



**Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de azufre con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc).**

Araujo Yépez, Lany Sophia

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Dr. Aguirre Yela, Vladimir Alexander Ph.D.

18 de febrero del 2021



### Document Information

Analyzed document      TRABAJO DE TITULACIÓN\_LANY\_SOPHIA\_ARAUJO\_YÉPEZ.docx (D94763913)  
Submitted                2/5/2021 7:19:00 PM  
Submitted by  
Submitter email        Isaraujo@espe.edu.ec  
Similarity               0%  
Analysis address       vaaguirre.espe@analysis.orkund.com

### Sources included in the report

**W** URL: [http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3397/Diaz%20Arcos%20-%20Marti ...](http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3397/Diaz%20Arcos%20-%20Marti...)  1  
Fetched: 1/7/2021 5:54:37 AM

Firma:

**Dr. Aguirre Yela, Vladimir Alexander, Ph.D.**

C.C. 1710378413



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

### **Certificación**

Certifico que el trabajo de titulación, **“Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de azufre con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y romero (*rosmarinus officinalis*) para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc).”** fue realizado por la señorita **Araujo Yépez, Lany Sophia** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad, por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 23 de marzo del 2021

Firma:

**Dr. Aguirre Yela, Vladimir Alexander, Ph.D.**

C.C. 1710378413



**Departamento de Ciencias De La Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Responsabilidad de autoría**

Yo, **Araujo Yépez, Lany Sophia**, con cédula de ciudadanía N° 1719949404, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de azufre con principios activos de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc).”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 23 de marzo del 2021

Firma:

**Araujo Yépez, Lany Sophia**

C.C. 1719949404



**Memorando Nro. ESPE-VDC-2021-0745-M**

**Sangolquí, 18 de marzo de 2021**

**PARA:** Capt. Edison Ramiro Narváez Jima  
**Director de la Biblioteca - Encargado**

**ASUNTO:** Solicitud de no publicación de trabajo de titulación en Repositorio Institucional

De mi consideración:

En referencia a oficio s/n de 15 de marzo de 2021, mediante el cual la señorita Lany Sophia Araujo Yépez, estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología solicita la no publicación por un periodo de un año del trabajo de titulación "*Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de azufre con principios activos de Eucalipto (Eucalyptus globulus) y Romero (Rosmarinus officinalis) para el control de paratuberculosis (Bactericera cockerelli Sulc)*", debido a que se encuentra en proceso de patente, agradeceré señor Capitán, se sirva disponer a quien corresponda el trámite correspondiente, considerando lo dispuesto mediante memorando no. ESPE-VAG-2018-0837-M.

Se adjunta solicitud de la mencionada estudiante para los fines pertinentes.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

*Documento firmado electrónicamente*

Tern. Enrique Abel Morales Moncayo  
**VICERRECTOR DE DOCENCIA**

Anexos:

- SOLICITUD NO PUBLICACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN ARAUJO SOPHIA.pdf

Copia:

Leda. Lourdes Karina Ponce Loaiza, Mgs.  
**Directora de la Carrera de Biotecnología**

Ing. Vladimir Alexander Aguirre Yela, Dr.  
**Docente Tiempo Completo**

ANGIE FERNÁNDEZ LORENZO, PHD.

**Dedicatoria**

A Dios y al Maestro,

por su amor incondicional.

A mis padres Gustavo y Margarita,

por su guía, y su confianza en mí.

A mi hermano Adrián,

por su apoyo y su ejemplo de lucha.

A mi novio Fernando,

por permitirme aprender más de la vida a su lado.

Esto es posible gracias a ustedes.

*Lany Sophia Araujo Yépez*

## **Agradecimientos**

A Dios y al Maestro que han sido mi guía en el sendero del amor.

A mis padres, por su amor, sus consejos, su apoyo y comprensión, por formarme en valores y creer en mí.

A mi hermano que ha sido mi amigo, mi cómplice y mi ejemplo de superación.

A mi novio, por su amor y apoyo en mi carrea desde el inicio, hemos crecido y aprendido juntos.

A mis profesores, que han contribuido en mi formación académica y en mi vida profesional.

A mis amigos por haber compartido conmigo toda esta experiencia dentro y fuera de la universidad.

*Lany Sophia Araujo Yépez*

## Índice de contenidos

Carátula .....	1
Hoja de resultados de la herramienta Urkund .....	2
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Índice de contenidos .....	8
Índice de tablas.....	11
Listado de abreviaturas.....	14
Resumen .....	15
Abstract.....	16
Capítulo 1 .....	17
Introducción .....	17
Formulación del problema.....	17
Justificación del problema.....	18
Objetivos de la investigación.....	20
<i>Objetivo general</i> .....	20
<i>Objetivos específicos</i> .....	20
Capítulo 2 .....	22
Marco Teórico .....	22
Generalidades de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	22
Clasificación Taxonómica de la papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	22



Plagas que afectan al cultivo de papa.....	25
Paratrioza ( <i>B. cockerelli</i> Sulc).....	25
Aceites esenciales .....	29
<i>Aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus globulus)</i> .....	29
<i>Aceite esencial de Romero (Rosmarinus officinalis)</i> .....	32
Nanopartículas de azufre.....	34
Nanocompositos .....	35
Hipótesis.....	35
Capítulo 3 .....	36
Metodología .....	36
Participantes .....	36
Zona de Estudio.....	37
Duración de la investigación .....	38
Metodología .....	38
Extracción de aceites esenciales.....	38
Síntesis de nanopartículas de azufre.....	39
Síntesis de nanocompositos.....	39
Caracterización de nanopartículas de azufre y nanocompositos .....	40
Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos.....	40
Diseño Experimental.....	42
Capítulo 4 .....	46

	10
Resultados.....	46
Extracción de aceites esenciales .....	46
Síntesis de nanopartículas de azufre .....	47
Síntesis de nanocompositos .....	50
Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos. ....	59
Capítulo 5 .....	63
Discusión .....	63
Extracción de aceites esenciales .....	63
Síntesis de nanopartículas de azufre .....	63
Síntesis de nanocompositos .....	64
Estabilidad de los nanocompositos .....	66
Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos. ....	67
Capítulo 6 .....	69
Conclusiones .....	69
Capítulo 7 .....	71
Recomendaciones .....	71
Capítulo 8 .....	72
Bibliografía .....	72
Capítulo 9 .....	81
Anexos.....	81

### Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de <i>Solanum tuberosum</i> L.....	22
<b>Tabla 2.</b> Clasificación Taxonómica de <i>Bactericella cockerelli</i> Sulc. ....	25
<b>Tabla 3.</b> Clasificación Taxonómica de <i>Eucaliptus globulus</i> .....	31
<b>Tabla 4.</b> Clasificación taxonómica de <i>Rosmarinus officinalis</i> . ....	33
<b>Tabla 5.</b> Tratamientos para la evaluación del efecto insecticida .....	43
<b>Tabla 6.</b> Esquema del análisis de varianza, para la evaluación del efecto insecticida de nanocompositos para el control de paratrioza.....	44
<b>Tabla 7.</b> Propiedades de los aceites esenciales de eucalipto y romero .....	46
<b>Tabla 8.</b> Propiedades de las nanopartículas de azufre sintetizadas .....	49
<b>Tabla 9.</b> Propiedades de las nanocompositos de eucalipto y romero .....	52
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza para para los tratamientos y el tiempo sobre la eficacia insecticida para el control de ninfas de paratrioza.....	61
<b>Tabla 11.</b> Promedio $\pm$ error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratrioza a las 24 horas .....	61
<b>Tabla 12.</b> Promedio $\pm$ error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratrioza a las 48 horas.....	62
<b>Tabla 13.</b> Promedio $\pm$ error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratrioza a las 72 horas.....	62

## Índice figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Morfología de Solanum tuberosum L.</i> .....	23
<b>Figura 2.</b> <i>Ciclo de vida de Bactericera cockerelli Sulc.</i> .....	27
<b>Figura 3.</b> Síntomas de Punta Morada en plantas de papa. ....	28
<b>Figura 4.</b> Papas fritas de un tubérculo sano vs un tubérculo infectado.....	29
<b>Figura 5.</b> Morfología de <i>Eucaliptus globulus</i> .....	30
<b>Figura 6.</b> Morfología de <i>Rosmarinus Officinalis</i> .....	32
<b>Figura 7.</b> Esquema del diseño experimental DCA, tratamientos y réplicas.....	43
<b>Figura 8.</b> Extracción de aceites esenciales mediante arrastre por vapor.....	46
<b>Figura 9.</b> Espectro de absorción UV-Vis de SNPs sintetizadas.....	47
<b>Figura 10.</b> <i>Espectroscopia dispersiva de energía (EDS).</i> .....	48
<b>Figura 11.</b> Nanopartículas de azufre observadas en TEM.....	49
<b>Figura 12.</b> Distribución del tamaño de nanopartículas de azufre sintetizadas .....	49
<b>Figura 13.</b> Espectro de absorción UV-Vis de nanocompositos de eucalipto a diferentes concentraciones. ....	50
<b>Figura 14.</b> Espectro de absorción UV-Vis de nanocompositos de Romero a diferentes concentraciones. ....	51
<b>Figura 15.</b> Nanocompositos de eucalipto observados con STEM .....	51
<b>Figura 16.</b> Nanocompositos de romero observados con STEM .....	52
<b>Figura 17.</b> <i>Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0.25%</i> .....	53
<b>Figura 18.</b> <i>Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0.5%</i> .....	53
<b>Figura 19.</b> <i>Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0.75%</i> .....	54
<b>Figura 20.</b> Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,25% .....	54
<b>Figura 21.</b> Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,5% .....	55

<b>Figura 22.</b> Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,75% .....	55
<b>Figura 23.</b> Análisis de estabilidad de los nanocompositos de eucalipto a diferentes concentraciones. ....	57
<b>Figura 24.</b> Análisis de estabilidad de los nanocompositos de romero a diferentes concentraciones. ....	58
<b>Figura 25.</b> Ninfas de paratrioza vivas .....	59
<b>Figura 26.</b> Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de eucalipto.....	60
<b>Figura 27.</b> Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de romero.....	60
<b>Figura 28.</b> Evaluación del efecto insecticida de Actara GW25 .....	60
<b>Figura 29.</b> Evaluación del efecto insecticida del testigo absoluto .....	60

**Listado de abreviaturas**

<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>NCs</b>	Nanocompositos
<b>PMP</b>	Punta Morada de la Papa
<b>%</b>	Porcentaje
<b>mL</b>	Mililitros
<b>g</b>	Gramos
<b>mg</b>	Miligramos
<b>m.s.n.m.</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>m</b>	Metros
<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>mm</b>	Milímetros
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>TEM</b>	Microscopio Electrónico de transmisión
<b>SEM</b>	Microscopio Electrónico de barrido
<b>CENCINAT</b>	Centro de Investigación de Nanociencia y Nanotecnología
<b>l</b>	Litro
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>M</b>	Molar
<b>ha</b>	Hectarea
<b>t</b>	Toneladas

## Resumen

El exceso en el uso de insecticidas sintéticos de alta toxicidad, lenta degradación y bioacumulación ha provocado daños en el ser humano, y el medio ambiente. Por ello existe la necesidad de aplicar nuevas alternativas a los pesticidas químicos. La nanotecnología ha mostrado un potencial prometedor para promover la agricultura sostenible. Los nanoplaguicidas mejoran la eficacia insecticida, por su mayor área de superficie y especificidad, proporcionando un mayor contacto de la sustancia activa con el insecto. La presente investigación propone la síntesis de nanocompositos formados por nanopartículas de azufre elemental, y aceites esenciales de eucalipto y romero para el control de ninfas del insecto paratiroza en cultivos de papa. Para la síntesis de los nanocompositos se redujo una solución de tiosulfato en azufre cero, y se revistió con aceite esencial de eucalipto y romero a tres concentraciones: 0.25, 0.5 y 0.75%. Los nanocompositos se caracterizaron por espectroscopia UV-VIS, microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de Barrido. Se evaluó la eficacia insecticida de los nanocompositos de azufre, en ninfas del insecto a las 24, 48 y 72 horas. Se comparó la eficacia versus un insecticida químico comercial (40% Tiametoxam) y el testigo absoluto. Todos los tratamientos con nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones, presentaron una mayor eficacia insecticida que el químico de uso comercial.

Palabras clave:

- **NANOCOMPOSITOS**
- ***BACTERICELLA COCKERELLI* SULC**
- **NANOPARTÍCULAS DE AZUFRE**

## Abstract

The excess in the use of synthetic insecticides of high toxicity, slow degradation and bioaccumulation has caused damages in the human being, and the environment. Therefore, there is a need to apply new alternatives to chemical pesticides. Nanotechnology has shown promising potential to promote sustainable agriculture. Nanopesticides improve insecticidal efficacy, due to their greater surface area and specificity, providing greater contact of the active substance with the insect. The present research proposes the synthesis of nanocomposites formed by elemental sulfur nanoparticles, and essential oils of eucalyptus and rosemary for the control of nymphs of the paratrioza insect in potato crops. For the synthesis of nanocomposites, a thiosulfate solution was reduced to zero sulfur, and it was coated with essential oil of eucalyptus and rosemary at three concentrations: 0.25, 0.5 and 0.75%. The nanocomposites were characterized by UV-VIS spectroscopy, transmission electron microscopy and Scanning electron microscopy. The insecticidal efficacy of the sulfur nanocomposites was evaluated in insect nymphs at 24, 48 and 72 hours. Efficacy was compared with a commercial chemical insecticide (40% Thiamethoxam) and the absolute control. All the treatments with eucalyptus and rosemary nanocomposites at the three concentrations, presented a greater insecticidal efficacy than the chemical for commercial use.

Keywords:

- **NANOCOMPOSITES**
- ***BACTERICELLA COCKERELLI* SULC**
- **SULFUR NANOPARTICLES**



## Capítulo 1

### Introducción

#### Formulación del problema

En las zonas elevadas de los Andes de Sudamérica, se encuentra la mayor variabilidad genética de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivada y en estado silvestre. En 1538 Pedro Cieza de León menciona a los tubérculos llamados “papas” por indígenas del valle del Cuzco en Perú y posteriormente en Quito, Ecuador (Pumisacho & Sherwood, 2002).

El Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) menciona que en el Ecuador existen alrededor de 22.000 hectáreas de cultivo del tubérculo, con un rendimiento promedio de 16.28 toneladas por hectárea (ESPAC, 2018).

