

**Eficiencia del bio- insecticida hecho a partir de la extracción de la *Azadiractina* aplicado
a *Drosophila melanogaster* en estado adulto.**

Elaborado por:

Julieth Stefania Castañeda Pedraza

Kelly Sarely Orjuela Gómez

Sofia Osorio Cruz

Universidad Ean

Escuela de Formación en Investigación Proyecto de Investigación de Pregrado

Bogotá, 2023

RESUMEN.

El presente proyecto de grado se enfoca en el desarrollo y evaluación de la eficiencia del bio-insecticida a base de la extracción de la *Azadiractina*, con el objetivo de ofrecer una alternativa efectiva y segura para el control de plagas en la agricultura. La *Azadiractina*, es un compuesto orgánico que se encuentra dentro de las semillas del árbol de Neem y ha demostrado su reconocimiento dentro de la actividad agrícola por su capacidad de combatir diversas plagas de insectos.

Inicialmente, se emplea la metodología de la recolección de las semillas de Neem y la extracción de la *Azadiractina* utilizando un proceso unitario de molienda. Luego de esto se aplica el bio-insecticida elaborado a partir de las semillas de Neem, ajo, etanol al 40% y cascara de limón y naranja; se comienza a documentar cuidadosamente la presencia de letalidad del cultivo, registrándolo en un libro de cálculo, donde se estipula la cantidad de moscas que mueren o sobreviven tras la aplicación del bio-insecticida, este proceso se realiza con el fin de evaluar la eficiencia del producto y su potencial como alternativa para el control de plagas en la agricultura.

En consecuencia, se obtuvieron los resultados los cuales fueron altamente positivos, evidenciando una notable eficiencia en el control de la población objetivo y adicionalmente, se observó que no hubo efectos adversos en las moscas adultas que no se encontraban expuestas al bio-insecticida; estos hallazgos respaldan la utilidad de la *Azadiractina* como una fuente alternativa que es segura y efectiva a comparación de los insecticidas químicos en la agricultura.

Palabras claves: Bio-insecticida, *Azadiractina*, DL50, DL90, *Drosophila Melanogaster*.

ABSTRACT.

This degree work focuses on the development and evaluation of the efficiency of the bioinsecticide based on the extraction of *Azadirachtin*, with the aim of offering an effective and safe alternative for the control of pests in agriculture. *Azadirachtin* is an organic compound found within the seeds of the Neem tree and has shown its recognition within agricultural activity for its ability to combat various insect pests.

Initially, the Neem seed collection and *Azadirachtin* extraction methodology is used through a unitary grinding process. Then the bioinsecticide based on Neem seeds, garlic, 40% ethanol and lemon and orange peel is applied; the presence of lethality of the crop begins to be carefully documented, recording it in a computer book, where the number of flies that die or survive after the application of the bioinsecticide is stipulated, this process is carried out in order to evaluate the efficiency of the product and its potential as an alternative for pest control in agriculture.

Consequently, highly positive results were obtained, evidencing a notable efficiency in the control of the target population and additionally, it was observed that there were no adverse effects in adult flies that were not exposed to the bioinsecticide; These findings support the utility of *Azadirachtin* as an alternative source that is safe and effective compared to chemical insecticides in agriculture.

Keywords: bioinsecticide, *Azadirachtin*, LD50, LD90, *Drosophila Melanogaster*.

TABLA DE CONTENIDO.

1.INTRODUCCIÓN	8
2. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	10
2.1 OBJETIVO GENERAL	10
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3. JUSTIFICACIÓN	11
4. ANTECEDENTES	13
5. MARCO CONCEPTUAL	22
5.1 Arbol de Neem	26
5.2 <i>Azadiractina</i>	27
5.2.1 Propiedades químicas del principio activo <i>Azadiractina</i>	28
5.3 Biocontrol de insectos	30
5.4 Ingredientes activos y modos de acción	30
5.5 Árbol de problemas	32
6. DISEÑO METODOLOGICO	34
6.1 Diseño de investigación:	34
6.2 Tipo de diseño transversal:	34
7. INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	35
7.1 Procedimiento	36
7.2 Diagrama de flujo para cada fase del experimento	40
7.2.1 Preparación del medio cultivo	40
7.2.2 Extracción de la <i>Azadiractina</i>	45
7.2.3 Bioensayo en superficie	47
7.2.4 Diseño experimental	58
8. DEFINICION DE VARIABLES	59
8.1 Población y muestra	60
9. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	62
10. HIPOTESIS	63
10.1 HIPÓTESIS NULA:	63
10.2 HIPÓTESIS ALTERNA:	63
11. ANÁLISIS DE RESULTADOS	64
11.1. Muestras con flujo de aire y luz	64
11.2. Muestras sin flujo de aire y luz	66
12. ANÁLISIS DE HIPOTESIS	75
13. CONCLUSIONES:(media página)	77
14. OBSERVACIONES	79
15. BIBLIOGRAFIA	80

LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según categoría toxicología.	14
Tabla 2. Definición operativa de los tipos de casos.	15
Tabla 3. Tasas de mortalidad debida a intoxicaciones con plaguicidas, Colombia, 1998-2011.	16
Tabla 4. Indicadores y parámetros considerados en la obtención del valor de los componentes de la ecuación del CIA.....	16
Tabla 5. Porcentaje de uso a nivel regional, valores del CIA y su nivel de peligro, y valores del IAT en las áreas de estudio de los fungicidas (F) y bactericidas (B) registrados en las encuestas.....	18
Tabla 6. Porcentaje de uso a nivel regional, valores del CIA y su nivel de peligro, y valores del IAT en las áreas de estudio de los insecticidas (I) registrados en las encuestas.	19
Tabla 7. Efectividad del bioinsecticida hecho a partir de la Azadiractina en diversos grupos de insectos con dosis letal media.	20
Tabla 8. Diseño experimental con 60 ejemplares de <i>Drosophila Melanoganster</i> en un espacio abierto con flujo de aire y luz.....	58
Tabla 9. Diseño experimental con 60 ejemplares de <i>Drosophila Melanoganster</i> en un espacio cerrado sin flujo de aire ni luz.....	58
Tabla 10. Identificación y descripción de variables.	59
Tabla 11. Resultados del experimento para las muestras con flujo de aire y luz.	66
Tabla 12. Resultados del experimento para las muestras sin flujo de aire y luz.	68
Tabla 13. Resultados del experimento final con alcohol al 70%.	74
Tabla 14. Comparación de medias de los ensayos con flujo de aire y luz.	75
Tabla 15. Comparación de medias de los ensayos sin flujo de aire y luz.	75

LISTA DE ILUSTRACIONES.

Ilustración 1. Árbol de Neem.	26
Ilustración 2. Propiedades químicas de la Azadiractina.	29
Ilustración 3. Cultivo de <i>Drosophila Melanoganster</i> distribuido por lotes.	35
Ilustración 4. Molino manual implementado para triturar 30 semillas de Neem.	36
Ilustración 5. Rayadura de media cáscara de limón.	37
Ilustración 6. Rayadura de media cáscara de naranja.	37
Ilustración 7. Cantidad de ajos utilizados para el bioinsecticida.	38
Ilustración 8. Semillas, cáscaras y ajos triturados en 300 ml de Vodka.	38
Ilustración 9. Almacenamiento del bioinsecticida durante 7 días.	39
Ilustración 10. Filtrado del Bioinsecticida a base de las semillas de Neem.	40
Ilustración 11. Trozos o cáscaras de frutas y cítricos en el recipiente de vidrio.	42
Ilustración 12. Cultivo de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de vidrio.	42
Ilustración 13. Cultivo de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de plástico transparente.	43
Ilustración 14. Cantidad de moscas de la fruta transcurrida una semana después de la recolección en recipiente de vidrio.	43
Ilustración 15. Cantidad de moscas de la fruta transcurrida una semana después de la recolección en recipiente de plástico.	44
Ilustración 16. Aumento de la población de <i>Drosophila Melanoganster</i> durante 1 mes en recipiente de vidrio.	45
Ilustración 17. Aumento de la población de <i>Drosophila Melanoganster</i> durante 1 mes en recipiente de plástico.	45
Ilustración 18. Extracto de la Azadiractina presente en las semillas de Neem.	46
Ilustración 19. Cantidad de recipientes necesarios para el experimento.	48
Ilustración 20. Materiales para la preparación de la comida de cada muestra.	48
Ilustración 21. Adición de la fruta procesada a cada una de las 12 muestras.	49
Ilustración 22. Alimentación de los insectos en cada recipiente.	49
Ilustración 23. Muestras con espacio abierto y flujo de aire.	50
Ilustración 24. Muestras con espacio cerrado y sin flujo de aire.	50
Ilustración 25. Muestra con caucho blanco y negro.	51
Ilustración 26. Cultivo de <i>Drosophila Melanoganster</i> dormidos en frío en recipiente de vidrio.	52
Ilustración 27. Cultivo de <i>Drosophila Melanoganster</i> dormidos en frío en recipiente plástico transparente.	52
Ilustración 28. Extracción y conteo de las 10 especies para cada muestra.	53
Ilustración 29. Material que se utiliza para ingresar los insectos en cada muestra.	54
Ilustración 30. Muestra completa de los recipientes con caucho blanco.	54
Ilustración 31. Muestra completa de los recipientes con caucho negro.	55
Ilustración 32. Espacio donde se va a realizar el experimento con los envases de caucho blanco.	55
Ilustración 33. Espacio donde se va a realizar el experimento con los envases de caucho negro.	56
Ilustración 34. Muestra individual junto al bioinsecticida.	56
Ilustración 35. Aplicación del bioinsecticida.	57
Ilustración 36. Campana de Gauss.	63
Ilustración 37. Aplicación del bioinsecticida en cultivos.	69
Ilustración 38. Población a evaluar de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de vidrio.	69
Ilustración 39. Población a evaluar de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de plástico.	70

Ilustración 40. Resultados del experimento de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de vidrio....	71
Ilustración 41. Resultados del experimento de <i>Drosophila Melanoganster</i> en recipiente de plástico.	71
Ilustración 42. Conteo de los 10 ejemplares en cada muestra.	72
Ilustración 43. Muestras del experimento final solo con aplicaciones de alcohol al 70%.	73
Ilustración 44. Alcohol al 70% en recipiente de splash.....	73
Ilustración 45. Test de normalidad de Shapiro-wilk para las muestras con flujo de aire y luz.	76
Ilustración 46. Test de normalidad de Shapiro-wilk para las muestras sin flujo de aire y luz.	76

1.INTRODUCCIÓN

Los insecticidas químicos convencionales han demostrado tener impactos negativos en la salud humana, la biodiversidad y los ecosistemas en general. Actualmente, se observa un uso excesivo de productos químicos en la agricultura, lo cual comienza a reducir y desgastar la calidad del suelo y sus propiedades, alimentos y medio ambiente. Por el contrario, los bio-insecticidas hechos a base de extractos vegetales, ofrecen una mayor flexibilidad y control dentro del manejo de las plagas en los cultivos, debido a que, al ser de origen natural contribuye a mermar los niveles de residuos químicos en las cosechas, adicionalmente, permite disminuir la cantidad de productos fitosanitarios. Es por esto que, mediante el uso adecuado de los bio-insecticidas, permiten principalmente que exista una estrategia de control frente a las plagas de insectos y que a su vez se obtenga una mayor rentabilidad de los cultivos conservando las propiedades y características de los suelos.

Así mismo, el aceite de Neem es un aliado ecológico el cual contiene una variedad de principios activos, entre ellos la *Azadiractina*, la cual actúa como un insecticida natural inhibiendo la alimentación de los insectos y como consecuencia rompe con la cadena de su ciclo vital. Además, contribuye a disminuir la contaminación generada al medio ambiente como no lo realizan los insecticidas convencionales ya que estos bio-insecticidas no tienen la necesidad de utilizar químicos tóxicos dentro de sus compuestos.

De esta manera, el objetivo general de esta investigación es determinar la efectividad de esta nueva alternativa en el manejo de la plaga de la *Drosophila Melanogaster*. Adicionalmente, se adicionan los objetivos específicos los cuales se enfocan en evaluar la efectividad del bio-insecticida a base de las semillas de Neem antes y después de la aplicación, comparar su comportamiento y analizar sus propiedades e influencia en el entorno.

Para respaldar esta investigación se realiza una revisión exhaustiva de antecedentes y se establece un marco teórico que relaciona investigaciones previas sobre el uso de la Azadiractina y conceptos clave relacionados con su extracción. Así mismo, se hace uso de un árbol de problemas para identificar las dificultades existentes con el control de plagas y la necesidad de buscar alternativas sostenibles.

