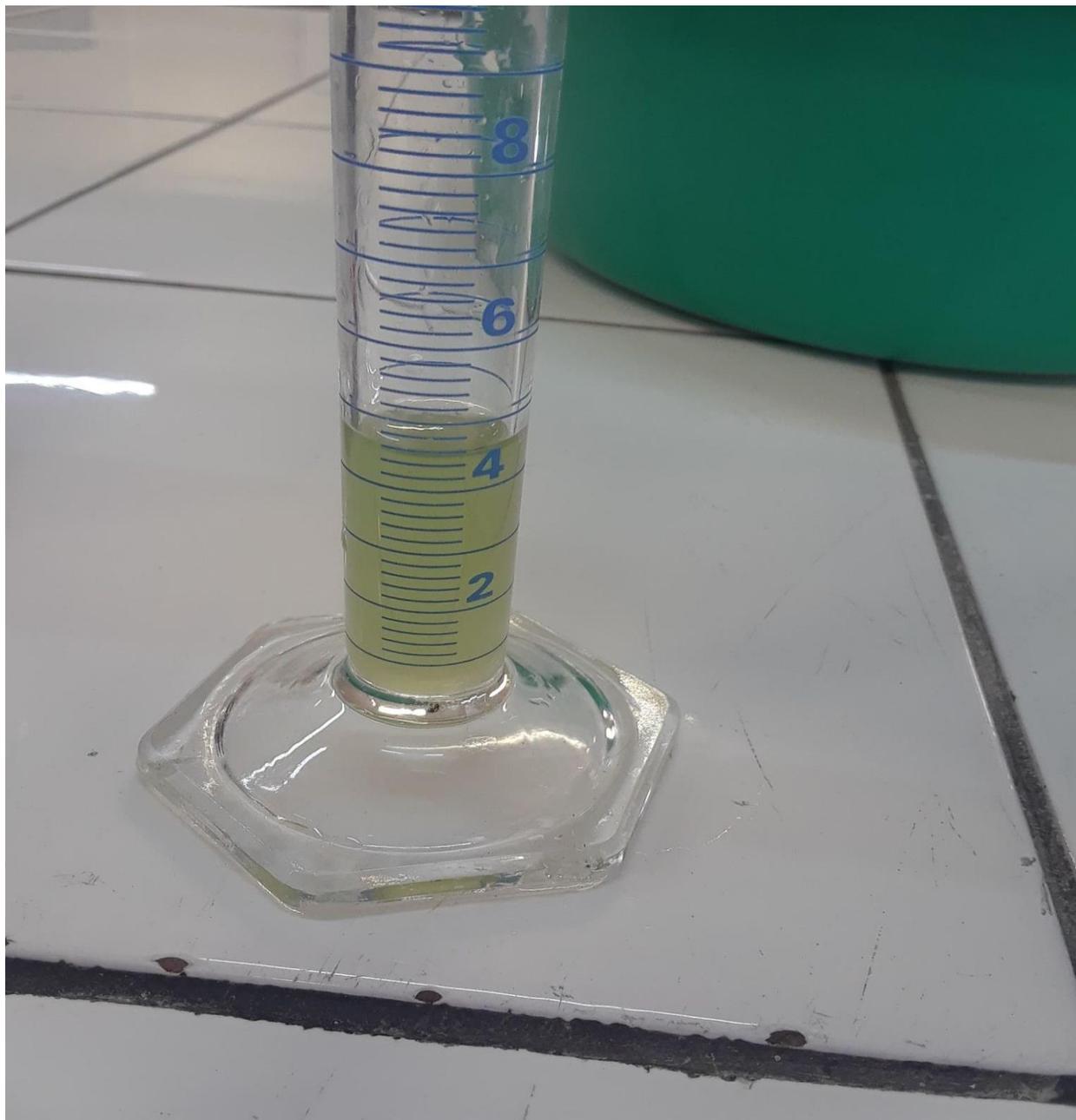
Bioensayo de protección a los granos de maíz ofrecida por el bioinsecticida, comparando el peso inicial con el peso final de los granos.

## Anexo H. Bioensayo de germinación



Bioensayo de capacidad germinativa de las semillas de maíz tratadas con las diferentes concentraciones de bioinsecticida a los 30 días de aplicación, se seleccionó 10 semillas aparentemente no afectadas por *Sitophilus zeamais* M., y se determinó el porcentaje de germinación después de 7 días de colocarlas en el medio de germinación.

**Anexo I.** Aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. obtenido por arrastre de vapor.



Aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L. obtenido por arrastre de vapor, con el que se realizó las pruebas preliminares y el bioinsecticida.