La papa es una de las principales fuentes de ingresos para las poblaciones rurales, la mayoría de los productores de papa comercializan hasta el noventa por ciento de su cosecha (DeWalt & Uquillas, 1989). Es un elemento primordial de la economía nacional generando un valor total bruto de 60 millones de dólares por año (Pumisacho & Sherwood, 2002).

La papa, cumple un rol fundamental en la seguridad alimentaria, siendo fuente prioritaria de nutrientes para la población de las zonas altas del país (Pumisacho & Sherwood, 2002).

A nivel nacional un 49% de productores de papa son afectados por plagas y enfermedades en sus cultivos, provocando pérdidas en el rendimiento y la calidad del tubérculo antes, durante y después de la cosecha (MAG, 2019). Por ello, los cultivos de papas requieren una gran cantidad de agroquímicos (DeWalt & Uquillas, 1989).

Han surgido en los últimos años varios estudios para el control y prevención de las plagas de insectos que afectan a la papa (Pérez & Forbes, 2011). Los principales insectos que afectan al tubérculo en la zona andina son: paratrioza (*B. cockerelli* Sulc), la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*), el gusano blanco (*Premnotypes vorax*), y la mosca minadora (*Liriomyza huidobrensis*) (Montesdeoca et al., 2013).

Paratrioza (*B. Cockerelli* Sulc) causa daño a los cultivos por alimentación directa, succionando la savia o inyectando toxinas y fitoplasmas, causando amarillamiento de hojas, abultamiento del tallo, entrenudos acortados y tubérculos aéreos (Bujanos & Ramos, 2015).

### **Justificación del problema**

La papa (*Solanum tuberosum* L.), luego del maíz, es el cultivo más importante y tradicional en el Ecuador, es el décimo producto más consumido por la población y junto con ocho cultivos representan 300 mil toneladas métricas anuales de producción para el país (Sinchi, 2015). Su cadena productiva ha aumentado a tal grado que alrededor de 80 mil agricultores cultivan y comercializan este tubérculo (Pumisacho & Sherwood, 2002).

Por otra parte, varios factores bióticos y abióticos afectan el cultivo de papa en nuestro país reduciendo la producción y calidad. El gusano blanco (*Premnotypes vorax*) es considerada una de las plagas más importantes mientras que, en menor medida están la mosca minadora (*Liriomyza huidobrensis*) y la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) (Pérez & Forbes, 2011).

Paratrioza (*B. cokerelli* Sulc) se alimenta de la savia de la planta y ocasiona un daño directo por la inyección de toxinas transmitida por las ninfas del insecto y un daño

indirecto por bacterias transmitidas por los adultos, provocando un desarrollo anormal, hojas superiores enrolladas, amarillas o moradas, ensanchamiento de los peciolo de las hojas, nudos del tallo gruesos, tubérculos aéreos y muerte temprana de la planta (Cuesta et al., 2018).

Debido a la susceptibilidad de las variedades de papá cultivadas, la agresividad, y condiciones de clima propicias para su desarrollo, la plaga de paratrioza (*B. cokerelli* Sulc) se ha propagado a varias zonas del país como las provincias de Carchi, Imbabura, Tungurahua, Cotopaxi y Pichincha. Ocasionado pérdidas de hasta un 100% de cultivos de papa (Crizón, 2017).

Los pesticidas químicos han sido ampliamente empleados para el control de plagas en los cultivos, pero el uso excesivo e indiscriminado de estos ha ocasionado diversos problemas en la salud humana, contaminación del ambiente, y resistencia a los pesticidas por insectos y microorganismos patógenos (Kotan et al., 2008).

A causa de los daños provocados por el uso indiscriminado de agroquímicos; la nanotecnología ha surgido como un avance tecnológico para la formación de nuevos bioinsecticidas que combatan plagas de insectos que afectan a cultivos alimenticios e industriales (Sahoo, 2014).

Varios estudios se han centrado en el uso de aceites esenciales y sus componentes químicos bioactivos como posibles alternativas a los insecticidas sintéticos (Pant et al., 2014). Sus principios activos se caracterizan por mostrar una alta volatilidad, poca toxicidad para animales endotérmicos, y toxicidad para plagas de insectos, hongos y microorganismos que causan daño a los cultivos (Abad, Ansuategui, & Bermejo, 2007).

Las nanopartículas de azufre elemental (NPs) son conocidas por sus propiedades insecticidas, antifúngicas y antibacterianas, actuando sobre enzimas antioxidantes y desintoxicantes de los insectos, causando estrés oxidativo y muerte celular. Otros estudios indican interacción de las NPs con membranas celulares provocando la desnaturalización de los orgánulos y enzimas en insectos (Benelli, 2018).

Por lo expuesto anteriormente, el uso de nanocompositos formados con nanopartículas de azufre elemental y aceites esenciales constituyen una nueva alternativa para el control de la plaga del insecto paratrioza (*B. cockerelli* Sulc) en cultivos de papa. La combinación de NPs con aceites esenciales le confiere mayor estabilidad a las NPs, un modo de acción más específico, además de potenciar las propiedades insecticidas de los aceites esenciales (Sahoo, 2014).

## **Objetivos de la investigación**

### ***Objetivo general***

Evaluar el efecto insecticida de nanocompositos de azufre con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc).

### ***Objetivos específicos***

- Preparar nanopartículas de azufre elemental por el método de precipitación controlada.
- Sintetizar nanocompositos de azufre con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Establecer la concentración óptima de los nanocompositos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc) en cultivos de papa (*Solanum*

*tuberosum* L.) del campus IASA I, en la parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui-Ecuador.

- Determinar la eficacia de los nanocompositos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc) versus un insecticida de comparación.

## Capítulo 2

### Marco Teórico

#### Generalidades de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

##### *Origen y domesticación*

Se cree que los tubérculos silvestres fueron domesticados por primera vez hace 7,000 años, cultivados en la región límite entre Perú y Bolivia al norte del lago Titicaca. Los tubérculos se adaptaron al clima frío y duro de esta zona y rápidamente su cultivo se esparció por los Andes de América del Sur a altitudes de 3500 msnm o más (Hawkes, 1992).

#### Clasificación Taxonómica de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

La clasificación taxonómica de la papa se detalla en la siguiente tabla:

**Tabla 1.**

*Clasificación taxonómica de Solanum tuberosum L.*

<b>Calsificación</b>	<b>Descripción</b>
Reino	Plantae
Subreino	Traqueofita
Superdivisión	Espermatofita
División	Magnoliofita
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i> L.
Especie	<i>Solanum tuberosum</i> L.
Nombre común	Papa

*Nota.* Tomado de (Gnanasekaran & Basalingappa, 2018)

### **Descripción Botánica**

La papa es una planta herbácea anual, se reproduce de manera vegetativa por medio de tubérculos y a veces por semillas de papa. Tiene un tallo erecto en su etapa inicial que luego se extiende y se postra. Las hojas son compuestas y alternas, pinnadas irregularmente impares de tamaño y forma irregular. Las valvas pueden ser de forma ovalada a oblonga y las hojas pueden alcanzar de 10 a 30 cm de largo y de 5 a 15 cm de ancho (Patil et al., 2016).

Las yemas formadas en la axila de las hojas producen rizomas que se alargan rápidamente y desarrollan tubérculos en sus extremidades. El tubérculo de papa es una porción agrandada de un tallo subterráneo o estolón. Los ojos del tubérculo son los brotes de los que surgirá el crecimiento de la próxima temporada (Patil et al., 2016).

La papa tiene una fluorescencia terminal que consiste de 7 a 15 flores, dependiendo del cultivar, con cinco pétalos dan a la flor una forma de estrella, también tiene un pistilo de color amarillo brillante, las semillas se producen en una baya de color amarillo (Patil et al., 2016).

**Figura 1.**

*Morfología de Solanum tuberosum L.*



*Nota.* Tomado de (Huarte & Capezio, 2013).

### ***Producción, consumo e importancia económica de la papa en el Ecuador.***

En nuestro país, el cultivo de papa es una de las principales actividades agrícolas debido a la generación de ingresos para los productores y la importancia en la dieta diaria de la población ecuatoriana (MAG, 2019).

La producción de papa a nivel nacional muestra un rendimiento de 16,28 toneladas por hectárea, una densidad promedio de 19,688 plantas por hectárea y una producción anual de 300 mil toneladas métricas (ESPAC, 2018).

Pichincha, Carchi, Bolívar y Tungurahua son las zonas productoras de mayor rendimiento del cultivo en el país, con un promedio de 4.9, 2.5, 1.6, y 1.5 t/ha respectivamente, las variedades de papa más cultivadas son Superchola, ICA-Única, Yema de huevo y Friepapa (MAG, 2019).

La mayoría de los productores de papa, comercializan hasta el noventa por ciento de la cosecha, siendo su principal fuente de ingreso mensual. La mayor parte de la producción comercial del Carchi se destina al mercado de Quito. En las áreas centrales y meridionales, la producción de papa se envía a los mercados locales y a la costa. Al mismo tiempo, un porcentaje importante de la producción se queda en el hogar del productor para el consumo doméstico o el pago de sus trabajadores (DeWalt & Uquillas, 1989).

En promedio, un ecuatoriano consume 23 kilos de papa al año, que le proporciona alrededor de 1.035 Kcal. de energía y 25 g de proteínas por día (DeWalt & Uquillas, 1989).



Al año 12.000 toneladas de papa son consumidas por las industrias de papas fritas en el país y 84.000 plazas de trabajo son generadas por la agroindustria de la papa (MAG, 2019).

### **Plagas que afectan al cultivo de papa**

El principal problema del 49% de productores de papa en el país son las plagas y enfermedades, afectando severamente el rendimiento y calidad del cultivo (MAG, 2019).

#### **Paratrioza (*B. cockerelli* Sulc)**

Es un insecto polígrafo que ataca principalmente a las especies de plantas de la familia *Sonolaceae*, causando daño al alimentarse del floema de la planta transmitiendo toxinas y patógenos bacterianos, provocando que la calidad y el rendimiento del cultivo disminuya significativamente con pérdidas que alcanzan el 100% (INIAP, 2018).

#### ***Taxonomía***

#### **Tabla 2.**

*Clasificación Taxonómica de *Bactericella cockerelli* Sulc.*

<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
Reino	Animal
Phylum	Artropoda
Clase	Insecta
Orden	Homoptera
Familia	Triozidae
Género	Bactericella
Especie	<i>Bactericella cockerelli</i> Sulc.
Nombre común	Paratrioza, Psílido de la papa

*Nota.* Tomado de (Sacbaja, 2014).

### **Ciclo de vida**

Los huevos de *B. cockerelli* Sulc son amarillos, de forma oblonga y unidos a las hojas de la planta huésped (Figura 2A), presentan una longitud y ancho promedio de 0.3 mm y 0.1 mm, respectivamente. Los huevos pueden tomar de 3 a 15 días para eclosionar, y exhiben una proporción de sexo 1: 1 de hembras a machos (Pletsch, 1947).

*B. cockerelli* Sulc tiene cinco estadios, y la finalización del desarrollo puede variar de 12 a 44 días con un promedio de 15 días. Los primeros cuatro estadios requieren un promedio de 3 días para completar el desarrollo, pero el quinto estadio 5 días en completarse. Las ninfas del primer estadio son de color amarillo pálido con una cabeza y abdomen de color naranja, y a medida que se produce el desarrollo, el color cambia a un verde amarillento pálido o puede permanecer de color naranja amarillento (Figura 2B). Las ninfas se encuentran unidas al envés de la hoja y rara vez se mueven (Butler & Trumble, 2012).

Después de la última muda de ninfa, los adultos son inicialmente de color verde pálido o ámbar claro, pero luego se vuelven más oscuros (Figura 2C Y D). La longitud del cuerpo adulto puede variar de 1.3 a 1.9 mm La vida adulta puede variar de 16 a 97 días (Butler & Trumble, 2012).

Las hembras adultas pueden poner huevos tres días después de la emergencia con un período de preoviposición que puede variar de 3 a 25 días. Las hembras pueden depositar en promedio hasta 500 huevos durante su vida (Knowlton & Janes, 1931).

**Figura 2.***Ciclo de vida de Bactericera cockerelli Sulc*

Nota. A) huevo B) ninfa C y D) adulto.  
Tomado de (Butler & Trumble, 2012).

### ***Daños causados por B. cockerelli Sulc en cultivos de papa***

#### ***Punta morada de la papa (PMP)***

Es una enfermedad sistémica, causada por ninfas de *B. cockerelli* Sulc cuando se alimentan de la savia de la planta succionando el floema e inyectando toxinas (INIAP, 2018).

Las plantas enfermas presentan una reducción en el crecimiento, erección del nuevo follaje, clorosis o enrojecimiento de las hojas, entrenudos acortados y engrosados, ganglios agrandados, tubérculos aéreos (Figura 3), disminución de nitratos, nitrógeno, clorofila y caroteno, disminución del contenido de almidón en los tubérculos, senescencia prematura y muerte de las plantas (Butler & Trumble, 2012).

**Figura 3.**

*Síntomas de Punta Morada en plantas de papa.*



*Nota.* Tomado de (INIAP, 2018).

***Zebra chips***

Es una enfermedad de la papa causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* transmitida al floema de la planta por el vector *B. cockerelli* Sulc, en estado adulto (Munyanza, Crosslin, & Upton, 2007).

La planta enferma presenta síntomas similares a la PMP como: retraso en el crecimiento, clorosis, entrenudos hinchados del crecimiento superior, proliferación de brotes axilares, tubérculos aéreos, brotes débiles, ennegrecimiento del sistema vascular, abrasión de las hojas y muerte prematura de las plantas (Munyanza, Crosslin, & Upton, 2007).

Las papas que se procesan a partir de tubérculos infectados presentan rayas de color marrón oscuro (Figura 4), de ahí el nombre de "Zebra chips", que provoca el rechazo de las papas frescas y procesadas para el mercado (Munyanza, Crosslin, & Upton, 2007).

**Figura 4.**

*Papas fritas de un tubérculo sano vs un tubérculo infectado.*



*Nota. Tomado de (Butler & Trumble, 2012).*

**Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son compuestos volátiles, naturales y complejos que se caracterizan por un fuerte olor y están formados por plantas aromáticas como metabolitos secundarios. Son líquidos, volátiles, límpidos y raramente coloreados, solubles en lípidos y solubles en solventes orgánicos con una densidad generalmente más baja que la del agua (Bakkali et al., 2008).

Pueden ser sintetizados por todos los órganos de la planta, es decir, brotes, flores, hojas, tallos, ramitas, semillas, frutas, raíces, madera o corteza, y se almacenan en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares (Bakkali et al., 2008).