Finalmente, el diseño metodológico del proyecto se desarrolla a través de un procedimiento y un diseño experimental que establece los parámetros y las variables dependientes e independientes del trabajo. Además, se realiza un análisis de resultados para examinar los parámetros definidos, como la mortalidad de las moscas y cualquier efecto secundario observado. Con base en los resultados obtenidos, se formulan las conclusiones que se basan en la evidencia empírica recopilada durante la investigación, permitiendo evaluar la eficiencia y viabilidad del bio-insecticida como alternativa al control de plagas.

2. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficiencia del bio-insecticida hecho a partir de la extracción de *Azadiractina* contenida dentro de las semillas del árbol de Neem (*Azadiracth indica*) para *Drosophila melanogaster* en estado adulto.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto de la *Azadiractina* presente en la semilla del árbol de Neem por medio de la molienda.
- Analizar las propiedades, ventajas y desventajas del bioinsecticida hecho a partir de la *Azadirachta indica* extraído de la semilla del árbol de Neem y su influencia en el entorno.
- Estandarizar la concentración de la *Azadirachta indica* necesaria para el control de *Drosophila melanogaster* en estado adulto.
- Determinar la eficiencia del bio-insecticida (*Azadirachta indica*) sobre la *Drosophila melanogaster* en estado adulto.

3. JUSTIFICACIÓN

La agricultura en Colombia se ha caracterizado por el uso desmesurado de los agroquímicos en sus prácticas agrícolas. Según un estudio del instituto nacional de salud, “el 24,4% de los agricultores en Colombia utilizan agroquímicos en sus prácticas agrícolas” (Intoxicaciones por sustancias químicas/f). Aunque muchos agricultores de este territorio tienen conocimiento del uso de esos productos, carecen de los instrumentos adecuados para la aplicación de estos y se exponen a riesgos en su salud. Además, “se ha identificado la presencia de residuos provenientes de estos químicos, sobre todo en las capas superficiales del suelo” (Arévalo, Bacca, y Soto, 2014). Estos hallazgos evidencian la necesidad de abordar el tema de manera integral, promoviendo prácticas agrícolas más sostenibles y seguras en pro de los agricultores y el medio ambiente.

El presente proyecto de grado se centra en la investigación de la eficiencia de un bio-insecticida elaborado a partir de la extracción de *Azadiractina*, aplicado en la etapa adulta de la especie *Drosophila Melanogaster*. Esta investigación es sumamente importante, ya que impulsa a usar nuevos métodos amigables con el medio ambiente en respuesta al uso descontrolado de insecticidas que ocasionan daños significativos en la vida diaria y además, es crucial destacar que el uso de bio-insecticidas se ha convertido en una alternativa prometedora y sostenible en comparación con los insecticidas químicos convencionales, sabiendo que estos tienen impactos negativos en la salud humana, la biodiversidad y los ecosistemas en general.

Ahora bien, la elección de la plaga en estado adulto de la *Drosophila Melanogaster* como modelo para este estudio se basa en su amplia utilización en investigaciones genéticas y en su condición de plaga en diversos entornos agrícolas. Dicha mosca de la fruta se reproduce rápidamente causando daños significativos en diferentes cultivos, por lo que su control es fundamental, al enfocarse en el estado adulto se busca abordar una etapa crucial en su ciclo de vida y evaluar la eficiencia del bio-insecticida en el control de este.

Para llevar a cabo esta investigación del bio-insecticida, se procede inicialmente a preparar el medio cultivo de moscas y garantizar las condiciones óptimas para su desarrollo. Posteriormente, se disponen envases con diferentes tipos de fruta, que servirán como atrayentes para capturar los individuos y sus ninfas; estos se dividen en grupos de 10 insectos por envase y se espera su respectiva reproducción. Luego, se aplica el bio-insecticida elaborado a partir de las semillas de Neem, ajo, etanol al 40% y cascara de limón y naranja; se comienza a documentar cuidadosamente la presencia de letalidad del cultivo, registrándolo en un libro de cálculo, donde se estipula la cantidad de moscas que mueren o sobreviven tras la aplicación del bio-insecticida, este proceso se realiza con el fin de evaluar la eficiencia del producto y su potencial como alternativa para el control de plagas en la agricultura.

4. ANTECEDENTES

La preocupación humana por la preservación y conservación de sus cosechas se da por la presencia de plagas y vectores de enfermedades. Esto ha ocasionado que, se busquen alternativas que permitan acabar con la diversidad de los insectos presentes en cada uno de los cultivos sin afectarlos, bajar su rendimiento y calidad de producción. Por estos motivos, se crean los plaguicidas de carácter químico o sintético muy usados por el hombre. Estos se pueden clasificar dado a sus funciones de empleo como insecticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas o simplemente por su familia química donde encontramos los organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, compuestos bupiridílicos y sales inorgánicas. Dentro de cada grupo encontramos una variedad de compuestos químicos que han sido usados para el control y eliminación de plagas, como por ejemplo el DDT perteneciente a la familia de los organoclorados. Este producto ha sido muy usado y es muy beneficioso para la fumigación masiva en contra de la malaria desde sus inicios, pero hoy en día su manipulación debería estar prohibida, debido a que, afecta significativamente al hombre y al ambiente dado a su persistencia y bioacumulación. Estas sustancias pueden llegar a ser altamente tóxicas mediante consumo, inhalación y aplicación si no se realiza un buen manejo y disposición del producto, siguiendo las normativas de dosis y tratamientos. FAO, S. F. M. (2004).

Las intoxicaciones causadas por los pesticidas es un problema a nivel mundial en cuanto a la salud pública al generar morbilidad y mortalidad. Esta situación empeora cuando los insectos se vuelven resistentes a los productos químicos y hay que desarrollar nuevas maneras de eliminarlo, por medio del aumento de la concentración de dosis o la implementación de materias primas más fuertes, causando impactos más elevados de contaminación y toxicidad.

No obstante, los pesticidas también han sido utilizados para atentar con la vida de una persona o la propia, ya que, se adquieren muy fácilmente y las grandes cantidades que recibe una persona tan solo por su exposición puede llegar a contraer enfermedades como cáncer,

leucemia, diabetes, Parkinson, efectos neuropsicológicos y cognitivos, epilepsia, enfermedad hepática, tumores, problemas en el sistema inmune y endocrino, efectos teratogénicos (deformaciones físicas) y muchas más. En dado caso que la intoxicación sea aguda, presenta náuseas, mareos, convulsiones e incluso la muerte dependiendo de cómo actúe dentro del organismo, pues cada organismo es diferente, por lo tanto, sus efectos varían. (Reyes, 2018)

En la tabla 1, se observan las categorías respectivas para determinar en qué grado de intoxicación se encuentra un usuario. Una vez identificado, es más fácil saber que tratamientos, seguimientos y cuidados hay que llevar con el paciente. Sin embargo, en la tabla 2, se dan a conocer los posibles medios de confirmación que se pueden llegar a dar evaluando diagnóstico, síntomas y criterios de salud.

Se estima que alrededor de 2.9 millones de intoxicaciones confirmadas y 220.000 muertes por envenenamiento en países desarrollados, aunque Gunnell y Eddleston propusieron que aumentara cerca de los 300.000 a causa de las muertes intencionadas o propósitos suicidas. En países bajos y medios estas cifras podrían aumentar significativamente dado a las condiciones y calidad de vida.

Enfocándose en Colombia, se puede ver en la siguiente tabla cómo se comporta la tasa de mortalidad en el transcurso de los años, a partir de 1998 hasta 2011.

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según categoría toxicológica.

Categoría antigua vigente	Definición antigua vigente	Categoría nueva - norma andina	Definición	Dosis letal 50 (oral aguda en ratas)
I	Extremadamente tóxicos	I A	Extremadamente peligroso	0-5 mg/kg
II	Altamente tóxicos	I B	Altamente peligroso	5-50 mg/kg
III	Medianamente tóxicos	II	Medianamente peligroso	50-500 mg/kg
IV	Ligeramente tóxicos	III	Ligeramente peligroso	mayor de 500 mg/kg

Fuente: (Casarett & Doull's Toxicology, 2005.)

Tabla 2. Definición operativa de los tipos de casos.

Tipo de Caso	Características de la clasificación
Caso confirmado por laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> - Caso que sugiere IAP por presentar síntomas o signos compatibles con una intoxicación o cuadro clínico relacionado o atribuible a una exposición a plaguicidas en el que los laboratorios (según sea el caso) evidencien una alteración atribuible a la exposición a plaguicidas. - Antecedentes de exposición al tóxico con indicador biológico alterado (de exposición o de efecto) de acuerdo con el plaguicida. - En caso de fallecimiento, confirmación de la intoxicación por medio de procedimientos médico - legales.
Caso confirmado clínicamente	<p>Caso en que se establece al menos uno de los siguientes criterios.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Antecedente comprobado de exposición al plaguicida y manifestaciones clínicas como consecuencia de esta exposición. - Que las características del cuadro clínico, la o las vías de exposición implicadas, la relación entre el agente y el mecanismo de acción y su asociación en el tiempo se relacionen con las manifestaciones clínicas de la intoxicación.
Caso confirmado por nexa epidemiológico	<p>Caso con cuadro clínico compatible con IAP relacionable con otro(s) caso(s) confirmado(s) o evento(s) medioambientales en los cuales estén implicados plaguicidas. El nexa debe tener relación en el tiempo y la zona geográfica.</p>
Brote	<p>Episodio en el cual dos o más personas presentan un cuadro clínico compatible con IAP en un mismo lugar o zona geográfica y donde se compruebe la exposición efectiva al agente causal y se identifiquen factores de riesgo asociados.</p>
Alerta	<p>Conjunto de eventos relacionados con las intoxicaciones por plaguicidas que, según criterios epidemiológicos, demanda una acción de manera inmediata. Ellos son</p> <ul style="list-style-type: none"> • Intoxicación de gestantes y/o lactantes. • Intoxicación en menores de edad. • Intoxicación con plaguicidas no registrados o prohibidos. • Situaciones de emergencia donde estén involucrados plaguicidas tales como derrames, fugas, desastres naturales, desastres tecnológicos. • Brotes. • Toda intoxicación individual o colectiva asociada al Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos con el Herbicida Glifosato. • Aquellas alertas que las comisiones, comités o consejos de vigilancia de plaguicidas consideren que deben ser investigadas.

Fuente: (Casarett & Doull's Toxicology, 2005.)

Como se puede observar en la tabla 3, en los años 2002 y 2003 los casos de intoxicación autoinfligida es la más alta, con 348 y 341 casos respectivamente. Este último año, también está en segundo lugar con un número de 391 muertes a causa de intoxicación por plaguicidas, partiendo del 2009 con 408 incidentes.

Tabla 3. Tasas de mortalidad debida a intoxicaciones con plaguicidas, Colombia, 1998-2011.

Causas de muerte		Total de muertes por intoxicación con plaguicidas		Intoxicación autoinfligida (X68)		Intoxicación de intención no determinada (Y18)		Intoxicación accidental (X48)		Agresión con plaguicidas (X87)	
Año	Población	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa
1998	39'184.456	272	0,69	221	0,56	37	0,09	13	0,03	1	0,003
1999	39'730.798	251	0,63	211	0,53	27	0,07	11	0,03	2	0,005
2000	40'295.563	296	0,73	246	0,61	36	0,09	13	0,03	1	0,002
2001	40'813.541	372	0,91	313	0,77	26	0,06	31	0,08	2	0,005
2002	41'328.824	385	0,93	348	0,84	24	0,06	11	0,03	2	0,005
2003	41'848.959	391	0,93	341	0,81	33	0,08	17	0,04	0	0,000
2004	42'368.489	336	0,79	283	0,67	35	0,08	18	0,04	0	0,000
2005	42'888.592	371	0,87	309	0,72	40	0,09	20	0,05	2	0,005
2006	43'405.956	350	0,81	302	0,70	33	0,08	15	0,03	0	0,000
2007	43'926.929	347	0,79	286	0,65	44	0,10	17	0,04	0	0,000
2008	44'451.147	364	0,82	282	0,63	64	0,14	17	0,04	1	0,002
2009	44'978.832	408	0,82	298	0,66	58	0,13	13	0,03	0	0,000
2010	45'509.584	369	0,81	298	0,65	58	0,13	13	0,03	0	0,000
2011	46'044.601	323	0,70	260	0,56	49	0,11	13	0,03	1	0,002

Fuente: (Chaparro & Castañeda, 2015)

El indicador de riesgos presente en la Tabla 4, es un parámetro que permite identificar la peligrosidad de cada sustancia química que se utiliza como insecticida. Se basa en modelos algebraicos a partir de las propiedades fisicoquímicas de los componentes activos de los productos y su exposición, a raíz de generar valores numéricos. (González, 2019).