## Anexo J. Componentes del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* L.

 <b>UEB</b> UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR	<b>DIRECCIÓN DE          INVESTIGACIÓN          Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE          INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda,          Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	<b>Código</b> FPG12-01
		<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	<b>Versión</b> 1
			<b>Año</b> 2021
			<b>Página</b> Página 1 de 3

### INFORME DE ENSAYOS N° 008-2021

Descripción de la muestra	
<b>Solicitantes</b>	Leonardo Espinoza
<b>Muestra</b>	Aceite de Santa María <i>Tanacetum parthenium</i> L.
<b>Código asignado UEB</b>	INV29
<b>Estado de la muestra</b>	Líquida
<b>Envase de recepción</b>	Frasco color ámbar. 2 mL aprox con contenido de muestra
<b>Análisis requerido(s)</b>	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
<b>Fecha de recepción</b>	09 de marzo de 2021
<b>Fecha de análisis</b>	16 de marzo de 2021
<b>Fecha de informe</b>	19 de marzo de 2021
<b>Técnico asignado</b>	ECCR
RESULTADOS OBTENIDOS	
Identificación de compuestos volátiles en aceite de Santa María <i>Tanacetum parthenium</i> L., por cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC/MSD). Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)	

 <b>UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR</b>	<b>DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		<b>Código</b>	FPG12-01
		<b>INFORME DE RESULTADOS</b>		<b>Versión</b>	1
				<b>Año</b>	2021
				<b>Página</b>	Página 2 de 3

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	1,3-Cyclopentadiene, 5,5-dimethyl- 2-ethyl-	5,717	3,51
2	1,3-Cyclopentadiene, 5-(1,1-dimethylethyl)-	6,055	0,27
3	Tricyclene	9,140	0,65
4	$\alpha$ -Thujene	9,470	0,75
5	$\alpha$ -Pinene	9,768	3,04
6	Camphene	10,551	10,19
7	Thuja-2,4(10)-diene	10,781	0,28
8	$\beta$ -Sabinene	11,850	0,82
9	(-)-beta-Pinene	11,936	0,31
10	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	12,972	1,48
11	Mesitylene	14,618	0,79
12	p-Cymene	14,923	8,11
13	D-Limonene	15,093	1,30
14	.gamma.-Terpinene	16,969	0,41
15	Linalool	20,172	0,70
16	Chrysanthenone	21,293	4,00
17	(+)-Camphor	22,861	37,84
18	endo-Borneol	23,971	0,73
19	Terpinen-4-ol	24,773	0,77
20	Verbenone	26,792	0,34
21	trans-Crysanthenyl acetate	28,740	2,15
22	cis-Crysanthenyl acetate	30,395	0,67
23	Bomyl acetate	32,001	5,63
24	trans-Verbenyl acetate	32,701	1,18
25	1,3-Cyclohexadiene-11 carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	33,511	0,29
26	Myrtenyl acetate	34,555	0,59
27	Cyclohexane, 5-methyl-3-(1-methylethenyl)-, trans-(-)-	36,906	0,27
28	Cyclopentane, 1-acetoxymethyl-3-isopropenyl-2-methy-	37,293	0,92

 <b>UNIVERSIDAD</b> <small>ESTATAL DE BOLÍVAR</small>	<b>DIRECCIÓN DE</b> <b>INVESTIGACIÓN</b> <b>Y VINCULACIÓN</b>	<b>LABORATORIOS DE</b> <b>INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN</b> <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda,          Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		<b>Código</b>	<b>FPG12-01</b>
		<b>INFORME DE RESULTADOS</b>		<b>Versión</b>	<b>1</b>
				<b>Año</b>	<b>2021</b>
				<b>Página</b>	<b>Página 3 de 3</b>

29	Butanoic acid, 3-methyl-, phenylmethyl ester	38,977	0,66
30	Car-3-en-5-one	39,117	0,40
31	Caryophyllene	40,133	0,76
32	cis-.beta.-Famesene	42,879	0,92
33	Bornyl isovalerate	46,227	0,83
34	(1R,4S)-1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-yl (E)-2-methylbut-2-enoate	48,897	3,28
35	Verbenyl angelate, cis-	49,084	0,39
36	Caryophyllene oxide	49,851	1,60
37	(+)-Intermedeol	54,044	0,98
38	.alpha.-Campholenal	59,657	0,94
39	cis-ene-yne-Dicycloether	65,683	0,60
40	cis-ene-yne-Dicycloether	66,530	0,66



Firmado electrónicamente por:  
**EDGAR MARCELO**  
**VILCACUNDO**  
**CHAMORRO**

Ing. Marcelo Vilcacundo Ch.  
**Director DIVIUEB**

**Anexo K.** Insectos adultos generación F1 para utilizar en los bioensayos



Selección de insectos para los diferentes bioensayos realizados.