Los aceites esenciales se han empleado en gran medida por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas (Bakkali et al., 2008).

***Aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus globulus)***

*Eucalyptus globulus* es un gran árbol de hoja perenne con una copa estrecha que se vuelve redondeada para los árboles que crecen al aire libre; por lo general, crece

hasta 55 metros de altura. El tronco cilíndrico recto y puede tener hasta 200 cm de diámetro (Grieve, 2020).

**Figura 5.**

*Morfología de Eucalyptus globulus*



Fuente: (Renobales & Sallés, 2001).

Las hojas son de textura coriácea, cuelgan oblicua o verticalmente, y están tachonados con glándulas que contienen un aceite volátil fragante. Las flores en la yema están cubiertas con una membrana en forma de copa. El fruto está rodeado por un receptáculo leñoso en forma de copa y contiene numerosas semillas diminutas (Grieve, 2020).

La clasificación taxonómica de *Eucalyptus globulus* se detalla en la siguiente tabla.

**Tabla 3.**

*Clasificación Taxonómica de Eucalyptus globulus.*

<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Suclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae
Tribu	Eucalypteae
Género	Eucalyptus
Especie	<i>Eucalyptus globulus</i>
Nombre común	Eucalipto

*Nota.* Tomado de (Tropicos, 2020).

Las hojas contienen aproximadamente 1-3% de aceite volátil. Los componentes principales del aceite son 1,8-cineol que le otorga el olor balsámico característico del aceite, también conocido como eucaliptol (63.81%),  $\alpha$ -pineno (16.06%), aromadendreno (3.68%) y o-cimeno (2.35%) (Khan et al., 2012).

Estudios recientes han indicado la eficacia del aceite esencial de eucalipto contra plagas de plantas como el pulgón del algodón (*Aphis gossypii*) y el ácaro araña (*Tetranychus cinnabarinus*), otros autores mencionan una potencial actividad insecticida de los componentes del aceite esencial como 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno contra las larvas y pupas de la mosca doméstica *Musca domestica* L. (Isman, 2000 & Kumar et al., 2012).

Se ha reportado la eficacia del componente 1,8-cineole para el control de la plaga de *Tribolium castaneum* de los granos almacenados y para el control de huevos, larvas y adultos de la mosca *Lutzomyia longipalpis* (Maciel et al., 2010 & Pant et al., 2014).

### ***Aceite esencial de Romero (Rosmarinus officinalis)***

Es un arbusto generalmente erecto de hasta 2 m de alto, redondeado, con un tallo cuadrangular, finamente gris pubescente, con pequeñas flores de dos labios, azules blancas, rosadas o moradas y un follaje muy fragante (Guzmán, 1999).

#### **Figura 6.**

*Morfología de Rosmarinus Officinalis.*



Nota. Tomado de (Datiles & Rodriguez, 2014)

Sus hojas perennes, opuestas, aromáticas con forma de aguja de color verde grisáceo de 1 a 5 cm de largo y 1 a 2 mm de ancho, de color verde y blanco, muy espaciadas en los tallos (Guzmán, 1999).

La clasificación taxonómica de *Rosmarinus officinalis* se detalla en la siguiente tabla.



**Tabla 4.**

*Clasificación taxonómica de Rosmarinus officinalis.*

<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	Rosmarinus
Especie	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Nombre común	Romero

*Nota.* Tomado de (Datiles & Rodriguez, 2014).

Las hojas contienen alrededor de 1-2% de aceite volátil. El principal componente es el cineol (32 %) y le otorga el olor fresco al aceite; el borneol (18%) atribuye el olor acre y alcanforado, el alcanfor (12%) otorga el olor refrescante y de menta, y el alfa-pineno el aroma cálido. Los fenoles timol, carvacrol y eugenol también juegan un papel importante en las propiedades aromatizantes del aceite (Datiles & Rodriguez, 2014).

Estudios informan la efectividad de los componentes 1,8-cineol y el alcanfor del aceite esencial de romero para el control de los insectos *Sitophilus oryzae* y *Oryzaephilus surinamensis* al inhibir la actividad enzimática, causando toxicidad y actividad antialimentaria contra estas plagas (Kiran & Prakash, 2015).

Otros estudios reportan la toxicidad del aceite contra la araña *Tetranychus urticae* Koch, en plantas de frijol y tomate además de la actividad ovicida del aceite en los mosquitos *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* (Miresmailli et al., 2006 & Prajapati et al., 2005).

Además se ha reportado que la sinergia de los componentes del aceite de romero como el 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno y alcanfor, muestran toxicidad para las larvas de lepidópteros de *Pseudaletia unipuncta* y *Trichoplusia ni* (Murray, Wilson, & Bradbury, 2008).

### **Nanopartículas de azufre**

La nanotecnología es toda tecnología que trabaja con materiales, procesos y sistemas a una escala de 1 a 100 nanómetros (Lugo, García, & Ruelas, 2010).

La nanopartícula se define como un material natural o manufacturado que contiene partículas, en un estado libre o agregado con una o más de sus dimensiones de tamaño de 1 a 100 nanómetros (King & Jarvie, 2019).

Las nanopartículas por su gran superficie presentan mayor reactividad, además su biodisponibilidad, actividad biológica, biopersistencia y poder catalítico se incrementa, el tamaño a escala nanométrica favorece el acceso a células, tejidos y órganos (Lugo, García, & Ruelas, 2010). Estas propiedades permiten su aplicación en la agricultura enfocándose en problemas específicos como las interacciones entre plantas y plagas proporcionando nuevas formas de protección de cultivos (El Wakeil, Alkahtani, & Gaafar, 2017).

El azufre elemental (S) en la escala nano, tiene una amplia gama de aplicaciones en el área agrícola, el azufre ingresa en tejidos, órganos y vías respiratorias de los insectos causando daños por su efecto tóxico, esta propiedad le permite actuar como insecticida contra varias plagas en plantas (Suleiman et al., 2013).

Varios estudios mencionan que las nanopartículas muestran toxicidad en insectos al actuar en las enzimas antioxidantes y desintoxicantes provocando estrés oxidativo, disminución en la permeabilidad de la membrana, desnaturalización de orgánulos y enzimas, causando finalmente muerte celular (Benelli, 2018).

### **Nanocompositos**

Un nanocomposito es un nanomaterial formado por dos o más componentes con propiedades diferentes pudiéndose identificar cada componente al formarse una interface entre ellos (Quinzi & Di Francesco, 2020).

Sus dimensiones se encuentran entre 1 a 500 nm. La adición adecuada de nanopartículas para formar un nanocomposito puede mejorar su rendimiento aprovechando la naturaleza y las propiedades de cada componente (Okpala, 2013).

Se ha visto que la unión de azufre con otros compuestos potencializa su acción insecticida al controlar insectos chupadores, trips, estados larvales de ninfas de moscas, psílidos, garrapatas y áfidos (Guillén, 2009).

### **Hipótesis**

Al menos una concentración de nanocompositos de azufre con principios activos de eucalipto y romero, presenta un efecto insecticida en el control de paratrioza (*Bactericella cockerelli* Sulc).

### Capítulo 3

#### Metodología

#### Participantes

##### *Unidad académica*

Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Carrera de Ingeniería en Biotecnología. La investigación se llevará a cabo con un financiamiento del 75% por parte del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE y un 25% financiado por la tesista en mención.

##### *Responsable del proyecto*

Lany Sophia Araujo Yépez, egresada de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE.

##### *Colaboradores Científicos*

Dr. Vladimir Aguirre	Director de tesis/ Departamento de Ciencias Exactas/ Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.
Dr. Petronio Gavilanez	Codirector de tesis/ Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura/ Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.
Dr. Jaime Villacis	Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura/ Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

Dr. Juan Tigrero

Departamento de Ciencias de la Vida y la  
Agricultura/ Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

## **Zona de Estudio**

### ***Trabajo de campo***

La evaluación del cultivo y el muestreo de las ninfas del insecto se realizó en parcelas de papa contaminadas con la plaga del mismo, ubicadas en el campus IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, en la Hacienda el Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha, con coordenadas 78°24'44" de Longitud y 2.748 m de altitud, con una temperatura promedio de 14°C, y precipitación anual de 1200 mm.

### ***Trabajo de laboratorio***

El trabajo de investigación experimental se realizó en el laboratorio del Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT), de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, que se encuentra ubicado en el sector Santa Clara, cantón Rumiñahui, en el Valle de los Chillos, a una distancia de 22 kilómetros al sur - este de Quito a una altitud de 2.510 metros sobre el nivel del mar (ESPE, 2015).

La evaluación de la eficacia de los nanocompositos para el control del insecto se realizará en el laboratorio de entomología, en el campus IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, ubicado en la Hacienda el Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha, con coordenadas 78°24'44" de Longitud y

2.748 m de altitud, con una temperatura promedio de 14°C, y precipitación anual de 1200 mm.

### **Duración de la investigación**

La presente investigación inició en marzo del 2020 y finalizó en enero del 2021, con un periodo de duración de 10 meses.

### **Metodología**

#### **Extracción de aceites esenciales**

Se recolectó hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), y hojas y tallos de romero (*Rosmarinus officinalis*), cada muestra vegetal se pesó en una balanza previo a la obtención del aceite esencial.

Para la obtención de los aceites esenciales, se colocó las muestras en el reactor y se extrajo el aceite esencial de eucalipto y romero mediante el método por arrastre de vapor durante 3h respectivamente.

Durante la extracción, A los 45 minutos el agua ebulló, el vapor de agua generado aumentó la temperatura del sistema rompiendo el tejido vegetal de eucalipto y romero liberando el aceite esencial respectivamente, los vapores condensados se retuvieron en un embudo de separación donde se formaron dos fases, aceite e hidrodestilado, los aceites se colocaron en botellas de vidrio ambar, se midió el volumen del aceite y se almacenaron a 4°C.

Se analizó índice de refracción, rendimiento y densidad de cada aceite esencial.

### **Síntesis de nanopartículas de azufre**

A una solución 0.01M de tiosulfato pentahidratado se añadió ácido clorhídrico 2M en una proporción 1:2, luego de 30 minutos la reacción llegó al equilibrio tornándose de un color violeta, finalmente se añadió una solución al 5% de trietanol amina (TEA) para elevar el pH a 6.5.

La reacción de óxido reducción se detalla a continuación:



### **Síntesis de nanocompositos**

#### ***Nanocompositos de Eucalipto***

Se prepararon soluciones 0,25, 0,5 y 0.75 % de etanol-aceite esencial de eucalipto, a las cuales se añadió 25, 18 y 20 mL de la solución de nanopartículas de azufre respectivamente. Finalmente, se agregó 1 mL de Polietilenglicol (PEG) al 1% como agente estabilizante.

#### ***Nanocompositos de Romero***

Se prepararon soluciones 0,25, 0,5 y 0.75 % de etanol-aceite esencial de romero, a las cuales se añadió 37, 29 y 26 mL de la solución de nanopartículas de azufre respectivamente. Finalmente, se agregó 1 mL de Polietilenglicol (PEG) al 1% como agente estabilizante.

## **Caracterización de nanopartículas de azufre y nanocompositos**

### ***Espectroscopia ultravioleta-visible***

En el espectrofotómetro UV-VIS se midió a una longitud de onda UV de 200 a 400 nm, la solución de nanopartículas de azufre para caracterizar al no metal. A la misma longitud de onda UV se midieron las soluciones de nanocompositos de azufre-eucalipto y azufre-romero respectivamente, para determinar la estabilidad de las mismas.

Los datos obtenidos en cada ensayo se analizaron en el software ORIGIN 8.

### ***Microscopia electrónica de transmisión y barrido***

Utilizando el microscopio electrónico de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) se determinó el tamaño promedio y morfología de las nanopartículas y nanocompositos respectivamente.

Empleando el software Fiji-ImageJ se determinó el área, perímetro, diámetro y esfericidad de las nanopartículas y nanocompositos respectivamente.

### **Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos**

La evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos se realizó en dos fases:



## ***Ensayo en Campo***

### ***Monitoreo de la plaga y cultivo infestado***

El monitoreo de la plaga se lo realizó desde la orilla hacia el centro de cada parcela de la plantación de papa ubicado en el campus IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE. Se seleccionaron 5 plantas infestadas en el envés de las hojas con más de 5 huevos o ninfas del insecto paratrioza (*B. cockerelli* Sulc) en cada parcela (105 plantas en total) (Tigrero, 2000; Cuesta, et al., 2018).

### ***Muestreo de las ninfas del insecto***

De cada parcela de la plantación de papa, se recolectaron hojas infestadas con ninfas del insecto en fundas plásticas y se llevaron al laboratorio de entomología, en el campus IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, para la evaluación de la eficacia insecticida de los tratamientos.

## ***Ensayo en laboratorio***

### ***Aplicación de los tratamientos***

En tarrinas de 250 mL de polipropileno con tapa hermética, se colocaron hojas con 10 ninfas del insecto para cada tratamiento (24 tarrinas en total).

Con un difusor de gota fina, se aplicó las tres concentraciones de nanocompositos de eucalipto y romero (0.25%, 0.5% y 0.75%), y el insecticida de comparación Actara GW25 (40% Tiametoxam).

***Evaluación de la eficacia de los tratamientos para el control de paratíroza (B. cockerelli Sulc).***

Con ayuda del estereomicroscopio, a las 24, 48 y 72 horas de la aplicación de los tratamientos, se contabilizó el número de ninfas vivas y muertas en la parte media, alta y baja de la hoja.

El porcentaje de eficacia de los tratamientos se calculó empleando la siguiente fórmula de Henderson Titon (Püntener & Zahner, 1981):

$$\% \text{ Eficacia } \frac{b-k}{100-k} \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde:

b= porcentaje de individuos muertos de los tratamientos.

k= porcentaje de individuos muertos del testigo.

## **Diseño Experimental**

### ***Tipo de diseño***

Se utilizó un Diseño Completamente al azar (DBCA) con ocho tratamientos y 3 repeticiones para cada tratamiento (Tabla 5).

**Tabla 5.**

*Tratamientos para la evaluación del efecto insecticida*

<b>Tratamiento</b>	<b>Nanocomposito</b>	<b>Concentración</b>
T1	<i>Eucalyptus globulus</i>	0,25% aceite-etanol anhidro
T2	<i>Eucalyptus globulus</i>	0,5% aceite-etanol anhidro
T3	<i>Eucalyptus globulus</i>	0,75% aceite-etanol anhidro
T4	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,25% aceite-etanol anhidro
T5	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,5% aceite-etanol anhidro
T6	<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,75% aceite-etanol anhidro
<b>Tratamiento</b>	<b>Insectida de Comparación</b>	<b>Concentración</b>
T7	Actara WG25	40% Tiametoxam
T8	Testigo absoluto	-

### ***Unidad experimental***

La unidad experimental corresponde a cada tarrina de 250 mL de polipropileno con tapa hermética, en cada unidad experimental se colocaron 10 ninfas del insecto. El esquema del ensayo se detalla en la siguiente figura (Figura 7). Un total de 24 unidades experimentales.