Tabla 4. Indicadores y parámetros considerados en la obtención del valor de los componentes de la ecuación del CIA.

Indicadores*	Componentes
$CIA_{aplicadores} = C (DT * 5)$ $+ CIA_{recolectores} = C (DT * P)$	} CIA _{trabajadores de campo}
$CIA_{consumidores} = C [(S+P/2) SY]$ $+ CIA_{agua subterránea} = L$	
$CIA_{peces} = F * R$ $+ CIA_{aves} = D * (S+P/2) * 3$ $+ CIA_{abejas} = Z * P * 3$ $+ CIA_{artrópodos benéficos} = B * P * 5$	} CIA _{ecológico}

Fuente: (González, 2019)

En la ecuación 1, se encuentran las ecuaciones de los parámetros necesarios para el modelo de CIA que promedia la suma de los indicadores para los trabajadores de campo, consumidores y ecológico. Como se ve a continuación:

Ecuación 1. Modelo CIA.

$$CIA_{\text{plaguicida}} = \frac{CIA_{\text{trabajadores de campo}} + CIA_{\text{consumidores}} + CIA_{\text{ecológico}}}{3}$$

Fuente: (González, 2019)

El Cociente de Impacto Ambiental (CIA) (EIQ, por sus siglas en inglés: Environmental Impact Quotient) es uno de los indicadores de riesgo de plaguicidas más usado en el mundo, debido a que ha demostrado un buen desempeño como herramienta para valorar los posibles efectos peligrosos de los plaguicidas sobre la salud humana y el medio ambiente, en una amplia variedad de cultivos, prácticas de cultivo y zonas agroecológicas (Ávila y col., 2011; Kromann y col., 2011; Arora y col., 2012; Agboyi y col., 2015; Ordoñez-Beltrán y col., 2016; Chen y col., 2017).

No obstante, el CIA también se ha estado implementando para medir las tendencias y logros para la reducción de riegos. Adicionalmente, se ha estado modificando y adaptando el sistema para la evaluación de costos ambientales y clasificación de precios comerciales. (González, 2019)

Como se puede observar en las tablas 5 y 6, cada compuesto químico tiene su valor respectivo en cuanto al CIA, indicando el nivel de toxicidad y riegos a medida que el número asciende. En la primera gráfica, el sulfato de cobre es considerado como el fungicidas y bactericida más peligroso y el Kasugamicina como el más bajo. A diferencia de esto, en la segunda tabla el insecticida más peligroso es el Carbofuran y el menos toxico es el extracto de ajo o de Neem.

Analizando los datos de las tablas, se puede identificar que existen componentes menos contaminantes que incluso se catalogan de bio-insecticidas como es el extracto de Neem a partir de las propiedades que tiene la *Azadiractina*. Este tipo de compuestos naturales ayudan a

combatir las plagas de una forma amigable con el ambiente y eficiente sin tener que poner en riesgo la vida de un trabajador, especies de animales, deterioro de la planta, causar enfermedades graves al tratar con sustancias agudas. etc. Hay que recalcar que, el hecho de que sea “inofensivo” no significa que no puede generar daños irreversibles en una persona. Además, evita que se cree algún tipo de resistencia por parte de la plaga al producto, impidiendo la acumulación de las mismas y creación de insecticidas mortales. Para comprender la forma más estratégica de combatir los insectos indeseables es investigar y conocer su ciclo biológico, es decir, identificar la etapa del desarrollo donde se produce el daño y presencia de estos en las plantas, los enemigos naturales, etc., con el objetivo de tomar medidas preventivas. Además, este tipo de insecticidas tienen la función particular de ayudar a mejorar la calidad y el rendimiento de las cosechas, proporcionando una protección natural para los cultivos.

Tabla 5. Porcentaje de uso a nivel regional, valores del CIA y su nivel de peligro, y valores del IAT en las áreas de estudio de los fungicidas (F) y bactericidas (B) registrados en las encuestas.

Ingrediente activo	Porcentaje de uso (n = 19)	CIA		IAT		
		Valor	Nivel de peligro	M-V	TL	MP
Clorotalonil (F)	58	37.42	Medio	112.1	28.1	1990.4
Metalaxil-M (F)	53	19.07	Bajo	21.3	1.1	42.9
Mancozeb (F)	53	25.72	Medio	108.0	119.9	111.4
Oxicloruro de cobre (F)	37	33.30	Medio	81.9	144.6	1.5
Carbendazim (F)	37	50.50	Alto	265.9	31.6	138.9
Propiconazol (F)	32	31.63	Medio	11.9	2.0	36.4
Azufre elemental (F)	32	32.66	Medio	29.4	-	460.4
Tiabendazol (F)	32	31.04	Medio	102.4	-	9.3
Benomil (F)	26	30.24	Medio	-	45.4	275.9
Oxitetraciclina (B)	21	21.67	Medio	3.3	3.8	8.7
Estreptomina (B)	16	45.00	Alto	12.2	8.3	-
Miclobutanil (F)	11	24.01	Medio	-	-	4.1
Cymoxanil (F)	11	35.48	Medio	-	-	8.5
Difenoconazol (F)	11	41.50	Alto	10.4	-	-
Dimetomorf (F)	11	24.01	Medio	10.3	-	2.4
Captan (F/B)	11	15.77	Bajo	-	-	145.9
Iprodiona (F)	5	24.25	Medio	-	-	12.1
Sulfato de cobre (F/B)	5	61.90	Alto	-	-	59.5
Azoxistrobin (F)	5	26.92	Medio	-	14.8	-
Quinoxifen (F)	5	32.00	Medio	-	12.0	-
Tebuconazol (F)	5	40.33	Medio	25.2	-	-
Pirimetanil (F)	5	12.67	Bajo	30.3	-	-
Piraclostrobin (F)	5	27.01	Medio	16.2	-	-
Tiofanato metílico (F)	5	23.82	Medio	33.3	-	-
Propamocarb (F)	5	23.89	Medio	16.6	-	-
Kasugamicina (F/B)	5	10.30	Bajo	0.7	-	-
Cobre carboxílico (F)	5	SD*	-	-	-	-
Total				891.4	411.6	3 308.3

Fuente: (González, 2019)

Tabla 6. Porcentaje de uso a nivel regional, valores del CIA y su nivel de peligro, y valores del IAT en las áreas de estudio de los insecticidas (I) registrados en las encuestas.

Ingrediente activo	Porcentaje de uso (n = 19)	CIA		IAT		
		Valor	Nivel de peligro	M-V	TL	MP
Endosulfan (I/AC)	68	38.55	Medio	383.3	121.4	389.0
Carbofuran (I/AC/N)	58	50.67	Alto	403.5	35.5	106.4
Imidacloprid (I)	47	36.71	Medio	59.7	3.2	9.0
Metamidofos (I/AC)	42	36.83	Medio	212.1	44.2	132.6
Tiametoxam (I)	26	33.30	Medio	27.4	-	3.3
Betaciflutrin (I)	26	31.57	Medio	2.8	2.0	3.3
Dimetoato (I/AC)	26	33.49	Medio	12.0	80.4	40.2
Cipermetrina (I)	16	36.35	Medio	3.6	3.6	21.8
Lambdacialotrina (I)	16	44.17	Alto	7.5	-	-
Clorpirifos etil (I)	16	26.85	Medio	47.3	-	-
Amitraz (I/AC)	11	25.17	Medio	10.1	3.8	-
Malation (I/AC)	11	23.80	Medio	39.8	-	6.8
Clorantraniliprol (I)	11	18.34	Bajo	3.2	-	-
Permetrina (I)	11	29.33	Medio	5.3	-	-
Extracto de Neem (RCI)	11	6.60	Bajo	7.7	-	-
Extracto de ajo (RP)	11	6.60	Bajo	11.6	-	-
Acetamiprid (I)	5	28.73	Medio	1.4	-	-
Spinosad (I)	5	14.38	Bajo	0.9	-	-
Spinetoram (I)	5	27.78	Medio	1.7	-	-
Abamectina (I/AC/N)	5	34.68	Medio	0.4	-	-
Ciromazina (RCI)	5	18.29	Bajo	4.6	-	-
Terpenoides (IRV)	5	SD*	-	-	-	-
Total				1 245.9	294.1	712.4

Fuente: (González, 2019)

*Sin datos; M-V: Matamoros-Viesca; TL: Tlahualilo; MP: Mapimí; AC: acaricidas; N: nematicidas; RCI: reguladores de crecimiento de insectos; RI: repelente de insectos; IRV: inductores de resistencia viral.

Para que el agente activo en el árbol de Neem empiece a actuar e influir sobre los cultivos, es indispensable llevar a cabo el proceso de extracción para que separe e incremente ese porcentaje del 2% de *Azaridactina* presente en las semillas, especialmente en las semillas maduras que guardan mayor concentración y sus niveles de efectividad y eficiencia aumentan. (Esparza, 2010)

La sociedad siempre ha pensado que la biodiversidad es la encargada de estabilizar a los sistemas vivos, pero la realidad es que cualquier acción que se realice la irrumpe, reduce y desequilibra, sea para el sector agronómico o no, se manipule con productos químicos o naturales, de alguna manera se va a ver afectado.

Por esta razón, se debe buscar alternativas que no generen tanto impacto negativo, pues, a fin de cuentas, se está deteriorando el núcleo familiar y esto es algo que muchas personas no llegan a pensar por el hecho de que como no está viviendo en la zona crítica, no les importa ni

es su responsabilidad ayudar. Sin embargo, si no se toman las medidas necesarias a tiempo, se visualizará a futuro como los impactos perjudicaran a todos, a través de los cambios y alteraciones que podemos llegar a experimentar, como, por ejemplo, el desbalance en el pH de las tierras, perdida de sabor en las frutas y vegetales, desequilibrio en el valor nutricional, carencia de humus por abuso de fertilizantes químicos, entre otras. Es por esto que, es importante que al pasar el tiempo se busquen ideas innovadoras que permitan aplicar la agricultura sostenible dentro de los diferentes procesos, a fin de convertir los problemas en soluciones que reviertan los daños ocasionados por los insecticidas químicos y se pretende cuidar y conservar tanto el ambiente como la salud humana. (La importancia de la biodiversidad en el funcionamiento de los agroecosistemas: caso floricultura, 2017).

Luego de evidenciar los efectos que trae consigo un insecticida tradicional e investigar todos los beneficios que trae consigo el bio insecticida hecho a partir de la *Azadiractina* extraída de la semilla del árbol de Neem, se debe verificar los efectos que este tendría en diferentes tipos de insectos. Por ende, se denota que las diferentes especies de insectos difieren notablemente en sus respuestas de comportamiento a la *Azadiractina* ((Mordue & Nisbet, 2018).

Tabla 7. Efectividad del bioinsecticida hecho a partir de la *Azadiractina* en diversos grupos de insectos con dosis letal media.

Table 1. Behavioural sensitivity of insects to azadirachtin: the effective dose (ED₅₀) which causes 50% inhibition of feeding.

	ED ₅₀ (ppm)
Lepidoptera	<0.001 - 50
Coleoptera	100 - 500
Hemiptera	100 - 500
Hymenoptera	100 - 500
Orthoptera	0.001 - > 1000

Fuente: (mordue & nisbet, 2018)

Específicamente para el proyecto, se utilizará la *Drosophila melanogaster*, este tipo de moscas de la fruta o también conocida como mosca del vinagre, tienen grandes ojos, son largas y delgadas y adicionalmente se alimentan de las bananas podridas. Este insecto tiene un ciclo de vida de diez días y una hembra puede poner hasta 500 huevos en una semana. Además, no requieren mucho espacio y hacen pocas demandas a su entorno: basta con un pequeño recipiente de plástico o vidrio y una nutrición adecuada. Si también se mantienen los niveles correctos de temperatura y humedad, se pueden mantener sin problemas y se multiplicarán. (Terrazas, 2019).