**Anexo L.** Datos obtenidos de las pruebas preliminares

Tratamientos	N	Toxicidad [%]	Desv. Error
Acetona	4	5 <sup>a</sup>	,288
Polisorbato 20	4	5 <sup>a</sup>	,500
Agua miliq	4	5 <sup>a</sup>	,288
0,5 %	4	40 <sup>b</sup>	1,08
1 %	4	52,5 <sup>bc</sup>	,853
1,5 %	4	67,5 <sup>bc</sup>	,853
2 %	4	77,5 <sup>cd</sup>	,853
4 %	4	100 <sup>d</sup>	,000
Total	32	44	,653

Tratamientos con igual letra, en la columna toxicidad no difieren estadísticamente por la prueba de Tukey [ $\alpha = 0,05$ ]. Des. Error = Desviación estándar

**Anexo M.** Bioinsecticida realizado empleando el aceite esencial de *Tanacetum parthenium*

L.



**Anexo N. Datos obtenidos en el bioensayo de repelencia**

Tratamientos	Índice de repelencia corregido	Significado
0,5 %	,60	Repelencia moderada
1 %	,50	Repelencia alta
1,5 %	,44	Repelencia alta
2 %	,38	Repelencia alta
Total	,48	

Bioensayo de repelencia con el índice de repelencia corregido en cada tratamiento aplicado a las 24 horas.

**Anexo O.** Porcentaje de mortalidad ocasionada con las diferentes concentraciones y en los diferentes días evaluados

Tratamientos	Porcentaje de mortalidad $\pm$ DE				
	24 horas	48 horas	72 horas	15 días	30 días
Testigo	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$7,50 \pm 4,7^a$	$15 \pm 6,4^{ab}$
0,5 %	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$20 \pm 10,8^b$	$51,35 \pm 20,9^c$	$52,95 \pm 18,6^c$
1 %	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$20 \pm 9,1^b$	$56,76 \pm 10,8^c$	$58,83 \pm 10,2^c$
1,5 %	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$27,50 \pm 10,3^b$	$75,68 \pm 14,2^d$	$82,36 \pm 10,2^d$
2 %	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	$37,50 \pm 6,2^{bc}$	$83,79 \pm 9,4^d$	$91,18 \pm 5,6^{dc}$
4 %	$0 \pm 0^a$	$40 \pm 4^c$	$100 \pm 0^e$	$100 \pm 0^e$	$100 \pm 0^e$
$CL_{50}$	-	-	2,3 %	1,6 %	1,5 %
$CL_{90}$	-	-	2,8 %	2,6 %	2,2 %

Tratamientos con igual letra en la columna no difieren estadísticamente por la prueba de Tukey [ $\alpha = 0,05$ ]. DE = desviación estándar.  $CL_{50}$  = concentración letal media,  $CL_{90}$  = concentración letal 90 %. Con un intervalo de confianza del 95 %.

**Anexo P.** Mortalidad ocasionada sobre *Sitophilus zeamais* M.



Toxicidad ocasionada sobre insectos de *Sitophilus zeamais* M. por el bioinsecticida.

**Anexo Q.** Promedios de pérdida de peso [%] de granos evaluados en el bioensayo de protección con el bioinsecticida.

Tratamientos	% pérdida de peso $\pm$ DE [Mín-Máx]
Testigo	3,99 $\pm$ 1,21 [1,38-6,67]
0,5 %	3,47 $\pm$ 1,07 [1,23-6,24]
1 %	2,64 $\pm$ 0,79 [1,27-4,17]
1,5 %	2,28 $\pm$ 0,79 [0,10-3,85]
2 %	1,67 $\pm$ 0,93 [0,10-3,80]
4 %	0,99 $\pm$ 0,58 [0,10-2,56]
Total	2,50 $\pm$ 0,39 [0,10-6,67]
Shapiro-Wilk	0,924
Sig.	0,071
$\omega$	0,916
Sig.	0,05

DE = Desviación estándar. Shapiro-Wilk = Prueba para determinar la distribución normal de los datos. Sig. = Significancia.  $\omega$  = Distribución del estadístico de Shapiro-Wilk [ $\omega$ ] para el contraste de normalidad. Los datos tienen distribución normal. Fuente: Autor.

**Anexo R.** Resultados de las pruebas aplicadas al bioensayo de porcentaje germinación de maíz

Prueba de Shapiro-Wilk – Prueba de Kruskal-Wallis	
Shapiro-Wilk	0,816
Sig.	0,001
$\omega$	0,916
Sig.	0,05
Prueba de Kruskal-Wallis	
N total	24
Estadístico de contraste	0,984
Grados de libertad	5
Sig. Asintótica -prueba bilateral-	0,964

Los datos no siguen una distribución normal. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates. 2. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global de Kruskal-Wallis no muestra diferencias significativas en las muestras.