**Figura 7.**

*Esquema del diseño experimental DCA, tratamientos y réplicas.*

T1	T2	T3	T2	T7	T8	T6	T6
T5	T1	T2	T4	T8	T5	T4	T4
T3	T5	T7	T1	T6	T3	T8	T7

### ***Variables de respuesta.***

La variable de respuesta es la eficacia de los nanocompositos para el control de paratrioza.

**Factores controlables.**

Los factores controlables son: tiempo de ensayo, concentración y número de tratamientos.

**Factores no controlables o de ruido**

Los factores no controlables del proyecto son: las variaciones climáticas.

**Factores de estudio**

Los factores de estudio constituyen las diferentes concentraciones de los tratamientos y el tiempo de evaluación del ensayo de eficacia (24, 48 y 72 horas).

**Análisis de varianza**

**Tabla 6.**

*Esquema del análisis de varianza, para la evaluación del efecto insecticida de nanocompositos para el control de paratirozo.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>
Total	20
Tratamientos	7
Repeticiones	2
Error experimental	14

**a) Coeficiente de variación**

El coeficiente de variación viene dado por la fórmula:

$$CV\% = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{x}} X100 \quad \text{Ecuación 3.}$$

Donde:

CV= Coeficiente de variación

CME= Cuadrado medio del error experimental

$\bar{X}$ = Media general del experimento

### **Análisis estadístico**

Los resultados de los ensayos se analizaron con el software INFOSTAT. Se empleó los Modelos lineales generales y mixtos GLMMs seguido de una prueba de significancia LSD de Fisher al 0.05 ( $\alpha=0.05$ ).

## Capítulo 4

### Resultados

#### Extracción de aceites esenciales

Mediante el método por arrastre de vapor se obtuvo los aceites esenciales de eucalipto y romero (Figura 9 y Tabla 7). El análisis de las propiedades físicas y químicas para la caracterización de los aceites esenciales obtenidos, se detalla en la Tabla 7.

**Figura 8.**

*Extracción de aceites esenciales mediante arrastre por vapor*



*Nota.* A) Hojas de eucalipto B) Hojas de romero C) reactor D) aceites esenciales de eucalipto y romero

**Tabla 7.**

*Propiedades de los aceites esenciales de eucalipto y romero*

Indicadores	Aceites esenciales	
	Eucalipto	Romero
Rendimiento de extracción (%)	1,51%	1,10%
Índice de refracción	1.4512	1.4695
Densidad relativa (g/cm <sup>3</sup> )	0.8664	0.8111

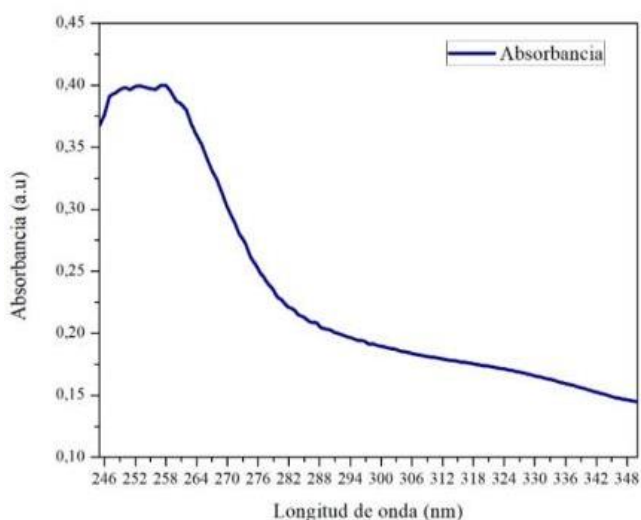
## Síntesis de nanopartículas de azufre

### Caracterización de las nanopartículas con espectroscopia UV-Vis y espectroscopia dispersiva de energía (EDS).

La caracterización de las nanopartículas con espectroscopia UV-Vis mostró un pico de absorción a los 257 nm dentro del rango correspondiente al azufre cero valente (Figura 9).

**Figura 9.**

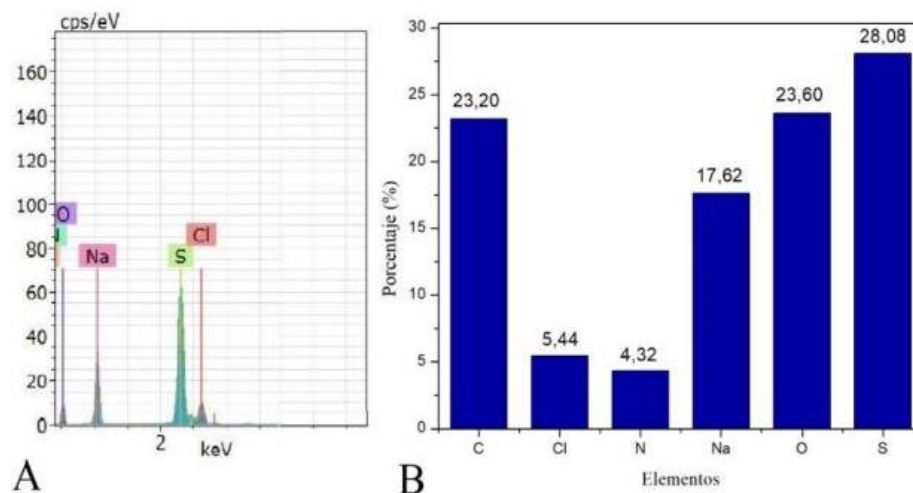
*Espectro de absorción UV-Vis de SNPs sintetizadas*



El ensayo de espectroscopia dispersiva de energía (EDS) mostró la presencia de azufre cero valente de las nanopartículas con una concentración en peso de 28%, siendo el mayor elemento presente (Figura 10A). También se encontraron otros elementos (Na, Cl, N, O) en porcentajes menores (Figura 10B) debido a la presencia de subproductos de la reacción de síntesis de las nanopartículas (Ecuación 1), la presencia de carbono se debe al sustrato empleado para la prueba en el TEM.

**Figura 10.**

*Espectroscopia dispersiva de energía (EDS).*

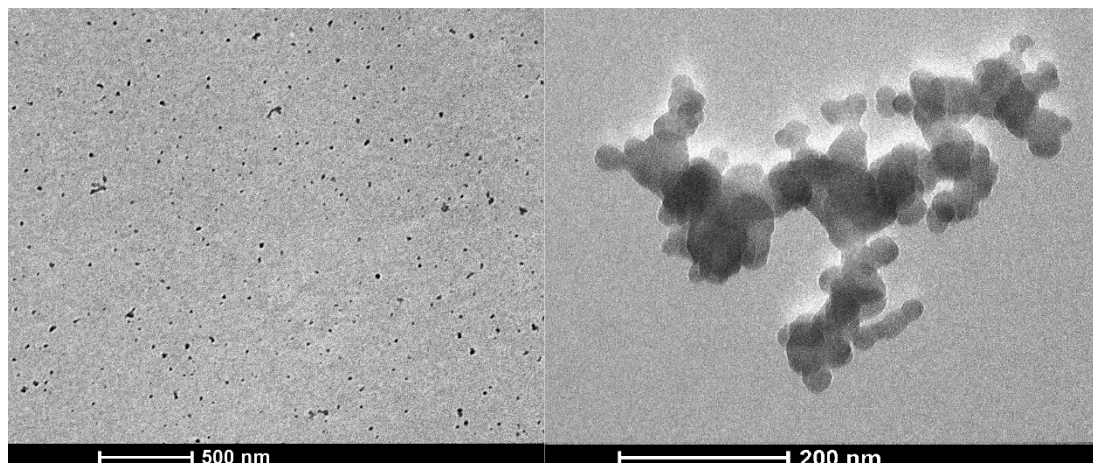
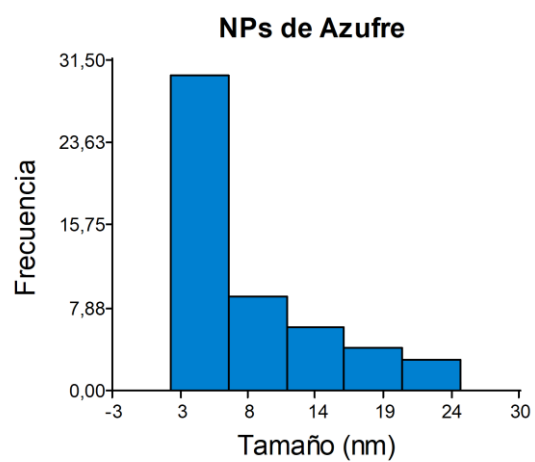


*Nota.* A) espectro dispersivo de energía de SNPs sintetizadas B) Porcentaje de los elementos encontrados en el análisis de EDS.

### **Caracterización de las nanopartículas con Microscopia Electrónica**

Las imágenes de las SNPs obtenidas con TEM, mostraron que las mismas presentan formas esféricas (Figura 11), el análisis de las imágenes con el software FIJI mostró una distribución del tamaño de las nanopartículas que varía entre 2 a 30 nm y un tamaño promedio de 10 nm (Figura 12 y Tabla 8).



**Figura 11.***Nanopartículas de azufre observadas en TEM***Figura 12.***Distribución del tamaño de nanopartículas de azufre***Tabla 8.***Propiedades de las nanopartículas de azufre sintetizadas*

<b>Propiedad</b>	<b>Valor</b>
Área (nm <sup>2</sup> )	76,683
Perímetro (nm)	25,929
Diámetro medio (nm)	9,881
Esfericidad	0,803

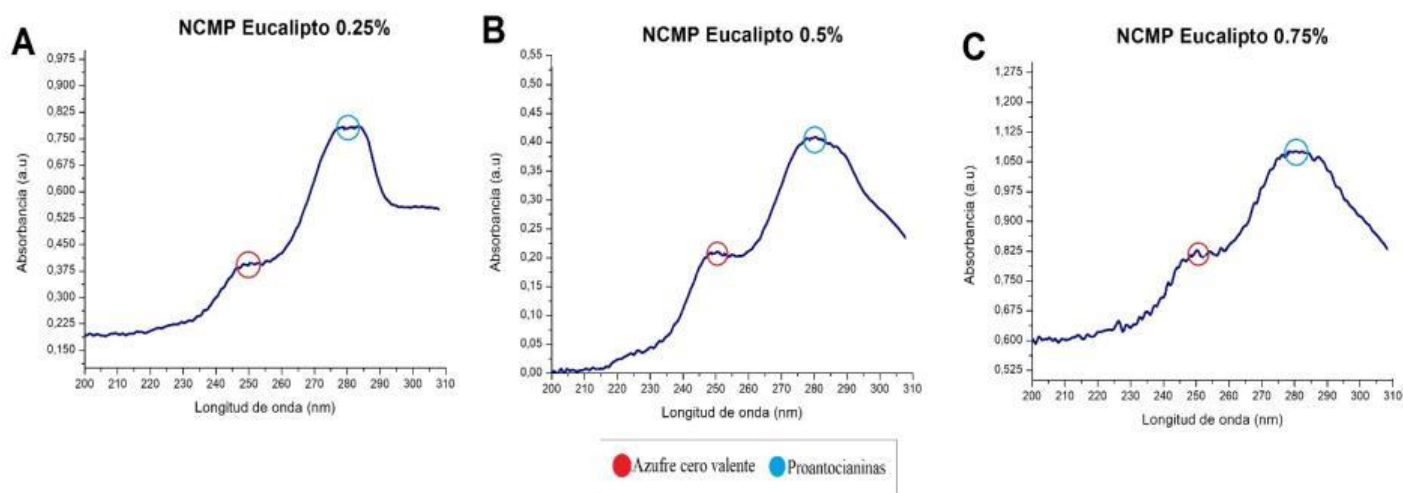
## Síntesis de nanocompositos

### Caracterización de los nanocompositos con espectroscopia UV-Vis

La caracterización con espectroscopia UV-Vis de los nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones (0.25%, 0.5% y 0.75%), mostró un pico de absorción a los 257 nm correspondiente al azufre cero valente (Figura 9). El pico de absorción a los 280 nm en los nanocompositos de eucalipto (Figura 13) pueden corresponder a los taninos condensados (proantocianinas) presentes en el aceite esencial, mientras que los picos de absorción entre los 280 y 290 nm de los nanocompositos de romero (Figura 14) pueden corresponder a los elagitaninos del aceite esencial (Cadahia et al., 1997 & Sirvaityte et al., 2011 ).