Finalmente, para el uso del bioinsecticida hecho a partir de la *Azadiractina* en los cultivos, se ha probado la efectividad de la *Azadiractina* a dosis de tan solo 10 ppm contra más de 220 especies de insectos plaga de los órdenes *Blattodea*, *Caelifera*, *Coleoptera*, *Dermaptera*, *Diptera*, *Ensifera*, *Heteroptera*, *Isoptera*, *Lepidoptera*, *Phasmida*, *Phthiraptera*, *Siphonaptera* y *Thysanoptera*. (S.f,2022). Sin embargo, la dosificación que se aplicara al cultivo es una dosis letal media (1.5 cc/Lt), para esto, se dividirá la frecuencia de las aplicaciones con presión alta ya que se aplicará de 5 a 7 días. (*Azadirachtina*: una alternativa para el manejo de plagas en su cultivo, 2018).

5. MARCO CONCEPTUAL

La revolución Neolítica es el primer paso de transformación radical que se dio a conocer en cuanto al estilo de vida humano pasando del nomadismo al sedentarismo y la estabilidad. En busca de la supervivencia inicia el desarrollo de actividades de ganadería, alfarería, pulimentado de la piedra y la agricultura. Respecto a esta última, se evidenció que los cultivos eran amenazados y atacados por plagas que dominaban y deterioraban su producción de alimentos. Siglos más tarde y con la llegada de la escritura se empezaron a reflejar numerosos textos que aludían a los ataques de plagas, de insectos, hongos, roedores y otros agentes. Frente a esta problemática, se empiezan a crear los primeros insecticidas naturales a base de cicuta y acónito que utilizaban los egipcios en el 1200 a.C. Con los años se fueron incorporando nuevos y “mejorados” insecticidas para el control de insectos y roedores como, por ejemplo, el eléboro (100 a.C), la mezcla de arsénico con agua (800 a.C), la rotetona (1649), el arsénico en miel que es considerado el primer veneno estomacal dado a que se pensaba crear un cebo para las hormigas (1669). (Robert et al., s. f.)

Dentro de la revolución industrial (1760) se realiza el manejo y disposición de fumigantes derivados del petróleo como la nicotina presente en el tabaco. También encontramos el piretro para la eliminación de piojos, el verde de París a base de arsénico que es altamente tóxico, la cal y el sulfato de cobre, el polvo de mercurio, el p-diclorobenceno (Contra la polilla), los ácidos carbónicos y fénicos, el bromuro de metilo y el disulfuro de carbono, entre otros.

A mediados de 1900, se van estableciendo leyes y se generan pesticidas de carácter sintético. Respecto a lo legal, esto se va fundamentando a lo largo del tiempo debido a los criterios, las afectaciones y las necesidades de la época. Algunas de las leyes que encontramos son: la Ley sobre los Residuos del Rocío de Sustancias Químicas (1927) y la que Regula Alimentos, Medicamentos y Cosméticos impiden la distribución de alimentos que registren

residuos de pesticidas dañinos, a menos que la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) garantice la tolerancia y autorice que los niveles son “seguros” para el consumo humano. Si se adelanta un poco, se verifica que a partir de 1985 se vela por la seguridad ambiental, dando paso a la ley de California para la Prevención de la Contaminación por Pesticidas que busca mitigar, disminuir o eliminar los efectos nocivos en el agua por parte de los insecticidas. De 1992 a 1995 la Agencia para la Protección Ambiental de Estados Unidos emite una nueva Norma Federal para la Protección del Trabajador, que permita evitar los riesgos de envenenamiento o lesiones que sean producidas por la manipulación de plaguicida. El crecimiento exponencial de los productos sintéticos se vio reflejado durante la segunda guerra mundial cuando el químico suizo Paul Hermann Müller descubre las funciones y aplicaciones del primer insecticida ciclodino (DDT) para controlar la malaria y el tifus entre los civiles y las tropas.

Bajo la problemática planteada anteriormente se puede analizar y concluir que los plaguicidas que se han estado llevando a cabo a lo largo de la historia son altamente tóxicos y si no hay una adecuada manipulación del producto pueden llegar a afectar y alterar significativamente la salud humana, llegando a desarrollar elevados índices de cáncer, alergias en la piel, mutaciones genéticas e incluso la muerte, ya sea, por contacto directo, inhalación o consumo. Por lo tanto, hay una gran disputa, debido a que, los productores al trabajar con agroquímicos obtienen un amplio beneficio económico y factible, sin embargo, este trae desequilibrios a la naturaleza porque se genera una contaminación en suelos, fuentes hídricas y produce residuos en las cosechas.

Entre las ventajas que aportan los plaguicidas y acaricidas químicos es la rápida acción tanto curativa como en el control de plagas que sobrepase o esté a punto de llegar al límite establecido de infestación de los cultivos y de esta manera evitar daños económicos. Su

implementación se fundamenta en la relación de costo/beneficio favorable, dado a sus bajos precios y al amplio rango de aplicaciones, métodos, selectividad y propiedades.

Sin embargo, una de las consecuencias que se presentan al usar este tipo de productos es la resistencia, supervivencia y adaptación de las plagas hacia los pesticidas, hasta el punto que sea adictivo, ocasionando brotes violentos de una gran diversidad de plagas. En este momento, es cuando se ven reflejados los altos niveles energéticos y económicos. También, se manifiestan los efectos adversos dirigidos a las abejas y polinizadores, fauna silvestre, hombre, animales domésticos, parasitoides, depredadores, patógenos y la simplificación y reducción en los componentes bióticos de los agroecosistemas.

Entorno a las circunstancias se pretende brindar nuevas iniciativas que busquen revertir y solucionar de forma más eficiente los efectos nocivos contribuyendo en la recuperación de los suelos contaminados y la disminución del impacto ambiental por medio del control y seguimiento de plagas. A nivel nacional se cuenta con el árbol de Neem en los departamentos del Huila, Caquetá, Cauca y Nariño. Su semilla presenta 20% de aceites especialmente para usos antibacterianos, inmunoestimulante, anti-fertilidad, antipirético, antifúngico. Los aceites contienen 3 ácidos saturados que son el araquídico (3%), palmítico (12%) y el esteárico (30%), pero también hay 2 clases de ácidos insaturados los cuales son el linoleico (5%) y el oleico (50%). Tan solo el 3% de los componentes son aptos para la realización de insecticidas. Este recurso es sumamente importante dado a sus propiedades fisicoquímicas donde el componente principal, es el que permitirá cambiar el rumbo de los pesticidas es la *Azadiractina*.

En contra posición a los beneficios planteados por los insecticidas químicos, los bio-insecticidas se destacan por tener difícil desarrollo de resistencia por parte de las plagas, debido a sus componentes bio-activos. Además, cuentan con una elevada biodegradabilidad por parte de la acción de los rayos U.V, pueden durar de 4 a 8 días en el campo, es inofensivo para

mamíferos y aves, no es tóxico para los cultivos ni para los organismos que se alimentan de este o externos y tampoco para los enemigos naturales de las plagas (Parasitoides, depredadores y patógenos).

Teniendo en cuenta que, para un correcto almacenamiento y conservación de las materias primas se necesitan de condiciones específicas y si estas no se cumplen el producto se puede dañar o reducir en gran porcentaje, incluso hasta perder parte de sus propiedades. Es por esto que, si la *Azadiractina* está a una temperatura de 27°C y con exposición directa del sol por un periodo de 4 meses esta se va a reducir en un 32%. Esto se debe a que, la *Azadiractina* es termolábil y fotosensible (Orozco y Rodríguez, 2007).

Ahora bien, si se enfoca en las concentraciones de esta, se debe analizar varios factores como, por ejemplo, la genética, las condiciones ambientales donde se esté llevando a cabo el objeto de estudio, los procesos de extracción a fin de aumentar la concentración de la materia prima porque no se encuentra en grandes cantidades de forma natural e identificación del agente activo, puesto que, dependiendo de dichos factores se establece la proporción segura y necesaria en cada caso. Los efectos negativos o positivos que la *Azadiractina* proyecte, influye significativamente la concentración de su dosis, el tiempo, la especie a combatir y el estado en el que esta se encuentre. Hay que resaltar que, se debe estar llevando una inspección constante que permita tomar medidas del control de calidad del proceso a fin de evitar la reducción de los alimentos, ver la viabilidad en ninfas, la supervivencia y prevenir una intoxicación aguda, puesto que, todo producto que se use en exceso es perjudicial para la salud.

Generalmente, las concentraciones se manejan alrededor de los 10 ppm, pues se ha comprobado una alta efectividad de la *Azadiractina* en contra de más de 220 especies como Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Ensifera, Heteroptera, Isoptera, Lepidoptera y muchas más. (Estrella, 2017). En caso extremo que la concentración supere los 100 ppm favorece en el

control de los áfidos (homópteros) pues necesitan un espacio donde se obtenga el primario anti alimenticio, ocasionado por la falta de movilidad dentro del floema. Esto trae como consecuencia la reducción en la cantidad de ninfas viables producidas por adultos ápteros con una dieta con 25 ppm de AZA durante 24 a 52 h y la supervivencia de especies como *Macrosiphum rosae* L y la *Macrosiphoniella sanbornii* Gilleteque que son tipos de plagas chupadoras y masticadoras. Se recomiendan dosis aproximadas de 30-60 gr/ha de *Azadiractina*, claro que depende de la cantidad de agua presente. (Estrella, 2017).

5.1 Arbol de Neem.

El árbol de Neem (Ver ilustración 1) es nativo de Asia Suroriental, pero actualmente se ve la siembra en diversas regiones del continente americano. Su nombre científico es *Azadirachta Indica*, significa “el árbol libre de la India”, y su género pertenece a la familia meliáceas ((Suryaneem, 2002)). Tiene corteza gruesa, con fisuras color rojizo, es un árbol que alcanza una altura de hasta 20 metros en su etapa adulta, produce flores bisexuales blancas, con dulce aroma. El fruto es una drupa suave, inicialmente verde y se vuelve amarillo a medida de su maduración.

Ilustración 1. Árbol de Neem.



Fuente: (Hamann,2013)

El Neem, es un árbol de uso múltiples, El aceite de la semilla (hasta 40%), es usado como combustible para lámparas y como lubricante para maquinaria; también como ingrediente útil en jabones y desinfectantes, así como en productos farmacéuticos y de cosmetología (Ozuna, 2000).

Para el control de plagas, las diferentes partes del árbol de Neem se presentan como una promesa en el control de plagas de granos almacenados y de cultivos en los países en vías de desarrollo y también para los agricultores de recursos limitados (Ahmed y Grainge, 1985, 1986). Posee constituyentes biológicamente activos que controlan más de 100 especies de insectos, además de ácaros y nemátodos, incluyendo plagas de importancia económica (Ahmed y Grainge, 1986), dentro de las siguientes ordenes: Orthóptera, Homóptera, Thysanóptera, Coleóptera, Lepidóptera, Díptera, Himenóptera y Heteróptera. En estos insectos se reconocen los siguientes efectos: Interrumpen o inhiben el desarrollo de huevos, larvas y pupas; bloquean la muda de larvas a ninfas; Repele larvas y adultos; Repelen a las hembras para ovopositor; envenena a las larvas y adultos; disuade a los insectos a alimentarse; confunde a los insectos para realizar la metamorfosis; e Inhibe la formación de quitina (Gil,2000).

El Neem soporta la sequía, ayuda a controlar la erosión de los suelos, da buena sombra y es capaz de crear un microclima de frescura y verdor en zonas especialmente secas y áridas. Sus hojas, al caer, se descomponen y ayudan a recuperar hasta los suelos más degradados. Su madera es de buena calidad y puede utilizarse tanto para muebles, como para leña cuando se hacen las necesarias podas anuales (Rodríguez, 1977).

5.2 *Azadiractina.*

La *Azadiractina*, es materia activa que no mata insectos, al menos no inmediatamente, sino que, repele y destruye su crecimiento y reproducción (Quarters, 1994). Es un compuesto de origen natural que en condiciones de campo resulta ser bastante eficaz, ya que actúa

bloqueando su actividad alimenticia, de esta manera altera el normal equilibrio de los insectos, afectando su metamorfosis y produciéndoles una muerte rápida.

Es una sustancia química que tiene una estructura similar a la hormona de insectos ‘ecdismos’, la cual pertenece a una clase de molécula orgánica llamada tetranortriterpeno, estas controlan la metamorfosis en los insectos y se interrumpen con la exposición del producto activo la *azadiractina*.

La *Azadiractina* posee una actividad insecticida contra varios insectos durante sus diferentes etapas de desarrollo. Está presente en todas las partes del árbol; en las semillas se encuentra en mayor concentración (Angulo et al., 2004, p. 306; Bajwa y Ahmad, 2012, p. 117). La concentración de esta, depende de las condiciones ambientales productivas (temperatura y humedad relativa).

La ruta bioquímica que sigue la *Azadiractina* para su biosíntesis inicia con un precursor de esteroides (*tirucallol*, *azadirona* o *azadiradiona*) y la apertura de un anillo en forma de “C” (*egnimbin* o *salaninna*). Luego procede por dos niveles con estructuras complejas y forma un anillo furano que termina en *azadiractina*. Este metabolito es biosintetizado únicamente por el Neem (*Azadirachta indica*) (Biswas et al., 2002, pp. 3 344-3 345; Mordue y Blackwell, 1993, p. 918; Mordue y Nisbet, 2000, p. 617).

5.2.1 Propiedades químicas del principio activo Azadiractina.

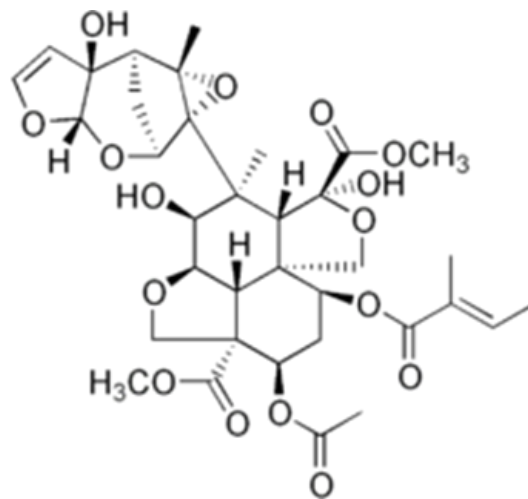
Este agente principal de la planta se encuentra en hojas, semillas, raíces, pero su mejor concentración está en la semilla en proporciones del 0’1 al 0’9%. En una aproximación estos se empiezan a dar en el árbol de neem cuando alcanza una edad de 3 a 5 años, su color varío durante su desarrollo, tornándose progresivamente amarillo y de textura rugosa.

En la ilustración 2, refleja como la *azadiractina*, $C_{35}H_{44}O_{16}$ es considerada el principal limonoide responsable de la actividad insecticida del Neem. Se ha identificado como el

limonoide más abundante, biodegradable y únicamente producido por esta especie. Actúa por contacto alterando el equilibrio hormonal de los insectos.

Este principio activo actúa como una cortisona, cuando un insecto ingiere Azadiractina no muere, pero la molécula afecta su desarrollo y ciclo reproductivo, actuando como una toxina. Interfiriendo este activo en las glándulas corpora cardiacas y corpora alta, impidiendo la producción de la neuro hormona *protoracicotropica*, que regula la biosíntesis de las hormonas de la metamorfosis. (Bellés,2015)

Ilustración 2. Propiedades químicas de la Azadiractina.



Fuente: (Satdive, Fulzele, y Eapen, 2006, p. 196)

“La *azadiractina* es la materia más eficaz de las contenidas en el Neem, capaz de garantizar el control de las plagas y de ser la alternativa a productos sintéticos, ya que el control añadido de los insectos útiles, que no son afectados, posibilita el reducir el número de aplicaciones tal como se ha comprobado en ensayos de diversos cultivos en diferentes países”. (Descubre el uso del extracto de Neem para control de plagas, 2022)

Es una planta que posee un gran número de compuestos fenólicos en la corteza: (ácido gálico, Antiinflamatoria e inmuno moduladora, (+)-*galocatequina*, (-) *epicatequina*, (+)-

catequina y epigallocatequina), gedunina vasodilatadora, anti-malaria y antifúngica, mahmoodina antimicrobiana, margósico.

5.3 Biocontrol de insectos.

El producto natural del árbol de Neem es un insecticida botánico, que no presenta una toxicidad aguda para animales y el hombre en comparación con plaguicidas químicos convencionales (Sabillon y Bustamante 1996, Iannacone y Murrugarra,2000). El Neem, como un bio-controlador de origen vegetal, es utilizado como barrera en cultivos frutícolas sin afectar la población de abejas polinizadoras (Jacas, Caballero y Ávila, 2005, p. 16; López, 2005, p. 41).

En esta nueva era se buscan productos que disminuyan los riesgos ambientales y de salud, provocados por los insecticidas tradicionales, por lo tanto, este insecticida de origen vegetal está innovando las prácticas de cultivos sostenibles. La obtención del aceite de Neem es una gran apuesta, ya que, se ha empezado a realizar a gran escala debido a su alta demanda. Es importante mencionar que el uso de esta técnica de altas presiones con solventes utiliza una menor cantidad de solventes durante el proceso (Jadeja et al., 2011, p. 253).

5.4 Ingredientes activos y modos de acción.

La *Drosophila Melanogaster*, también conocida como mosca de la fruta, es una plaga común que afecta en gran medida a varios cultivos de frutas, sin embargo, los cítricos como la naranja y el limón ayudan a actuar como repelente natural para este tipo de plaga por varios aspectos como lo son:

- Los cítricos contienen compuestos volátiles con aromas y sabores característicos, los cuales pueden actuar como repelente puesto que, colocan una barrera química para disuadir a las moscas de acercarse a los frutos.

- Al tener una cascara de cultivos gruesa y rugosa en comparación con otro tipo de frutas, dificulta el acceso de la mosca en la fruta a la pulpa y a las zonas de alimentación.
- Los cítricos son reconocidos por su acidez natural, es por esto que, puede afectar la preferencia de la mosca de la fruta por ciertos alimentos debido a su sabor desfavorable para ellas.

Aunque los cítricos contribuyan a repeler dicha plaga, es necesario implementar la eliminación de frutas infectadas, realizar una higiene adecuada e implementar el uso de trampas o insecticidas específicos para controlar de manera eficaz la infestación de la *Drosophila Melanogaster*.

Por otro lado, el ajo es otro componente que contiene varios compuestos bioactivos, como la alicina, disulfuro de dialilo y sulfoxidos de alilo, los cuales son responsables de contribuir en los efectos insecticidas.

Es por esto que, se mostrara algunas formas en las que el ajo puede afectar a los insectos:

- El olor fuerte y característico del ajo actúa como un repelente natural puesto que, libera compuestos volátiles que puede disuadir a los insectos y mantenerlos alejados de las áreas tratadas.
- Los sulfoxidos de alilo presentes en el ajo, pueden interferir en el proceso de respiración de los insectos ya que, obstruye las vías respiratorias causando asfixia.
- El ajo afecta directamente el apetito de los insectos ya que reduce su capacidad para alimentarse y obtener los nutrientes necesarios para sobrevivir dentro del ecosistema.
- Los insectos pueden dejar de alimentarse y sufrir inhibición en su desarrollo normal, lo que puede deshabilitar su capacidad de reproducción y causar una disminución en la población de plagas.

Finalmente, uno de los ingredientes activos más importante es el alcohol ya que puede mejorar la eficiencia del bioinsecticida al actuar como un disolvente para los otros ingredientes activos. Además, este ayuda a disolver y estabilizar los compuestos insecticidas, lo que facilita su aplicación y distribución uniforme sobre la *Drosophila melanogaster*.

Esto asegura que el ingrediente activo se distribuya de manera efectiva y se adhiera a la superficie del insecto puesto que tiene la capacidad de disolver los lípidos y grasas presentes en la cutícula de los insectos. Además, debilita la barrera protectora de los insectos y así facilita la penetración de los ingredientes del bioinsecticida a través de su capa externa. En un experimento realizado “Los biólogos encontraron que cuanto más expuestas estaban al alcohol mayor era su grado de desinhibición sexual” ((El Tiempo, 2008), por lo que, disminuiría la reproducción de la especie a tratar en el cultivo.

5.5 Árbol de problemas.

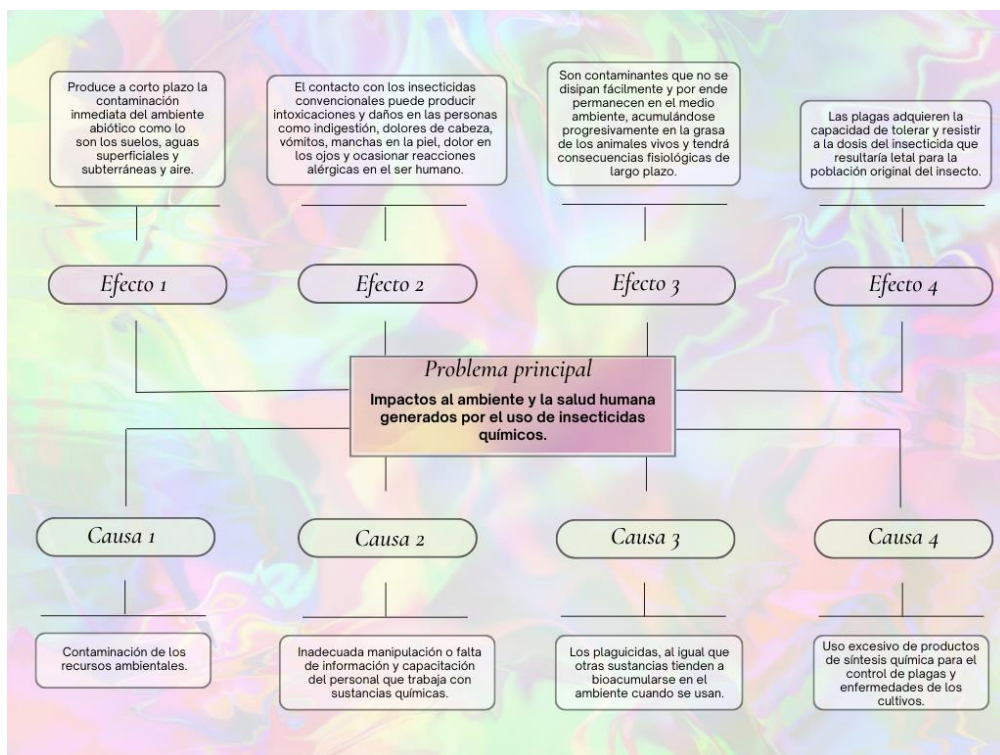
Los insecticidas químicos pueden ocasionar diversas causas y efectos en el medio ambiente y la salud humana, tal y como se observa en el diagrama 1.

Los impactos negativos se producen por el uso excesivo de pesticidas químicos en la agricultura, debido a que, pueden generar la infertilidad de los suelos, aparición de nuevas plagas y enfermedades, contaminación de los ecosistemas, disminución de la diversidad genética y la resistencia de las plagas al insecticida. (Pretty, 2008). Esto también se debe a, la falta de control y seguimiento, ya que, si no se implementan las medidas necesarias se incrementan los riesgos tanto para el entorno como para las personas, puesto a que, si hay un deficiente sistema de control significa que se está dando un uso incorrecto de los insecticidas, ya sea porque el personal no está lo suficientemente capacitado o la información que se suministra está incompleta. (Pimentel, 2005).

Por otro lado, las consecuencias que se pueden dar a raíz de los insecticidas basados en químicos es la pérdida de biodiversidad al ocasionar la disminución de poblaciones de especies beneficiosas como lo son las abejas, mariposas y polinizadores en general lo que afecta directamente a los cultivos. (Goulson, 2013). No obstante, la contaminación de agua y suelo es otro de los efectos significativos porque los insecticidas químicos pueden persistir en el suelo durante períodos prolongados, afectando la calidad del suelo y el microbiota. Además, pueden lixiviarse hacia las fuentes de agua, contaminando ríos, lagos y acuíferos. (Regoli. Et.al, 2013).

En cuanto a la salud humana, se puede presentar toxicidad aguda o crónica según sea el nivel de exposición al pesticida, por ejemplo, síntomas agudos como irritación de la piel y los ojos, dificultades respiratorias y mareos. Además, la exposición crónica puede estar asociada con problemas de salud a largo plazo, como trastornos neurológicos, cáncer y disrupciones hormonales. (Damalas, 2011).

Diagrama 1. Árbol de problemas.



Fuente: Elaboración propia.

6. DISEÑO METODOLOGICO

Esta investigación se desarrolla bajo la recopilación de datos cuantitativos a partir de experimentos de laboratorio relacionados a la dosis letal media para el control de *Drosophila melanogaster*, el cual se encargará de evaluar y analizar la información que se obtenga, con el propósito de reconocer la efectividad de la *Azadirachta indica*.