**Figura 13.**

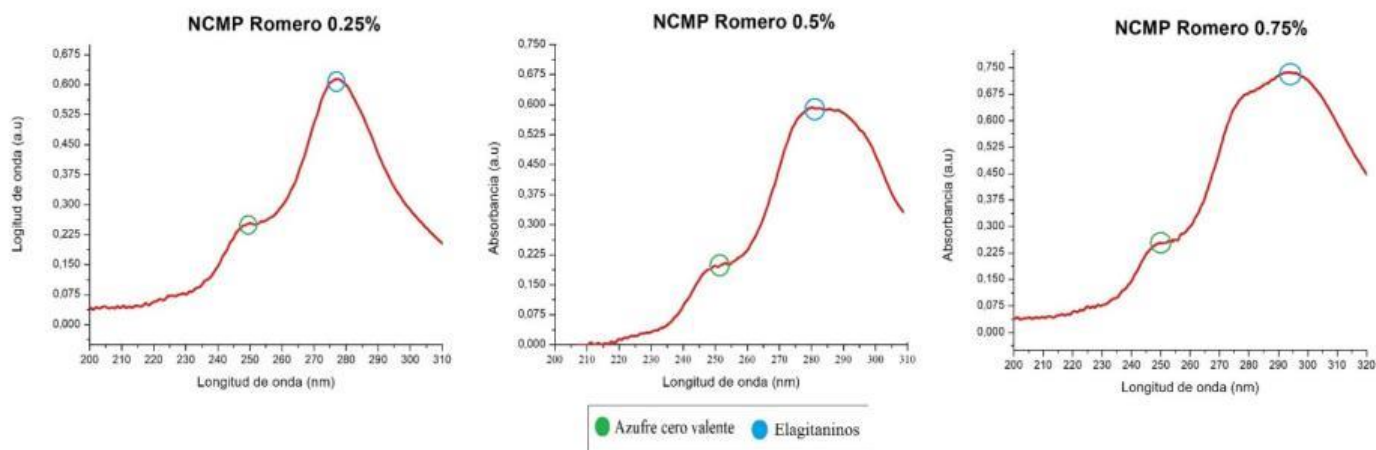
*Espectro de absorción UV-Vis de nanocompositos de eucalipto a diferentes concentraciones.*



*Nota.* A) Eucalipto 0.25% B) Eucalipto 0.5% C) Eucalipto 0.75%

**Figura 14.**

*Espectro de absorción UV-Vis de nanocompositos de Romero a diferentes concentraciones.*



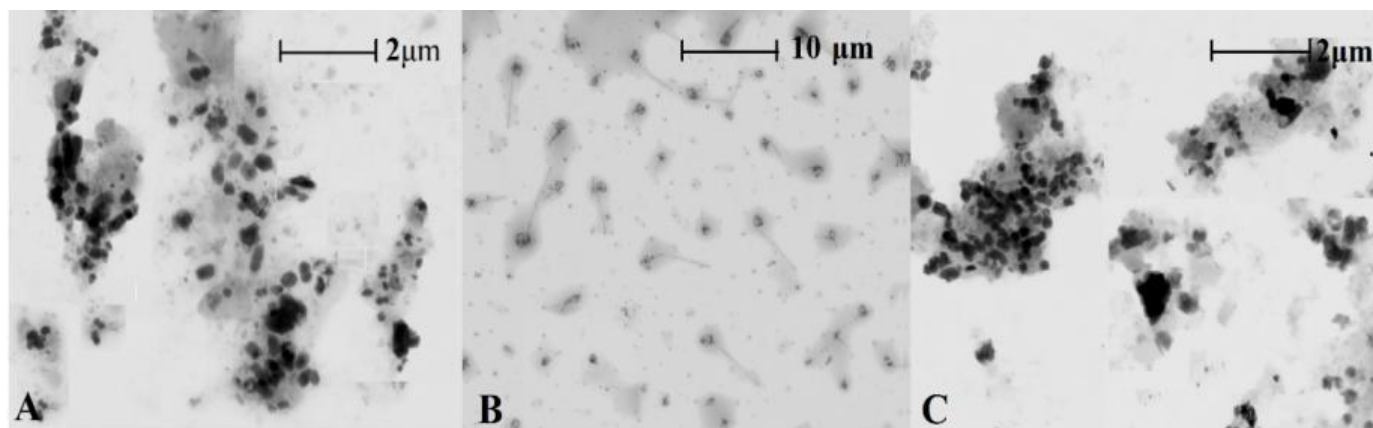
*Nota.* A) Romero 0.25% B) Romero 0.5% C) Romero 0.75%

### **Caracterización de los nanocompositos con Microscopia Electrónica**

Las imágenes de STEM y el análisis con el software FIJI, mostraron que los nanocompositos de romero a las tres concentraciones (0.25%, 0.5% y 0.75%) son más esféricas y presentan mayor tamaño que los nanocompositos de eucalipto (Figura 15, Figura 16 y Tabla 9).

**Figura 15.**

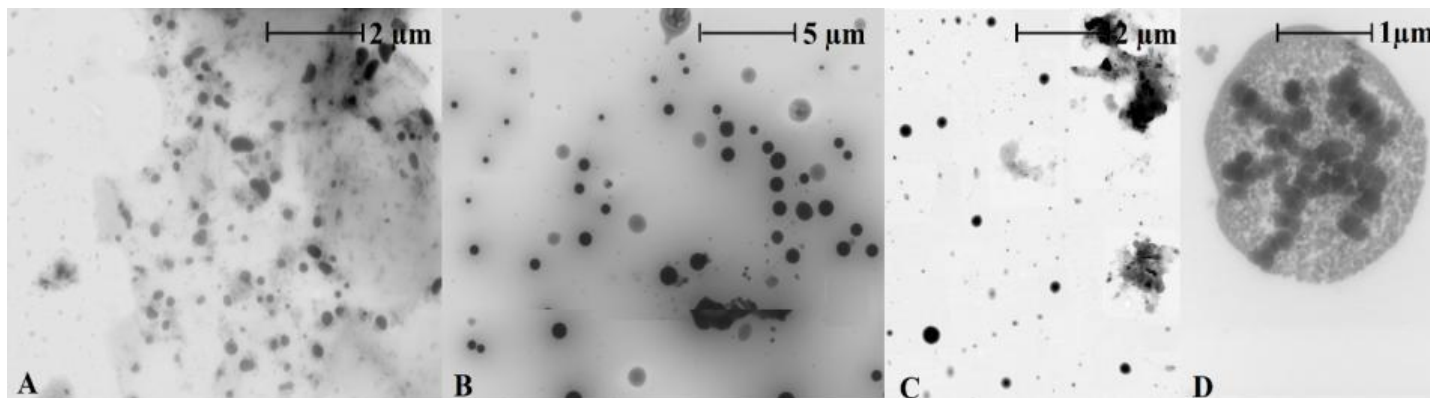
*Nanocompositos de eucalipto observados con STEM*



*Nota.* A) Eucalipto 0.25% B) Eucalipto 0.5% C) Eucalipto 0.75

**Figura 16.**

*Nanocompositos de romero observados con STEM*



*Nota.* A) Romero 0.25% B) Romero 0.5% C y D) Romero 0.75%

**Tabla 9.**

*Propiedades de las nanocompositos de eucalipto y romero*

<b>Nanocompositos</b>	<b>Área (nm<sup>2</sup>)</b>	<b>Perímetro (nm)</b>	<b>Diámetro (nm)</b>	<b>Esfericidad</b>
Eucalipto 0,25%	8217,32	291,90	86	0,85
Eucalipto 0,5%	157416,10	1231,53	360	0,87
Eucalipto 0,75%	12204,16	362,88	108	0,86
Romero 0,25%	9850,24	310,48	241	0,85
Romero 0,5%	56801,89	718,29	364	0,86
Romero 0,75%	577941,64	2231,72	717	0,98

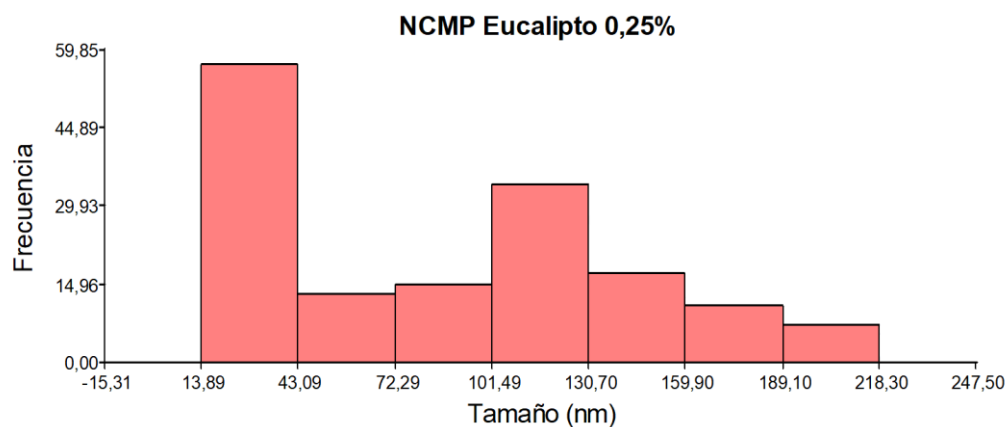
El análisis de tamaño de los nanocompositos, mostró que a medida que incrementa el porcentaje de concentración de aceite esencial de eucalipto y romero respectivamente, el tamaño de los nanocompositos también incrementa.

Los nanocompositos de eucalipto a la concentración de 0,25% mostraron una distribución del tamaño en un rango amplio de 14 nm a 218 nm con un diámetro medio de 86 nm (Figura 17). Los nanocompositos de eucalipto a la concentración de 0,5% mostraron una distribución del tamaño en un rango de 26 nm a 1400 nm con un diámetro medio de 360 nm (Figura 18). Los nanocompositos de eucalipto a la

concentración de 0,75% mostraron una distribución del tamaño en un rango de 30 nm a 422 nm con un diámetro medio de 108 nm (Figura 19).

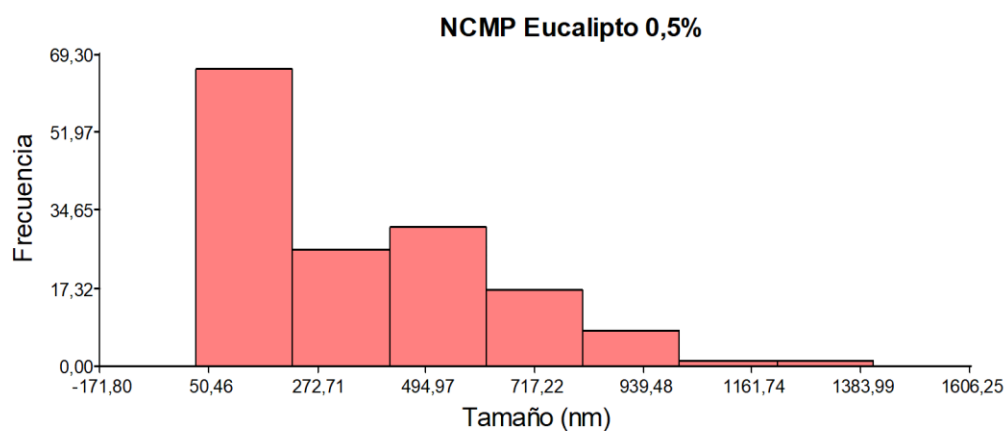
**Figura 17.**

*Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0.25%.*



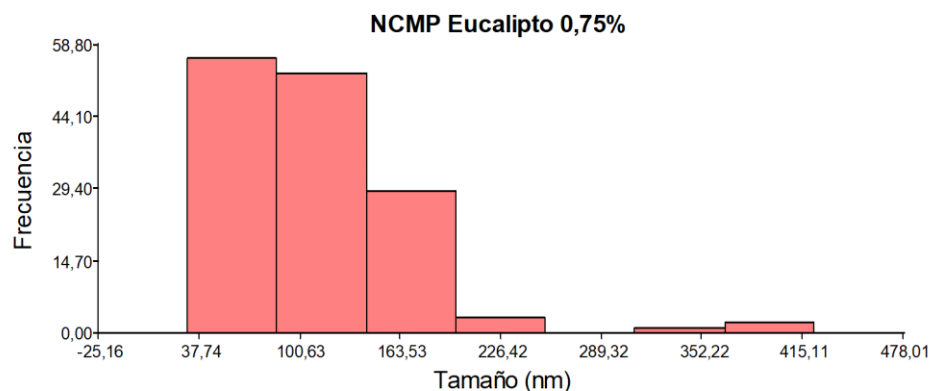
**Figura 18.**

*Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0.5%*



**Figura 19.**

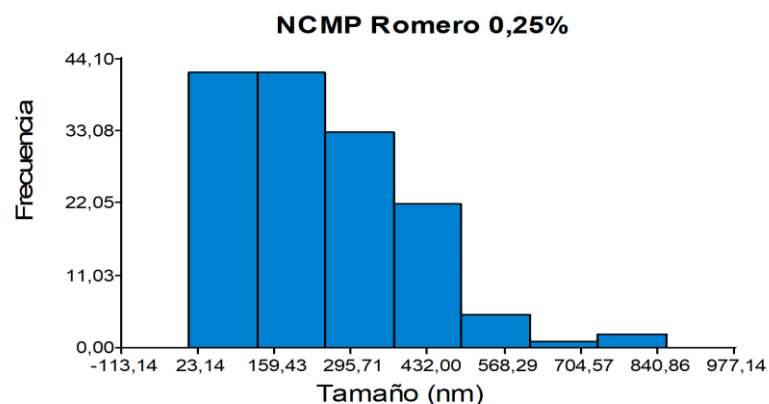
*Distribución de tamaño de los nanocompositos de eucalipto 0,75%*



Los nanocompositos de romero a la concentración de 0,25% mostraron una distribución del tamaño en un rango amplio de 8 nm a 856 nm con un diámetro medio de 241 nm (Figura 20). Los nanocompositos de romero a la concentración de 0,5% mostraron una distribución del tamaño en un rango de 12 nm a 759 nm con un diámetro medio de 364 nm (Figura 21). Los nanocompositos de romero a la concentración de 0,75% una distribución del tamaño en un rango de 189 nm a 1883 nm con un diámetro medio de 717 nm (Figura 22).

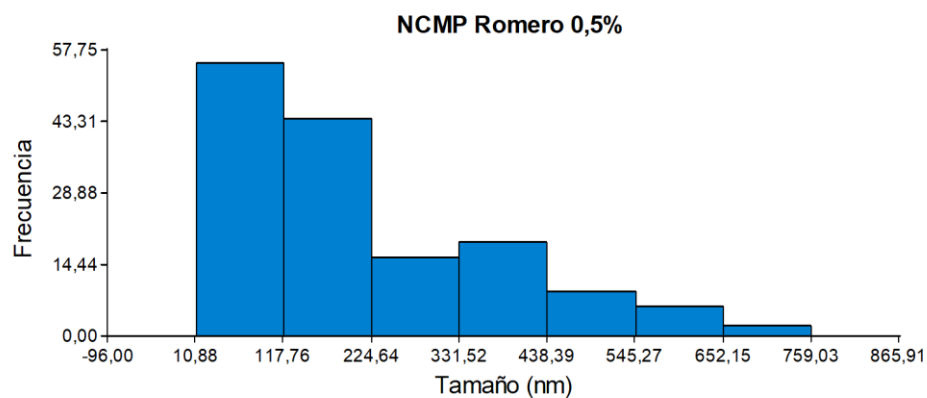
**Figura 20.**

*Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,25%*

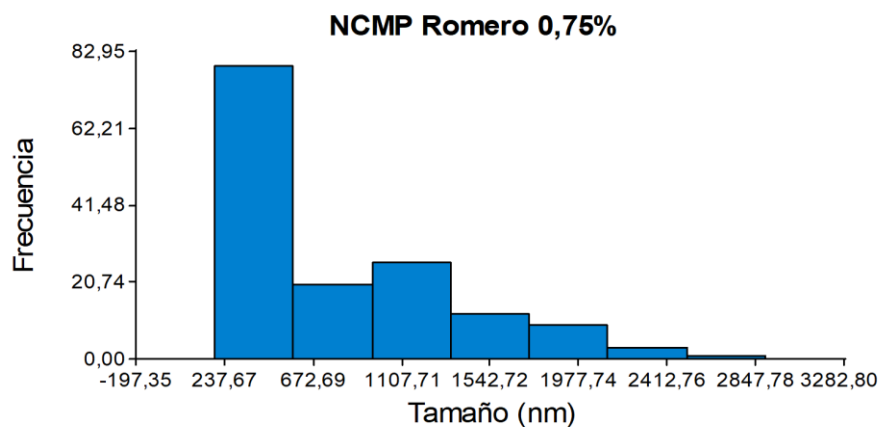


**Figura 21.**

*Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,5%*

**Figura 22.**

*Distribución de tamaño de los nanocompositos de romero 0,75%*



### **Estabilidad de los nanocompositos**

Los nanocompositos de eucalipto a la concentración de 0.25% y 0.5% mostraron una estabilidad por 30 días, puesto que no hubo disminución significativa de los picos de absorción del azufre cero valente y de los componentes del aceite esencial

(proantocianinas) (Figura 23 A y B). Por otra parte, en los nanocompositos de eucalipto a la concentración de 0.75% los picos de absorción del azufre y de las proantocianinas disminuyeron significativamente hasta el tercer día posterior a la síntesis. A partir de este día en adelante, los picos se mantuvieron constantes sin una disminución significativa (Figura 23C) .