6.1 Diseño de investigación:

La actual investigación se desarrolla bajo un diseño experimental, debido a que, se compilará toda la información necesaria por medio del método de ensayo y error, validando en diferentes concentraciones la *Azadiractina* en los experimentos realizados en el laboratorio con el propósito de rectificar cada uno de los datos obtenidos a fin de descubrir la dosis letal media para el control de *Drosophila melanogaster* en estado adulto.

6.2 Tipo de diseño transversal:

La comprobación de datos se realizará de forma experimental, con ayuda de estudios bibliográficos, el apoyo teórico investigativo necesario, instrumentos claves del laboratorio, recolección de semillas de Neem y *Drosophila melanogaster* en estado adulto, el cual tiene como objetivo ponderar la información recolectada. Esta iniciativa desea alcanzar un nivel de conocimiento que principalmente podrá ayudar a menoscabar los niveles críticos del cultivo, e instar un óptimo control de plagas que mejore significativamente los impactos relacionados de los bio-insecticidas en el medio ambiente.

7. INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

El método que se utilizará para la recolección de la información será de forma experimental a fin de obtener datos significativos y veraces que garanticen la efectividad del bio insecticida sobre la familia *Drosophilidae*, al evaluar la mortalidad de cada uno de los individuos en un determinado tiempo.

Para dar inicio al proceso es indispensable disponer de 30 semillas de Neem, vodka al 40%, 1 limón, 1 naranja, ajo y el cultivo de la especie de *Drosophila melanogaster* en estado adulto, el cual, se busca que su ciclo de vida continúe normalmente sin ningún tipo de perturbación. Los ensayos se realizan con 120 individuos de *Drosophila Melanogaster* distribuidos equitativamente en 12 partes, 2 de ellas serán testigos, es decir, no se les aplicará ningún producto y las otras 10 se utilizan para las pruebas con *Azadiractina*, ya que, se repite 3 veces el proceso (Ver ilustración 3). Cada muestra contará con materia orgánica para que proliferen las bacterias y organismos necesarios para el buen desarrollo de los adultos a estudiar. Se implementa el sistema de control y seguimiento para asegurar que la especie esté bajo las condiciones ambientales y los cuidados correctos, velando por su alimentación y estado de salud que permitan confirmar que el objeto de estudio no ha muerto o presentado complicaciones de salud por causas naturales si no por factores externos, esto se comprueba al comparar el estado de los adultos testigo con las que se están analizando. (Mendoza, 2018).

Ilustración 3. Cultivo de Drosophila Melanogaster distribuido por lotes.



Fuente: Elaboración propia.

7.1 Procedimiento

El bio-insecticida se produce dado a la extracción de *Azadiractina* presente en las semillas del árbol de Neem, para ello, se necesita que las semillas estén trituradas tal y como se muestra en la ilustración 4, donde se hace uso del molino manual o eléctrico donde se espera recoger la mayor cantidad de miga, pues en este tipo de aparatos las partículas se dispersan cayendo fuera del recipiente provocando pérdida de producto, ya que, si se utilizan estas es probable que la suciedad y las partículas influya en los resultados esperados. En las ilustraciones 5 y 6, se raya media cáscara de los cítricos como el limón y la naranja. Luego, se dispone a picar entre 3 a 4 gajos del ajo dependiendo del tamaño de estos, tal y como se observa en la ilustración 7.

Ilustración 4. Molino manual implementado para triturar 30 semillas de Neem.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 5. Rayadura de media cáscara de limón.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 6. Rayadura de media cáscara de naranja.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 7. Cantidad de ajos utilizados para el bioinsecticida.



Fuente: Elaboración propia.

Una vez se conserven las semillas, las cáscaras y el ajo triturado dentro de un frasco, se adicionan en una solución que contenga 300 ml de vodka (Ver ilustración 8). El resultado obtenido se deja reposar durante 7 días, como se visualiza en la ilustración 9. Cabe resaltar que, la dosis que es de 1,5 cc/L. (Larson, 1985). Después, se procede a filtrar el compuesto final para evitar que los residuos obstruyan el sistema de bombeo del splash.

Ilustración 8. Semillas, cáscaras y ajos triturados en 300 ml de Vodka.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 9. Almacenamiento del bioinsecticida durante 7 días.



Fuente: Elaboración propia.

En la ilustración 10, se ve como la sustancia filtrada se envasa en un recipiente de splash que se va a rociar cada 8 horas en las muestras para ver la efectividad del Bio-insecticida sobre *Drosophila Melanogaster* en estado adulto. Se verifica constantemente la cantidad de adultos vivos o muertos a fin de registrar las variaciones en un Excel que tiene como propósito determinar si se logró cumplir con la dosis letal media y noventa.

Ilustración 10. Filtrado del Bioinsecticida a base de las semillas de Neem.



Fuente: Elaboración propia.

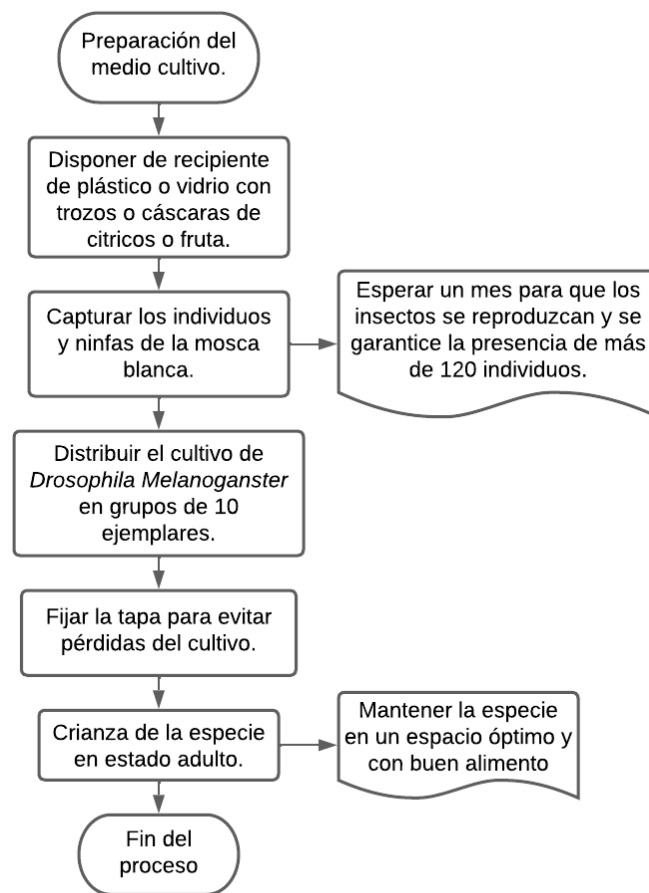
7.2 Diagrama de flujo para cada fase del experimento

7.2.1 Preparación del medio cultivo.

Un dato importante para el experimento es la ubicación de donde se dispone la presencia de los insectos, debido a que, no se obtienen propiamente en Bogotá dado a las condiciones climáticas, pues si se comparan zonas cálidas y frías es más efectivo conseguir moscas de la fruta en mayor cantidad en lugares cálidos como en Cumaral – Meta. Inicialmente se intentó adquirir individuos en Bogotá, pero solo se logró capturar 7 de las especies en un tiempo aproximado de 3 a 4 días, mientras que, en Cumaral solo se necesita entre uno a dos días máximo para tener más de 30 especies.

Según el planteamiento en el diagrama 2, se dispone de un recipiente de vidrio o plástico transparente preferiblemente, para poder visualizar de manera clara el comportamiento de las moscas de la fruta que se van a recolectar y cultivar, teniendo en cuenta sus respectivos cuidados y tratamientos especiales para evitar alterar su ciclo de vida normal.

Diagrama 2. Diagrama de flujo de la preparación del medio cultivo.



Fuente: Elaboración propia.

Para la recolección de los insectos se necesita dejar reposar trozos o cáscaras de frutas y cítricos (Ver ilustración 11). Pasados 4 o 5 días se comienza a notar la presencia de moscas *Drosophila Melanogaster* dentro del envase.

Ilustración 11. Trozos o cáscaras de frutas y cítricos en el recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Una vez se consiga el mayor número de individuos posibles, se tapa el contenedor con una media velada que permita pasar el flujo de aire para impedir que los insectos se asfixien o mueran, como se puede observar en la ilustración 12 y 13.

Ilustración 12. Cultivo de *Drosophila Melanogaster* en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 13. Cultivo de *Drosophila Melanogaster* en recipiente de plástico transparente.



Fuente: Elaboración propia.

Una semana después, se puede evidenciar que la población de *Drosophila Melanogaster* comienza a expandirse pues los individuos que fueron capturados al inicio buscan reproducirse entre ellos (Ver ilustración 14 y 15). Cabe resaltar que, para el experimento se espera alcanzar o superar la cantidad de 120 moscas.

Ilustración 14. Cantidad de moscas de la fruta transcurrida una semana después de la recolección en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 15. Cantidad de moscas de la fruta transcurrida una semana después de la recolección en recipiente de plástico.



Fuente: Elaboración propia.

Alrededor de un mes, se evidencia una gran cantidad de individuos de la especie *Drosophila Melanogaster*, como se contempla en las ilustraciones 16 y 17. Sin embargo, hay que tener presente los posibles errores humanos que se puedan cometer como, por ejemplo, que se sometan demasiado tiempo las moscas de la fruta a bajas temperaturas lo que ocasiona hipotermia, daños en sus células y tejidos (Denlinger, 2010). Otro factor que influye es la adecuada manipulación de los insectos, sobre todo a la hora de pasarlos a los 12 recipientes, puesto que, en el proceso se pueden generar movimientos que para el ser humano se consideren suaves, pero para la especie de estudio sean muy bruscos y causen su muerte.

Ilustración 16. Aumento de la población de *Drosophila Melanoganster* durante 1 mes en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 17. Aumento de la población de *Drosophila Melanoganster* durante 1 mes en recipiente de plástico.

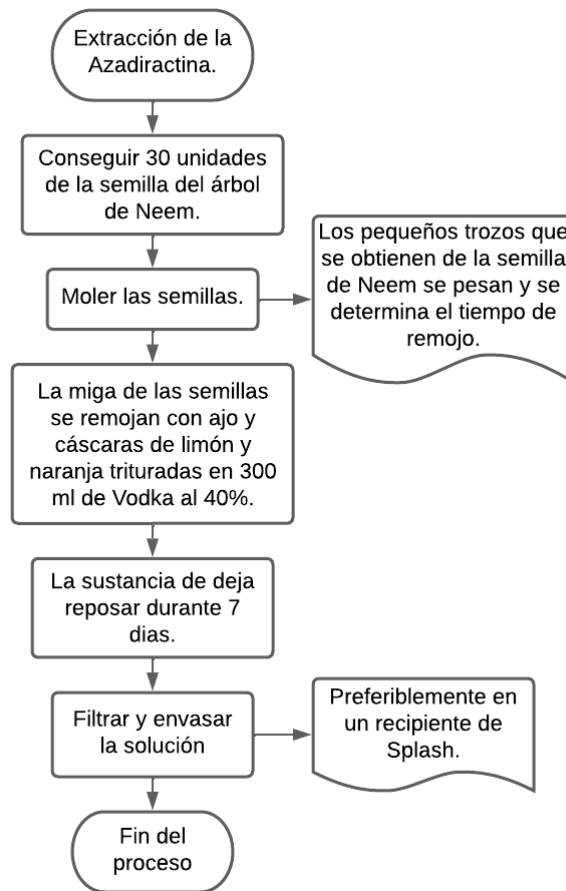


Fuente: Elaboración propia.

7.2.2 Extracción de la Azadiractina.

El diagrama 3, muestra como la esencia de la *Azadiractina* se obtiene al triturar las 30 semillas de Neem como en la ilustración 18 y se deja reposar la sustancia en 300 ml de Vodka aproximadamente 7 días junto con los ingredientes mencionados anteriormente.

Diagrama 3. Diagrama de flujo de la extracción de la Azadiractina.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 18. Extracto de la Azadiractina presente en las semillas de Neem.

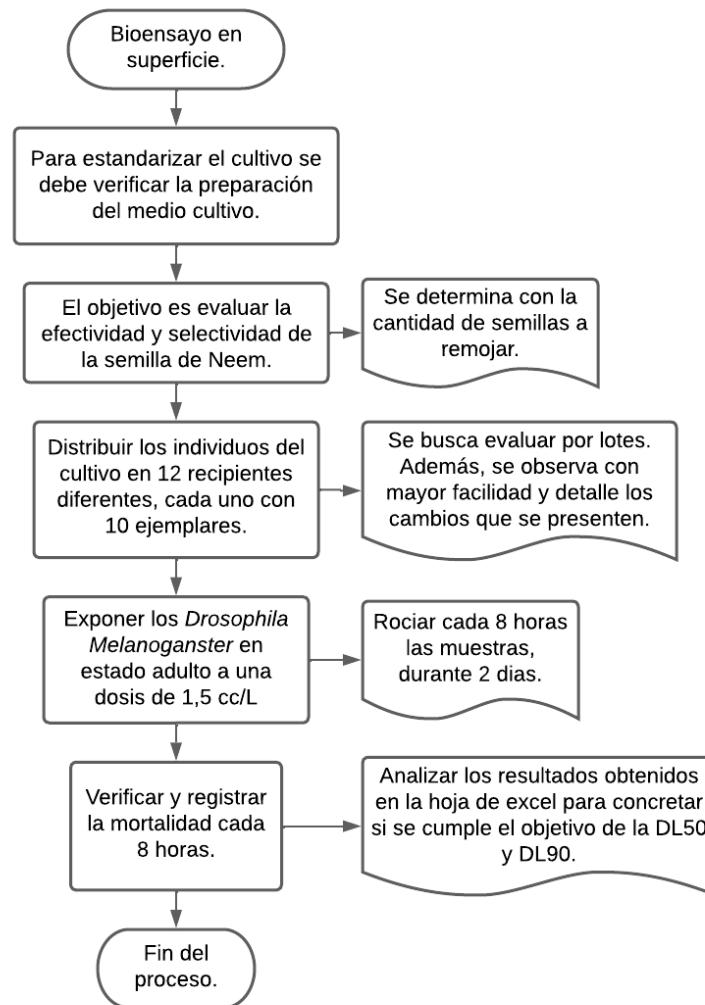


Fuente: Elaboración propia.

7.2.3 Bioensayo en superficie.

El diagrama 4, da a conocer de forma muy general el paso a paso que se va a llevar a cabo durante la investigación.

Diagrama 4. Diagrama de flujo del bioensayo en superficie.



Fuente: Elaboración propia.

Para dar inicio con el experimento es indispensable disponer de 12 recipientes de vidrio que cuenten con las mismas proporciones para garantizar que las muestras estén sometidas bajo condiciones similares, tal y como se evidencia en la ilustración 19.

Ilustración 19. Cantidad de recipientes necesarios para el experimento.



Fuente: Elaboración propia.

Seguidamente, se prepara la comida que se va a depositar en cada uno de los 12 frascos a fin de velar por la alimentación de los insectos. Para ello, se necesitan dos limones y fruta procesada como en la ilustración 20. El limón seco se utiliza como base para evitar que el recipiente se humedezca cuando se adicione la fruta de la forma como se refleja en la ilustración 21, ya que, a la hora de pasar los individuos que están inmóviles se pueden quedar pegados en esta, haciendo que se ahoguen y pierdan la vida, perjudicando el proceso.

Ilustración 20. Materiales para la preparación de la comida de cada muestra.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 21. Adición de la fruta procesada a cada una de las 12 muestras.



Fuente: Elaboración propia.

Cada muestra contendrá el alimento tal y como se observa en la ilustración 22. No obstante, es fundamental aclarar que primero se agregan los insectos para prevenir que las moscas caigan sobre la comida. Así se realice el procedimiento con cuidado es mejor evitar cualquier error que pueda atrasar el experimento.

Ilustración 22. Alimentación de los insectos en cada recipiente.



Fuente: Elaboración propia.

La ilustración 23 va a representar las muestras con espacio abierto y flujo de aire. Caso contrario con la ilustración 24, pues estas serán las que se encuentran en un espacio cerrado y sin flujo de aire.

Ilustración 23. Muestras con espacio abierto y flujo de aire.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 24. Muestras con espacio cerrado y sin flujo de aire.



Fuente: Elaboración propia.

Otra forma de diferenciar el tipo de muestra que se va a analizar, es por medio de, los cauchos que sujetan los trozos de media velada en la parte superior de cada frasco para

restringir la salida de *Drosophila Melanoganster*. Si observa detenidamente la ilustración 25, encontrara un recipiente con un caucho de color blanco en representación de los que están en espacio abierto y con aire. Por otro lado, el que tenga caucho de color negro serán los que no tengan flujo de aire y están en un lugar cerrado.

Ilustración 25. Muestra con caucho blanco y negro.



Fuente: Elaboración propia.

Una vez se tengan listos los envases, el siguiente paso es dejar el cultivo de *Drosophila Melanoganster* expuesto a bajas temperaturas por una hora. Transcurrido el tiempo se asegura de que todos los individuos estén dormidos tal y como se puede ver en las ilustraciones 26 y 27. Si es el caso, se procede a sacar la cantidad de individuos necesarios para cada muestra, es decir, 10 especies como en la ilustración 28 y 29. Esta etapa requiere de tiempo, puesto que, se debe pasar con cuidado cada individuo y cerciorarse de que estén exactamente 10 moscas en el envase. Además, se realiza por lotes porque si deja el cultivo por fuera del frio para distribuirlos de una forma más rápida, puede pasar que, falten insectos en algunos recipientes o simplemente se despierten y se escapen.

Ilustración 26. Cultivo de *Drosophila Melanoganster* dormidos en frio en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 27. Cultivo de *Drosophila Melanoganster* dormidos en frio en recipiente plástico transparente.



Fuente: Elaboración propia.

En la ilustración 28, se hace uso de guantes para evitar tocar directamente las frutas descompuestas durante un mes, pues se empiezan a crear hongos y bacterias que generan un mal olor, por eso también es necesario utilizar tapabocas.

Ilustración 28. Extracción y conteo de las 10 especies para cada muestra.



Fuente: Elaboración propia.

La ilustración 29 no emplea uso de protección, pues es en este momento cuando se pasan los insectos de la tapa de la ilustración 28 a un trozo de cartón paja que se dobla de forma que se ajuste a la entrada del recipiente al que se desea ingresar las moscas. Esta es una forma para evitar que se maltraten los insectos durante el traspaso de envases.

Ilustración 29. Material que se utiliza para ingresar los insectos en cada muestra.



Fuente: Elaboración propia.

Apenas se introduzcan las moscas a su respectiva muestra se prepara la media velada para cerrar el recipiente con el caucho blanco o negro de acuerdo al tipo de prueba que se maneje. A continuación, se puede evidenciar en las ilustraciones 30 y 31 como quedan las muestras una vez se finalice el proceso de distribución del cultivo.

Ilustración 30. Muestra completa de los recipientes con caucho blanco.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 31. Muestra completa de los recipientes con caucho negro.



Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente, se dejan los envases en las zonas estratégicas que se establecieron para la realización de la investigación. En la ilustración 32, se ve como las primeras 6 muestras están frente a una ventana que permite la entrada de luz y aire, mientras que, en la ilustración 33 se percibe como los recipientes están contenidos en una caja de cartón obviamente abierta pero retirada de lugares donde se pueda acceder a flujo de aire y luz.

Ilustración 32. Espacio donde se va a realizar el experimento con los envases de caucho blanco.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 33. Espacio donde se va a realizar el experimento con los envases de caucho negro.



Fuente: Elaboración propia.

Cuando se tengan los insectos en cada frasco y en la ubicación propuesta para los ensayos que se van a llevar a cabo, se hará la aplicación individualmente como se observa en la ilustración 34 para luego sujetar muestra por muestra cómo se observa en la ilustración 35.

Ilustración 34. Muestra individual junto al bioinsecticida.



Fuente: Elaboración propia.

La forma como se ejecuta la aplicación del bioinsecticida fuera del entorno en la ilustración 35 es para prevenir posibles efectos secundarios o afectaciones en la salud, ya que, si se realiza dentro del hogar este se puede concentrar en el ambiente, generando mareos dado a su fuerte olor. Cabe resaltar que, este tipo de bioinsecticida a partir de las semillas de Neem es ligeramente toxico, pues solo ocasiona mareos leves sin llegar a síntomas como lagrimeo, visión borrosa, salivación, sudoración, tos, vómitos, dificultad para respirar y que los músculos se contraigan y debiliten. (O'Malley & O'Malley, 2023)

Ilustración 35. Aplicación del bioinsecticida.



Fuente: Elaboración propia.

7.2.4 Diseño experimental

Tabla 8. Diseño experimental con 60 ejemplares de Drosophila Melanoganster en un espacio abierto con flujo de aire y luz.

TRATAMIENTO	CANT	DOSIS	APLICACIÓN	UBICACIÓN	SUSTANCIA
Muestra 1	10	1,5 cc/L	(Cada 8 h) Mañana: 8 am Tarde: 4 pm Noche: 12 am	Espacio abierto con flujo de aire y luz.	La solución se realizó a partir de 30 semillas de Neem y 4 ajos triturados, 300 ml de vodka al 40% y media cáscara de limón y naranja rayada.
Muestra 2	10	1,5 cc/L			
Muestra 3	10	1,5 cc/L			
Muestra 4	10	1,5 cc/L			
Muestra 5	10	1,5 cc/L			
Muestra 6 (Testigos 1)	10	-	Ninguna		Ninguna

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9. Diseño experimental con 60 ejemplares de Drosophila Melanoganster en un espacio cerrado sin flujo de aire ni luz.

TRATAMIENTO	CANT	DOSIS	APLICACIÓN	UBICACIÓN	SUSTANCIA
Muestra 7	10	1,5 cc/L	(Cada 8 h) Mañana: 8 am Tarde: 4 pm Noche: 12 am	Espacio cerrado sin flujo de aire ni luz.	La solución se realizó a partir de 30 semillas de Neem y 4 ajos triturados, 300 ml de vodka al 40% y media cáscara de limón y naranja rayada.
Muestra 8	10	1,5 cc/L			
Muestra 9	10	1,5 cc/L			
Muestra 10	10	1,5 cc/L			
Muestra 11	10	1,5 cc/L			
Muestra 12 (Testigos 2)	10	-	Ninguna		Ninguna

Fuente: Elaboración propia.

8. DEFINICION DE VARIABLES.

Tabla 10. Identificación y descripción de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Efectividad del bioinsecticida.	Es la capacidad de conseguir el efecto deseado en lo que se realiza. (Páez, G. 2020)	Se busca garantizar que el bio-insecticida cumpla o supere la dosis letal media para el control de <i>Drosophila melanogaster</i> en estado adulto, para ello, se trabajará bajo diferentes concentraciones de <i>Azadiractina</i> a raíz de validar cuál de ellas es la más óptima para el proceso.
Extracción de <i>Azadiractina</i> contenida dentro de las semillas del árbol de Neem.	La <i>azadiractina</i> interrumpe el ciclo de crecimiento de los insectos y los disuade de que se alimenten de las plantas, además es biodegradable y no tóxica para los mamíferos. Es una sustancia química de origen natural con una estructura similar a la hormona de insectos ‘ecdisonas’ y pertenece a una clase de molécula orgánica llamada <i>tetranortriterpeno</i> . (Hernandez et. al, 2020)	Se dispone de 30 semillas del árbol de Neem, con el objetivo de someterlas al proceso de molienda que, al remojarlas en agua durante un día, se obtiene la extracción de <i>Azadiractina</i> . Este procedimiento se realiza con cada una de las muestras de diversas dosis.
Control de <i>Drosophila melanogaster</i> en estado adulto	Las moscas de la fruta (cuyo nombre científico es <i>Drosophila melanogaster</i> , o también conocida como mosca del vinagre) tienen grandes ojos y son largas y delgadas, aman las bananas podridas y, siguiendo las órdenes de sus cerebros del tamaño de una cabeza de alfiler. Este insecto tiene un ciclo de vida de diez días desde que son huevo hasta adultos. Una hembra puede poner hasta 500 huevos en una semana. (The Guardian, 2019)	El <i>Drosophila melanogaster</i> en estado adulto es el objeto de estudio sobre el que se evaluará, analizará y validará la dosis letal media y noventa. Para este experimento, se toma como base 120 individuos de esta especie.
Dosis letal media	En toxicología, se denomina dosis letal media, DL50	Se toma como referencia la dosis letal media y noventa

	<p>(abreviatura de Dosis Letal, 50 %, dosis letal para el 50 % de la población) CL50 (concentración letal, 50%) a la cantidad de la dosis de una sustancia, radiación o patógeno necesaria para matar a la mitad de un conjunto de animales de prueba después de un tiempo determinado. Los valores de la DL50 son usados con frecuencia como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia. Una menor DL50 es indicativo de mayor toxicidad. (Wikipedia, 2023)</p>	<p>para determinar qué tan eficiente es la <i>Azadiractina</i> para el Control de <i>Drosophila melanogaster</i> en estado adulto, cada 1 o 2 horas después de aplicar el bio-insecticida.</p>
--	---	--

Fuente: Elaboración propia.