Los nanocompositos de romero a las tres concentraciones: 0.25, 0.5% y 0.75% mostraron estabilidad por 30 días, puesto que no hubo disminución significativa de los picos de absorción del azufre cero valente y de los componentes del aceite esencial (ellagitaninos) (Figura 24).



Figura 23.

Análisis de estabilidad de los nanocompositos de eucalipto a diferentes concentraciones.

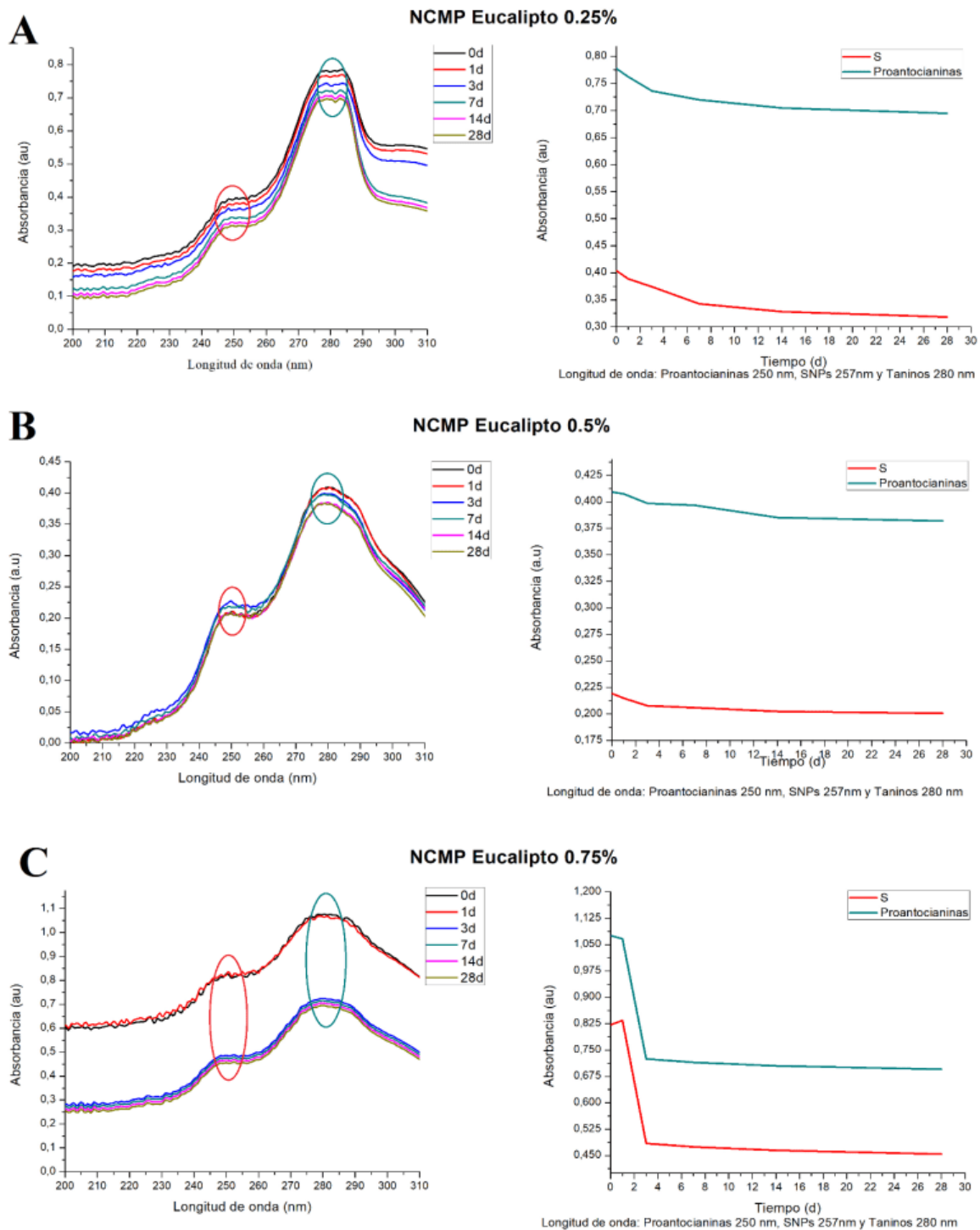
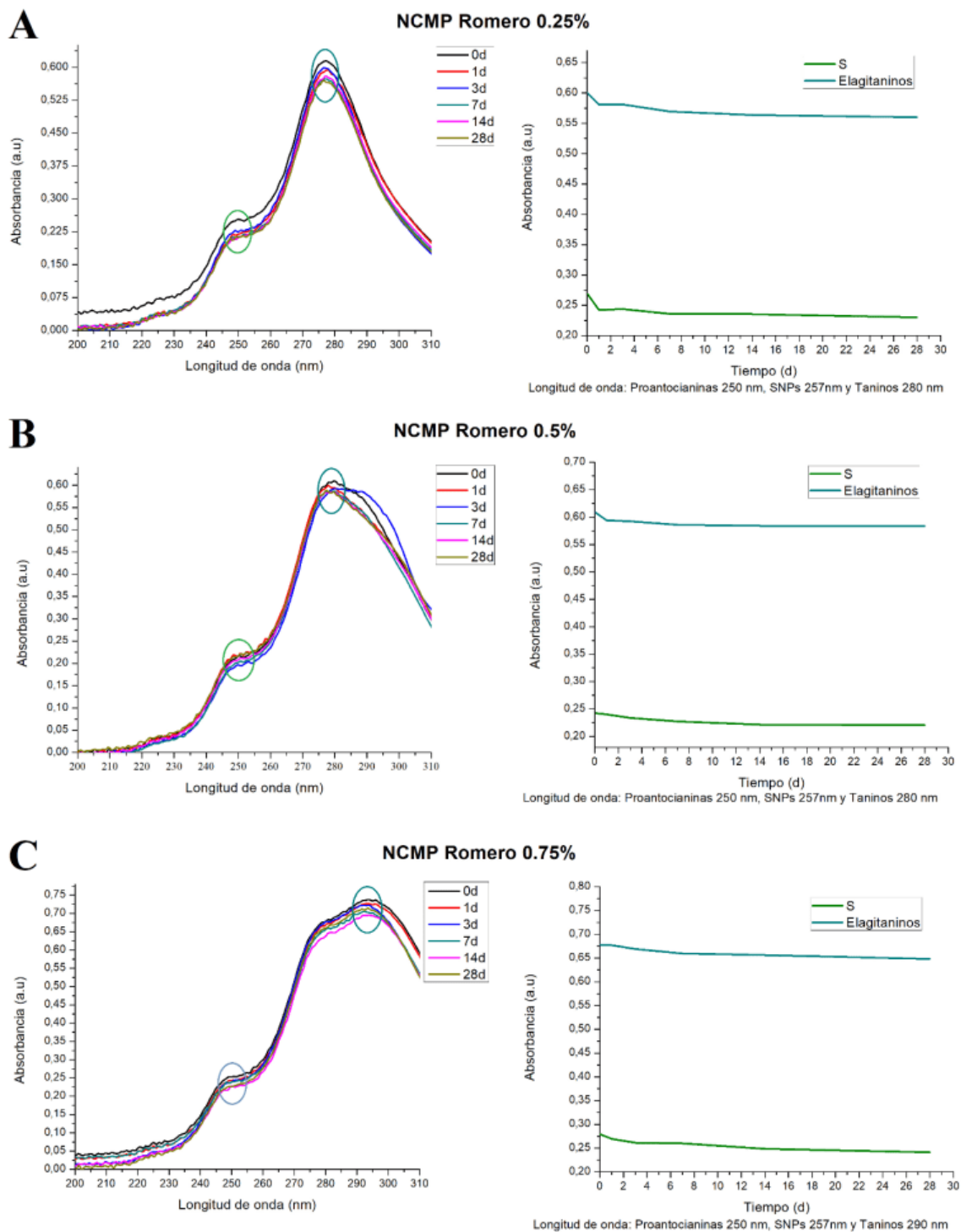


Figura 24.

Análisis de estabilidad de los nanocompositos de romero a diferentes concentraciones.



### **Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos.**

Los nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0.75%) presentaron un potencial efecto insecticida para el control de las ninfas del insecto paratrioza.

A las 24 horas, en los tratamientos con nanocompositos, se diferenciaron las ninfas muertas de las vivas, por su nula movilidad y el cambio en su apariencia, tornándose de un color marrón, indicando la muerte de las mismas (Figura 26 y Figura 27).

El tratamiento con Actara GW25 (40% Tiametoxam), presentó ninfas vivas del insecto hasta las 72 horas de evaluación (Figura 28).

El tratamiento del testigo absoluto, presentó el menor número de ninfas muertas, permitiendo diferenciar la eficacia insecticida de los demás tratamientos frente a este (Figura 29).

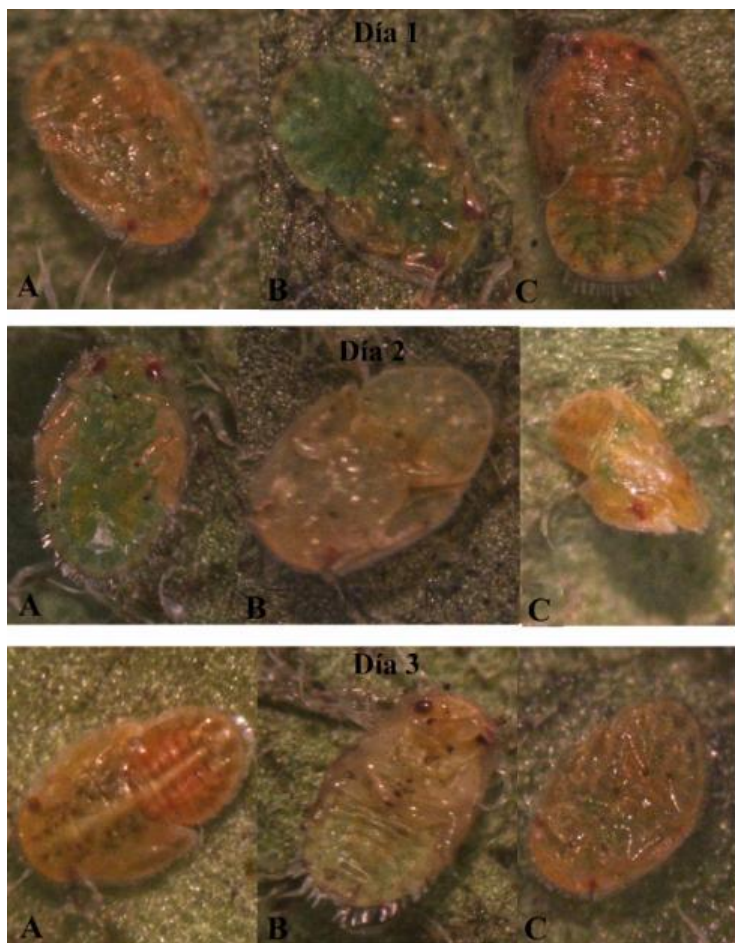
**Figura 25.**

*Ninfas de paratrioza vivas*



**Figura 26.**

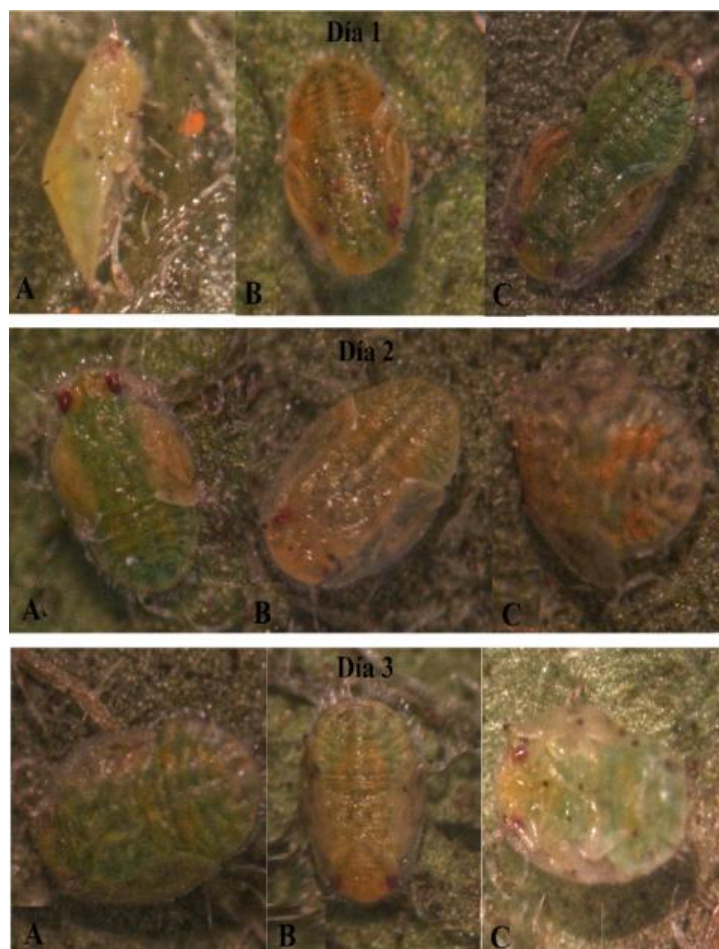
*Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de eucalipto.*



Nota. A) Eucalipto 0,25% B) Eucalipto 0,5% C) Eucalipto 0.75%

**Figura 27.**

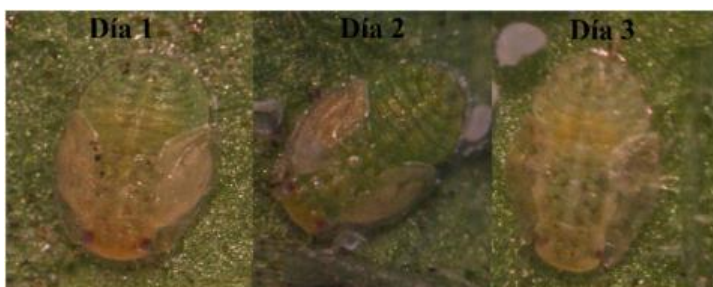
*Evaluación del efecto insecticida de nanocompositos de romero.*



Nota. A) Romero 0,25% B) Romero 0,5% C) Romero 0.75%

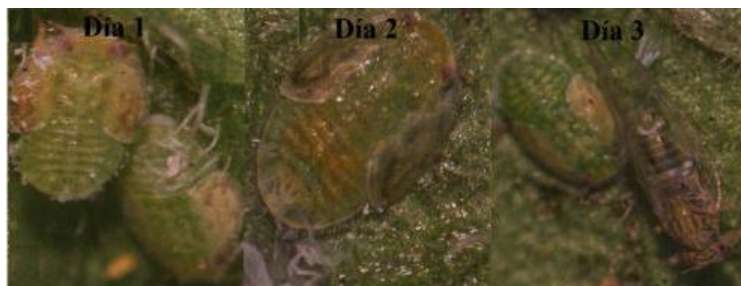
**Figura 28.**

*Evaluación del efecto insecticida de Actara GW25*



**Figura 29.**

*Evaluación del efecto insecticida del testigo absoluto*



El análisis de varianza mostró un efecto significativo de la interacción tratamiento x tiempo sobre la variable eficacia insecticida ( $F = 7,49$ ;  $p < 0,0001$ ) (Tabla 10).

**Tabla 10.**

*Análisis de varianza para los tratamientos y el tiempo sobre la eficacia insecticida para el control de ninfas de paratíoxa.*

	<b>Grados de Libertad</b>	<b>F-fisher</b>	<b>P-valor</b>
Tratamiento	7	253,30	<0,0001
Tiempo	2	27,23	<0,0001
tratamiento x tiempo	14	7,49	<0,0001

El análisis estadístico muestra que las medias de los tratamientos difieren estadísticamente. A las 24 horas, los tratamientos T1, T2, T3 Y T5 presentaron los valores más altos de eficacia insecticida de 100% a diferencia del resto de tratamientos, mientras que el tratamiento T8 presentó el menor valor de eficacia de 13,33% (Tabla 11).

**Tabla 11.**

*Promedio  $\pm$  error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratíoxa a las 24 horas*

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio de la eficacia insecticida</b>
<b>T1</b> = Eucalipto 0.25%	100 abcd
<b>T2</b> = Eucalipto 0.5%	100 ab
<b>T3</b> = Eucalipto 0.75%	100 abc
<b>T4</b> = Romero 0.25	90 bcdef
<b>T5</b> = Romero 0.5%	100 abc
<b>T6</b> = Romero 0.75%	96,67 abcde
<b>T7</b> = Tiametoxam 40%	50 h
<b>T8</b> = Testigo	13,33 j
<b>E.E</b> = Error estandar	3,33

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Se observa que las eficacias insecticidas de los tratamientos fueron incrementando con el transcurso del tiempo. A las 48 horas, los tratamientos que presentaron la mayor eficacia insecticida de 100%, fueron T1, T2, T3, T4 Y T5, mientras

que, el que presentó el menor porcentaje de eficacia fue el tratamiento T8 de 26,67% (Tabla 12).

**Tabla 12.**

*Promedio  $\pm$  error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratrioza a las 48 horas.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio de la eficacia insecticida</b>
<b>T1</b> = Eucalipto 0.25%	100 abcd
<b>T2</b> = Eucalipto 0.5%	100 ab
<b>T3</b> = Eucalipto 0.75%	100 abc
<b>T4</b> = Romero 0.25	100 ab
<b>T5</b> = Romero 0.5%	100 abcd
<b>T6</b> = Romero 0.75%	96,67 abcde
<b>T7</b> = Tiametoxam 40%	70 g
<b>T8</b> = Testigo	26,67 i
<b>E.E</b> = Error estandar	4,86

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

A las 72 horas después de la aplicación, se encontró que las medias de los tratamientos, difieren estadísticamente, donde los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 y T6 presentaron la mayor eficacia insecticida de 100%, por otra parte, el tratamiento T8 registró el menor valor de eficacia entre los tratamientos de 43,33% (Tabla 13).

**Tabla 13.**

*Promedio  $\pm$  error estándar de la eficacia insecticida de los tratamientos para el control de ninfas de paratrioza a las 72 horas.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio de la eficacia insecticida</b>
<b>T1</b> = Eucalipto 0.25%	100 a
<b>T2</b> = Eucalipto 0.5%	100ab
<b>T3</b> = Eucalipto 0.75%	100 abc
<b>T4</b> = Romero 0.25	100 abc
<b>T5</b> = Romero 0.5%	100abc
<b>T6</b> = Romero 0.75%	100 abc
<b>T7</b> = Tiametoxam 40%	83,33 f
<b>T8</b> = Testigo	43,33 h
<b>E.E</b> = Error estandar	1,67

*Nota.* Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

## Capítulo 5

### Discusión

#### Extracción de aceites esenciales

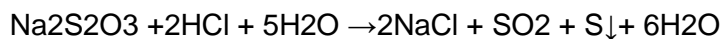
Se obtuvo los aceites esenciales de eucalipto y romero mediante el método de arrastre por vapor (Figura 8). Este proceso emplea el vapor saturado que se burbujea a través del material vegetal que contiene los aceites esenciales, estos se volatilizan en el vapor y se arrastran hacia el condensador donde se obtiene dos fases inmiscibles, el aceite esencial y el hidrodestilado (Zeki, 2018).

Las propiedades de los aceites esenciales concuerdan con la bibliografía, donde se menciona que los rendimientos de los aceites esenciales varían en el rango de 0.5 a 3 % según la época de la recolección, el lugar geográfico o pequeños cambios genéticos de la especie (Achmad et al., 2018). El rendimiento de aceite esencial de eucalipto (1.51%) y romero (1.10%) obtenidos están dentro del rango. El índice de refracción del aceite de eucalipto (1.4512) concuerda con la bibliografía que menciona valores en el rango de 1.450 a 1.470 (Patty & Loupatty, 2016). Al igual que el índice de refracción del aceite esencial de romero (1.4695) con valores que varían entre 1.4640 a 1.478 (Santos, Rossato, Pauletti, & Fernandes, 2005). La densidad del aceite esencial de eucalipto (0.8664) y romero (0.8111) obtenidos presentan valores menores a la unidad como menciona (Dhifi et al., 2016).

#### Síntesis de nanopartículas de azufre

El pico obtenido a los 257 nm indica la exitosa formación de las SNPs. Tripathi et al. (2018) menciona que el azufre presenta un pico de absorción óptico en el rango de 250 a 280 nm.

El análisis de espectroscopia dispersiva de energía (EDS) mostró la presencia de azufre cero valente de las nanopartículas, y los otros elementos correspondientes a los subproductos de la reacción de reducción de tiosulfato para la síntesis de las nanopartículas (Chaudhuri & Paria 2010):



El tamaño del diámetro promedio de las nanopartículas (10 nm) y su forma esférica concuerdan con los resultados obtenidos por Chaudhuri & Paria (2010) quienes sintetizaron las SNPs por el mismo método de precipitación controlada.

### **Síntesis de nanocompositos**

Los espectros de absorción UV de los aceites esenciales muestran la presencia de taninos, en un pico de absorción entre los 200 a 300 nm, típico para el sistema de anillo de benceno condensado, en el que la conjugación se realiza entre el grupo aromático y el grupo carbonilo, doble enlace o heteroátomo (Sirvaityte, Siugzdaite, & Valeika, 2011). El pico de absorción UV obtenido para el aceite esencial de eucalipto a los 280 nm, corresponde a los taninos condensados (proantocianinas). Cadahia et al. (1997) indica que a un máximo de absorción de 280 nm es característico de las proantocianidinas, cadenas poliméricas de flavonoides como las catequinas.

El pico de absorción UV obtenido para el aceite esencial de romero entre los 280 nm y 300nm, corresponde a los taninos (hidrolizables) elagitaninos. Vázquez et al. (2008) han determinado que el aceite esencial de romero muestra un pico de absorción mayor a 270 nm y máximo a 300 nm característico de elagitaninos. Estos compuestos



son derivados del ácido elágico, en particular, hexahidroxidifenilo ésteres con carbohidratos (Cadahia, et al., 1997).

La estructura de los nanocompositos corresponde a una nanomicela, compuesta por dos fases inmiscibles y un cotensoactivo como se observó en las imágenes de STEM (Figura 15 y Figura 16). La fase acuosa correspondiente a las nanopartículas de azufre, y la fase oleosa correspondiente a los aceites esenciales de eucalipto y romero respectivamente. El etanol empleado actúa como un cotensoactivo, ya que al ser una molécula anfifílica, con una cadena hidrocarbonada y un grupo hidroxilo es capaz de disminuir la tensión interfacial entre las dos fases inmiscibles formándose la micela (Pavoni, et al., 2020).

Los resultados de tamaño y morfología mostraron que los nanocompositos de romero a las tres concentraciones (0.25%, 0.5% y 0.75%) son más esféricas (Figura 16D) y de mayor tamaño que los nanocompositos de eucalipto. Pavoni et al. (2020) menciona que por lo general las nanomicelas presentan forma esférica por la reducción del área interfacial como consecuencia del pequeño radio y la alta tensión interfacial. Además la forma esférica o no dependerá de la correcta formación del nanomaterial, del tipo y la cantidad de cotensoactivo y la cantidad de aceite empleado (Bonacucina, Cespi, Misici-falzi, & Palmieri, 2009).

Se observó que en todos los nanocompositos sintetizados a medida que incrementa el % de concentración de aceite esencial de eucalipto y romero respectivamente, el tamaño de los nanocompositos también incrementa. Jafari et al. (2008) indica que el tamaño de los nanocompositos dependerá de la presencia de aceites con baja viscosidad y tensión interfacial. Aziz, Nasir, & Ahmad (2019)

encontraron que la viscosidad y concentración en peso del aceite esencial están relacionados, la viscosidad de la fase oleosa aumenta a medida que aumenta la concentración de aceite esencial. Cuando se compara la viscosidad con el análisis del tamaño, hay un aumento significativo del tamaño de los nanocompositos a medida que la viscosidad de la fase oleosa aumenta por el aumento del porcentaje de concentración de aceite esencial.

### **Estabilidad de los nanocompositos**

La estabilidad de los nanocompositos por 30 días a temperatura ambiente se debe al polímero empleado PEG 6000 para su recubrimiento. Como se observó en el ensayo con espectroscopia UV-Vis (Figura 23 y Figura 24), no hubo disminución significativa de los picos de absorción del azufre cero valente y de los componentes de los aceites esenciales (proantocianinas y ellagitaninos) en los nanocompositos a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0,75%). Varias investigaciones han informado que un recubrimiento de PEG alrededor de los nanomateriales ayuda a mejorar la estabilidad (Yang et al., 2009). El PEG, es un polímero hidrofílico, fácilmente soluble en agua, la presencia de sus cadenas poliméricas como agentes estabilizantes evita que los nanomateriales se sedimenten y se aglomeren excesivamente por la creación de repulsión estérica y la mejora en la dispersión de las mismas (Díaz, Nuñez, Espinoza, & Flores, 2016) .

Por otra parte, Díaz et al. (2016) menciona que la nanoencapsulación aumenta la estabilidad física de los aceites esenciales, disminuye la volatilidad, la degradación y la protege de las interacciones ambientales. Yang et al. (2009) obtuvieron resultados

similares de estabilidad empleando PEG para cubrir aceite esencial de ajo, cargado con NPs poliméricas.

### **Evaluación del efecto insecticida de los nanocompositos.**

Los nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0,75%). presentaron un efecto insecticida óptimo para el control de las ninfas de paratrioza. Salavatierra (2015) menciona que la nanoencapsulación mejora la eficacia insecticida, debido a la mayor área de superficie y mayor especificidad, proporcionando un mayor contacto de la sustancia activa con la superficie del insecto.

El mecanismo de acción de los nanocompositos para el control de las ninfas de paratrioza puede deberse a la penetración efectiva de los mismos a través de los poros y microfibrillas de la cutícula del insecto, liberándose el aceite esencial y las nanopartículas de azufre elemental del nanocomposito, interfiriendo con la biología, fisiología y sistema nervioso del insecto (Benelli, 2018).

Se ha reportado el uso del azufre elemental como insecticida en el control de ninfas del insecto paratrioza (Zarate, 1988). Otros autores reportan el uso de nanopartículas de azufre en la mortalidad de larvas, pupas y adultos de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (Araj et al., 2015).

Ibrahim (2019) afirma que los aceites nanoencapsulados tienen una actividad química y mayor movilidad, lo que permite la penetración en los tejidos de los insectos a través de la cutícula o por ingestión y penetración a través del tracto digestivo; mejorado la actividad insecticida del aceite esencial.

Khoobdel, Ahsaei, & Farzaneh (2017) encontraron que nanoformulaciones cargadas de aceite esencial de romero muestran una actividad insecticida significativa para el manejo efectivo del escarabajo rojo *Tribolium castaneum*. Otro estudio afirmó que nanoemulsiones cargadas de aceite esencial de eucalipto presentaron una actividad insecticida contra *Tribolium castaneum* y *Sitophilus oryzae* en cultivos de arroz (Adak et al., 2020).

## Capítulo 6

### Conclusiones

- El método de arrastre por vapor, permitió obtener aceites esenciales de eucalipto y romero con valores de rendimiento (eucalipto 1.51% y romero 1.10%), índice de refracción (eucalipto 1.4512 y romero 1.4695) y densidad (eucalipto 0.8664 y romero 0.8111) dentro de los rangos que menciona la bibliografía.
- Se sintetizaron nanopartículas de azufre esféricas y de diámetro promedio de 10nm mediante el método de precipitación controlada que reduce el tiosulfato pentahidratado a azufre cero valente.
- Se sintetizaron nanocompositos de eucalipto y romero a tres concentraciones diferentes de aceite esencial (0.25%, 0.5% y 0.75%) respectivamente.
- La estructura de los nanocompositos sintetizados corresponden a una nanomicela compuesta por la fase acuosa (nanopartículas de azufre), y la fase oleosa (aceites esenciales de eucalipto y romero), utilizando como cotensoactivo etanol absoluto.
- Los nanocompositos de romero a las tres concentraciones (0.25%, 0.5% y 0.75%) son más esféricos y de mayor tamaño que los nanocompositos de eucalipto.
- Un aumento en la concentración de aceite esencial de eucalipto y romero, incrementa el tamaño de los nanocompositos, ya que la viscosidad de la fase oleosa aumenta a medida que aumenta la concentración del aceite.
- Se logró la estabilidad de los nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0,75%) durante 30 días y a temperatura ambiente, gracias a las cadenas poliméricas del PEG 6000 empleado como agente estabilizante.

- Los nanocompositos de eucalipto a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0.75%) y de romero a la concentración de 0.5%, presentan la mayor eficacia insecticida para el control de las ninfas del insecto paratrioza, a las 24 horas posterior a su aplicación.
- La eficacia insecticida de los nanocompositos de romero a la concentración de 0.25% y 0.75% fue incrementando con el transcurso del tiempo, llegando al 100% a las 24 y 72 horas respectivamente.
- Los nanocompositos de eucalipto y romero a las tres concentraciones (0.25, 0.5 y 0.75%), presentan mayor eficacia en el control de las de las ninfas del insecto paratrioza, que el insecticida de uso comercial Actara GW25 (40% Tiametoxam).

## Capítulo 7

### Recomendaciones

- Se recomienda hacer una caracterización para determinar los grupos funcionales y cuantificar los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales de eucalipto y romero.
- Se recomienda sintetizar nanocompositos a concentraciones de aceite esencial de eucalipto y romero menores a las empleadas en esta investigación. Además de la posterior evaluación del efecto insecticida de estos.
- Se recomienda un mayor estudio de la estabilidad de los nanocompositos posterior a los 30 días de su síntesis, evaluando diferentes temperaturas, humedades relativas y pH que simule las condiciones de campo.
- Es necesario estudios que evalúen los posibles efectos tóxicos de los nanocompositos en la planta y su bioacumulación en el suelo.
- Se recomienda ensayos de campo para la evaluación insecticida de los nanocompositos.

## Capítulo 8

### Bibliografía

- Abad, M., Ansuategui, M., & Bermejo, P. (2007). Active antifungal substances from natural sources. *ARKIVOC*, 116-145.
- Achmad, H., Rana, H., Fadilla, I., Fajar, A., Manurung, R., & Abduh, Y. (2018). DETERMINATION OF YIELD, PRODUCTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF EUCALYPTUS OIL FROM DIFFERENT SPECIES AND LOCATIONS IN INDONESIA. *Biological and Natural Resources Engineering Journal*, 36-49.
- Adak, T., Barik, N., Patil, N. B., Gadratagi, B. G., Annamalai, M., Mukherjee, A. K., & Rath, P. C. (2020). Nanoemulsion of eucalyptus oil: An alternative to synthetic pesticides against two major storage insects (*Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)) of rice. *Industrial Crops and Products*, 143.
- Araj, S. E., Salem, N. M., Ghabeish, I. H., & Awwad, A. M. (2015). Toxicity of nanoparticles against *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Nanomaterials*.
- Aziz, Z., Nasir, H., & Ahmad, A. (2019). Enrichment of Eucalyptus oil nanoemulsion by micellar nanotechnology: transdermal analgesic activity using hot plate test in rats' assay. . *Sci Rep*, 1-16.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 446-475.



- Benelli, G. (2018). Mode of action of nanoparticles against insects. *Environmental Science and Pollution Research*, 12329-12341.
- Bonacucina, G., Cespi, M., Misici-falzi, M., & Palmieri, G. (2009). Colloidal Soft Matter as Drug Delivery System. *J. Pharm. Sci.*, 1-42.
- Bujanos, M. R., & Ramos, R. C. (2015). *El psílido de la papa y tomate Bactericera (= Paratrioza) cockerelli (Sulc)(Hemiptera: Triozidae): ciclo biológico; la relación con las enfermedades de las plantas y la estrategia del manejo integrado de plagas en la región del OIRSA*. Corporativo Editorial Tauro SA de CV.
- Butler, C. D., & Trumble, J. T. (2012). The potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc)(Hemiptera: Triozidae): life history, relationship to plant diseases, and management strategies. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 87-111.
- Cadahia, E., Conde, E., Garcia-Vallejo, M. C., & de Simón, B. F. (1997). Tannin composition of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. Part I. *Wood. Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 119-124.
- Chaudhuri, R. G., & Paria, S. (2010). Synthesis of sulfur nanoparticles in aqueous surfactant solutions. *Journal of colloid and interface science*, 439-446.
- Crizón, M. (2017). *Identificación molecular del fitoplasma causante de la punta morada de la papa y ensayos de resistencia sistémica adquirida*. Quito: Universidad Central del Ecuador.
- Cuesta, X., Peñaherrera, D., Velásquez, J., & Castillo, C. (2018). *Guía de Manejo de la punta morada de la papa*. INIAP.

- Datiles, J., & Rodriguez, P. (22 de Noviembre de 2014). *CABI.org*. Obtenido de Invasive Species Compendium: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/47678#2F1D88EF-21EF-4FDA-A708-C17EDEEDB314>
- DeWalt, K. M., & Uquillas, J. (1989). Potato Production and Consumption in the Sierra of Ecuador: A Diagnostic Survey Conducted by the Nutrition and Agriculture Cooperative Agreement. *Culture & Agriculture*, 6-11.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 25-29.
- Díaz, C., Nuñez, G. A., Espinoza, H., & Flores, L. Z. (2016). Effect of molecular weight of PEG or PVA as reducing-stabilizing agent in the green synthesis of silver-nanoparticles. *European Polymer Journal*, 265-277.
- El Wakeil, N., Alkahtani, S., & Gaafar, N. (2017). Is nanotechnology a promising field for insect pest control in IPM programs? *In New Pesticides and Soil Sensors* , 203-209.
- ESPAC, E. d. (2018). *SUPERFICIE SEGÚN PRODUCCIÓN Y VENTAS DE PAPA*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.
- Ghormade, M., Deshpande, V., & Paknikar, K. (2011). Perspectives for nanobiotechnology enables protection. *Biotechnology Advances*, 792-803.
- Gnanasekaran, C. G., & Basalingappa, K. M. (2018). *Solanum tuberosum* L: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *International Journal of Phytomedicine*, 115-124.

- Grieve, M. (4 de Abril de 2020). *Botanical*. Obtenido de Botanical.com:  
<https://www.botanical.com/botanical/mgmh/e/eucaly14.html>
- Guillén, A. (2009). *Azúfres de uso Agrícola (fungicidas)*. . Buenos Aires: El Cid Editor.
- Guzmán, C. C. (1999). *Rosmarinus officinalis L. . Prosea: Plant Resources of South East Asia*, 194-197.
- Hawkes, J. G. (1992). *History of the potato*. Dordrecht: Harris P.M. (eds) The Potato Crop. World Crop Series. Springer.
- Huarte, M., & Capezio, S. (01 de Agosto de 2013). *ResearchGate*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-La-planta-de-papa-y-sus-partes-Adaptado-del-Centro-Internacional-de-la-Papa\\_fig1\\_256195293](https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-La-planta-de-papa-y-sus-partes-Adaptado-del-Centro-Internacional-de-la-Papa_fig1_256195293)
- Ibrahim, S. S. (2019). Essential oil nanoformulations as a novel method for insect pest control in horticulture. *Horticultural crops*.
- INIAP, I. N. (2018). *Guía de manejo de la punta morada de la papa*. Quito: Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 603-608.
- Jafari, S., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy. *Food Hydrocoll*, 1191–1202.
- Khan, A. M., Khatun, S., Hossain, M. K., & Rahman, M. L. (2012). Characterization of the eucalyptus (e. Globulus) leaves oil. *Journal of the Bangladesh chemical society*, 97-100.

- Khoobdel, M., Ahsaei, S. M., & Farzaneh, M. (2017). Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with *Rosmarinus officinalis* essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Entomological research*, 175-184.
- King, S., & Jarvie, H. (14 de Mayo de 2019). *Encyclopædia Britannica*. Obtenido de Encyclopædia Britannica, inc: <https://www.britannica.com/science/nanoparticle>
- Kiran, S., & Prakash, B. (2015). Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Industrial Crops and Products*, 817-823.
- Knowlton, G. F., & Janes, M. (1931). Studies on the biology of *Paratrioza cockerelli* (Sulc). *Ann. Entomol. Soc. Am.* , 283-291.
- Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Kesdek, M., Kaya, Y., & Kilic, H. (2008). Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC ex Benth. *Biochem. System. . Ecol*, 360-368.
- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., & Satya, S. (2012). Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). *Acta tropica*, 212-218.
- Lugo, E., García, C., & Ruelas, R. D. (2010). Nanotecnología y nanoencapsulación de plaguicidas. *Ximhai*, 63-67.
- Maciel, M. V., Silva, R. A., Barros, R. S., Sousa, R. N., & Souza-Neto, M. A. (2010). Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary parasitology*, 1-7.

- MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2019). *Informe de rendimientos objetivos de papa en el Ecuador 2018*. Quito: Dirección de Análisis de Información Agropecuaria.
- Miresmailli, S., Bradbury, R., & Isman, M. (2006). Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 366-371.
- Montesdeoca, F., Panchi, N., Navarrete, I., Pallo, E., Yumisaca, F., & Taipe, A. (2013). *Guía Fotográfica De Las Principales Plagas Del Cultivo De Papa En Ecuador*. Perú: CIP.
- Munyaneza, J. E., Crosslin, M. J., & Upton, J. E. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “zebra chip,” a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 656-663.
- Murray, B., Wilson, J. A., & Bradbury, R. (2008). Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*.) against larvae of *Pseudaletia unipuncta*. and *Trichoplusia ni*. in relation to their chemical compositions. *Pharmaceutical Biology*, 82-87.
- Okpala, C. C. (2013). Nanocomposites—an overview. *International Journal of Engineering Research and Development*, 17-23.
- Pant, M., Dubey, S., Patanjali, P. K., Naik, S. N., & Sharma, S. (2014). Insecticidal activity of eucalyptus oil nanoemulsion with karanja and jatropha aqueous filtrates. *Biodeterioration & Biodegradation*, 119-127.

- Patil, V., Siddappa, S., Kawar, P., & Bhardwaj, V. (2016). *Biology of Solanum tuberosum (Potato)*. New Delhi: Series of Crop Specific Biology Document.
- Patty, D. J., & Loupatty, G. (2016). Analysis Of Eucalyptus Oil Distillates Traditionally. *Biological and Chemical Research*, 295-302.
- Pavoni, L., Perinelli, D. R., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). An Overview of Micro-and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils: Formulation, Preparation and Stability. *Nanomaterials*, 35.
- Pérez, W., & Forbes, G. (2011). *Guía de identificación de plagas que afectan a la papa en la zona andina*. International Potato Center.
- Pletsch, D. J. (1947). The potato psyllid *Paratrioza cockerelli* (Sulc), its biology and control. *Agricultural Experiment Station Bulletin*, 446.
- Prajapati, V., Tripathi, A. K., Aggarwal, K. K., & Khanuja, S. P. (2005). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource technology*, 1749-1757.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *El cultivo de la papa en Ecuador*. Editorial Abya Yala.
- Püntener, W., & Zahner, O. (1981). *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*. Italia: CIBA-Geigy.
- Quinzi, M., & Di Francesco, G. (6 de Abril de 2020). *Nanocompositech*. Obtenido de <http://www.nanocompositech.com/glossary-nanocomposite-nanotechnology.htm>
- Renobales, G., & Sallés, J. (2001). *Plantas de interés farmacéutico*. Aberasturi.

- Sacbaja, E. (2014). *Evaluación de insecticidas en diferentes aplicaciones al follaje y aplicaciones al suelo para el control de paratrioza (Bactericera cockerelli) en el cultivo de papa (Solanum tuberosum), diagnóstico y servicios realizados en Bayer SA, Departamento de Desa. San Carlos: Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala.*
- Sahoo, S. (2014). Use of nanotechnology in agriculture. *Science Horizon*(19), 577 – 581.
- Salavarieta, P. (2015). Nanobiotecnología y sus potenciales aplicaciones en la agricultura. *Nanotecnología: fundamentos y aplicaciones*S, 223.
- Santos, C., Rossato, M., Pauletti, G., & Fernandes, L. (2005). Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 1035-1039.
- Sinchi, E. M. (2015). *Diagnóstico de la cadena agroindustrial de la papa para el procesamiento de hojuelas de colores en inalproces con productores del conpapa–Tungurahua procedentes de tres zonas.* Universidad Central del Ecuador.
- Sirvaityte, J., Siugzdaite, J., & Valeika, V. (2011). Application of commercial essential oils of eucalyptus and lavender as natural preservative for leather tanning industry. *Revista de Chimie*, 884-893.
- Suleiman, M., Al Ali, A., Hussein, A., Hammouti, B., Hadda, T. B., & Warad, I. (2013). Sulfur nanoparticles: Synthesis, characterizations and their applications. *J. Mater. Environ. Sci*, 1029-1033.

- Tripathi, R. M., Rao, R. P., & Tsuzuki, T. (2018). Green synthesis of sulfur nanoparticles and evaluation of their catalytic detoxification of hexavalent chromium in water. *RSC advances*, 36345-36352.
- Tropicos. (4 de Abril de 2020). *Tropicos.org*. Obtenido de Missouri Botanical Garden: <http://www.tropicos.org/Name/22101717>
- Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M. S., González-Álvarez, J., & Antorrena, G. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*, 279-285.
- Yang, F. L., Li, X. G., Zhu, F., & Lei, C. L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of agricultural and food chemistry*, 10156-10162.
- Zarate, R. (1988). Uso del azufre en la sanidad de plantas animales y humanos. *El azufre en la Agricultura* (págs. 28-30). Palmira: CIAT.
- Zeki, B. (2018). *Food Process Engineering and Technology*. Israel: Elsevier Inc.