8.1 Población y muestra

Las plagas de la mosca de la fruta, generan daños directos en varios cultivos que afectan significativamente su exportación, estimando pérdidas anuales de US \$100 millones de dólares en países fruticultores. En Perú el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) indica que las **pérdidas de productividad de los cultivos** hospedantes pueden estar entre **30% a 50%**. Esto se presenta, debido a que, los adultos de esta especie se alimentan de la pulpa o semillas de los árboles generando que su fruto no sea apto para el consumo humano ni para uso agroindustrial. Además, las hembras depositan los huevos al interior de los frutos, a veces en tallos en desarrollo o en segmentos florales, y el daño generado por la postura de los huevos (picadura) es una vía de entrada para otros microorganismos que van deteriorando el fruto. (Quiroga, s. f.)

Por tal motivo, la población objetivo serán los *Drosophila melanogaster en estado adulto* y la muestra base que se tendrá en cuenta para la realización del experimento será de 120 individuos de esta especie, donde se distribuirá de manera equitativa una cantidad de 10

moscas para cada muestra y 10 como testigos, a fin de controlar su reproducción para mitigar el deterioro de los cultivos por medio de la aplicación de *Azadiractina* extraída del árbol de Neem en diferentes concentraciones con el propósito de encontrar la dosis letal 50 y 90 que nos permitan garantizar la efectividad del Bio-insecticida como una alternativa orgánica que sea amigable con el medio ambiente.

9. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la DL50, para garantizar la efectividad del bioinsecticida hecho a partir de la extracción de *Azadiractina* contenida dentro de las semillas del árbol de Neem (*Azadiracth indica*) para el control de *Drosophila melanoganster* en estado adulto?

10. HIPOTESIS

10.1 HIPÓTESIS NULA: Existe diferencia no significativa en la eficiencia de la *Azadiractina* extraída del árbol de Neem, sobre la *Drosophila melanogaster*, medida con la variación de tiempo.

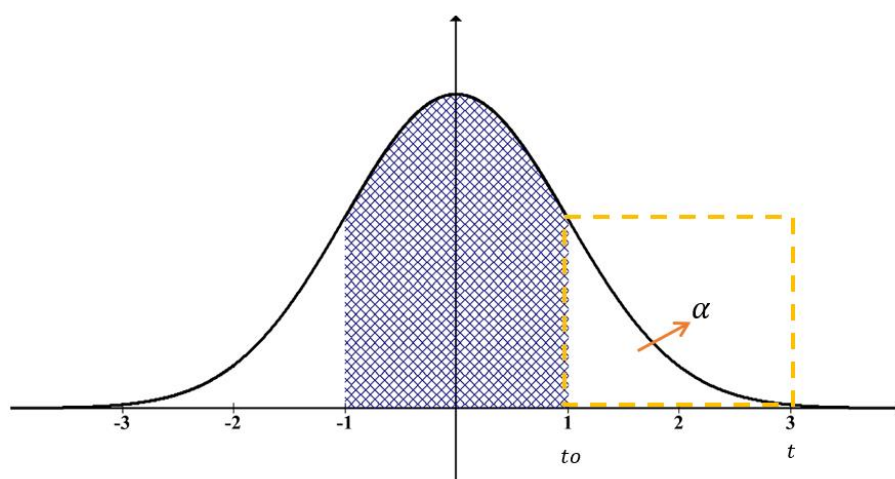
10.2 HIPÓTESIS ALTERNA: Existe una diferencia significativa, en el aumento de la mortalidad de *Drosophila melanogaster*, con la aplicación de la *Azadiractina* extraída del árbol de Neem, medida con la variación de tiempo.

$$H_0 = \mu = DL50$$

$$H_a = \mu > DL50$$

Para el estudio que se va a realizar, la significancia va a tener un valor máximo de 0,01 o 10%. Es decir que el valor que tendrá alfa (α) sería igual a 0,01. Igualmente, para determinar el área en el cual se aceptará la hipótesis nula, se empleará la distribución estadística por medio de la Campana de Gauss (ver ilustración 36), la cual, tendrá como objetivo mostrar cómo se distribuye la probabilidad de la variable continua en el proyecto.

Ilustración 36. Campana de Gauss.



Fuente: <https://aulamatematica.neocities.org/aplicaciones/normal01>

11. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

La investigación pretende evaluar la variable tiempo y mortalidad para las *Drosophila Melanogaster* en estado adulto, al observar la reacción que tienen frente a las aplicaciones del bioinsecticida en unas horas establecidas previamente. El experimento tiene una duración de 48 horas, con periodos de pulverización del bioinsecticida de cada 8 horas. En total se realizaron 6 aplicaciones para garantizar la efectividad del producto en un 100% con las muestras de estudio que contienen 10 de las especies. Durante el proceso se compara el comportamiento de las moscas de la fruta, sometido tanto a condiciones con flujo de aire y luz referente a las primeras 6 muestras simbolizadas por los cauchos de color blanco como con las demás que cuentan con los cauchos negros y están sin la presencia de flujo de aire y luz.

En cada tipo de muestra se va a encontrar un recipiente de “testigos”, a los cuales no se les hace ningún tipo de tratamiento pues estos individuos son el factor clave que va a asegurar que los insectos de los demás envases no han fallecido por causas naturales sino por la efectividad del bioinsecticida. Es de importancia aclarar que, la muestra 6 y 12 son las que se definieron como testigos. Como se evidencia en las tablas 11 y 12, durante la aspersion del producto este grupo de insectos no se vieron afectados en lo absoluto, por tal motivo, no cuentan con dosis de mortalidad ni alcanzan el DL50 ó DL90.

11.1. Muestras con flujo de aire y luz.

Entrando en detalles, las primeras 8 horas después de realizar el rocío del bioinsecticida, se evidencia que hubo una mortalidad entre las 5 y 8 moscas a excepción de la muestra testigo pues en ningún momento varía, lo que da a entender que el insecticida orgánico logró alcanzar la dosis letal media tal y como se ve en la tabla 11. La prueba 5 fue la que tiene la máxima letalidad con un balance de 8 muertas. Los ensayos 2 y 4 son los que le siguen con 3 ejemplares vivos. Por lo tanto, si en la primera pulverización se llega a cumplir

con el DL50, por lógica en la próxima aplicación que se presenta al transcurrir las 16 horas se toma como referencia la mortalidad anterior, esto indica que, todas las pruebas que fueron sometidas a los efectos del producto superan el DL50.

Pasadas 16 horas, se refleja un cambio positivo en cuanto a la efectividad del producto, debido a que, ha habido un aumento en las muertes de los insectos en un rango de 1 a 3 individuos. Por ejemplo, la muestra 2 en la segunda aplicación del bioinsecticida se consigue extinguir al 100% de los ejemplares, lo que conlleva a garantizar y validar su cumplimiento en ambas dosis letales como se plasma en la tabla 11. Además, la muestra 1 es la que presenta la mayor cantidad de fallecimientos en este caso, pues hubo una reducción de 3 moscas al igual que con la muestra 2. No obstante, el ensayo 4 se mantuvo con los mismos 3 insectos que en la primera aspersion. En cuanto a la dosis letal noventa, solo 3 de los ensayos han conseguido llegar, las cuales son la muestra 1,2 y 5; ya que, están entre el 90% o 100% de la mortalidad.

Un día después del experimento, no se observan tantos cambios significativos, puesto a que, la única variación es la eliminación de un individuo en la muestra 4, el resto de los ensayos se mantienen en las mismas circunstancias. No obstante, la misma muestra a las 32 horas alcanza la mortalidad de 9 de los individuos mientras que en la prueba 1 no queda ningún ejemplar vivo, lo que permite validar que si cumplen con la dosis letal noventa. Ver en la tabla 11.

Después de 40 horas, se puede confirmar que todas las muestras consiguen entrar dentro del DL50 y DL90. Sin embargo, no significa que se ha alcanzado aun el 100% de la efectividad porque en los ensayos 3 y 4 persiste un individuo vivo.

Finalmente, cuando pasan 2 días se comprueba que se cumple satisfactoriamente con el objetivo del experimento, ya que, para este momento todas las muestras expuestas al

bioinsecticida se logra obtener un 100% de la mortalidad, lo que significa que el producto es efectivo bajo un tiempo determinado.

Tabla 11. Resultados del experimento para las muestras con flujo de aire y luz.

MUESTRAS / REPETICIONES	VIVAS	MUERTAS	APLICACIÓN	DOSIS DE MORTALIDAD	CANTIDAD TOTAL	¿SE ALCANZA EL DL50?	¿SE ALCANZA EL DL90?
1	4	6	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
1	1	9	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
1	1	9	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
1	0	10	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
1	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
1	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
2	3	7	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
2	0	10	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
2	0	10	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
2	0	10	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
2	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
2	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
3	5	5	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
3	3	7	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
3	3	7	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
3	3	7	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
3	1	9	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
3	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
4	3	7	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
4	3	7	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
4	2	8	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
4	1	9	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
4	1	9	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
4	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
5	2	8	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
5	1	9	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
5	1	9	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
5	1	9	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
5	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
5	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
6	10	0	8 HORAS	-	10	NO	NO
6	10	0	16 HORAS	-	10	NO	NO
6	10	0	24 HORAS	-	10	NO	NO
6	10	0	32 HORAS	-	10	NO	NO
6	10	0	40 HORAS	-	10	NO	NO
6	10	0	48 HORAS	-	10	NO	NO

Fuente: Elaboración propia.

11.2. Muestras sin flujo de aire y luz.

La primera aplicación del bioinsecticida es óptima, ya que, si se puede ver en la tabla 11, se supera la dosis letal media. Sin embargo, ninguna llega a la dosis letal noventa como en el caso de la muestra 7 es la que cuenta con mayor número de individuos muertos, ya que, en su recipiente solo hay solo dos moscas vivas. Mientras que, en los demás envases hay entre 3 y 4 insectos vivos.

A diferencia de las muestras que cuentan con harto flujo de aire y luz, las que están retiradas de estas condiciones no presentan cambios significativos al pasar 16 horas, ya que, su única variación es la disminución de dos individuos en la muestra 10.

En la tabla 11, se puede ver como la mayoría de las muestras después de 24 horas se reducen en un solo individuo menos en la prueba 10 donde fallecen 2 insectos más, lo que genera la mortalidad de todos los ejemplares y a excepción de la testigo porque esta es la única muestra que no registra ninguna variación dentro de todo el experimento. En este caso, solo ingresa el ensayo 7 y 10 dentro de los que cumplen la dosis letal noventa.

Luego de 32 horas, presenta la reducción de la muestra 9 y 11 en un individuo. Por otro lado, la tabla 12 nos da a conocer que la prueba 11 ingresa en los que cumplen la dosis letal noventa.

A las 40 horas del experimento, se evidencia una variación significativa en la investigación, pues es en este punto es cuando el proceso termina, ya que, la mortalidad de los insectos de estudio en estas muestras asegura el 100% de efectividad del bioinsecticida. En la tabla 11, se puede evidenciar como los ensayos evaluados en 40 y 48 horas son exactamente iguales, puesto a que, no hay ningún individuo después de este tiempo, comprobando que la dosis letal media y noventa se lograron alcanzar.

Tabla 12. Resultados del experimento para las muestras sin flujo de aire y luz.

MUESTRAS / REPETICIÓN	VIVAS	MUERTAS	APLICACIÓN	DOSIS DE MORTALIDAD	CANTIDAD TOTAL	¿SE ALCANZA EL DL50?	¿SE ALCANZA EL DL90?
7	2	8	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
7	2	8	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
7	1	9	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
7	1	9	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
7	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
7	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
8	3	7	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
8	3	7	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
8	2	8	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
8	2	8	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
8	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
8	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
9	4	6	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
9	4	6	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
9	3	7	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
9	2	8	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
9	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
9	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
10	4	6	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
10	2	8	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
10	0	10	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
10	0	10	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
10	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
10	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
11	3	7	8 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
11	3	7	16 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
11	2	8	24 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	NO
11	1	9	32 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
11	0	10	40 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
11	0	10	48 HORAS	1,5 cc/L	10	SI	SI
12	10	0	8 HORAS	-	10	NO	NO
12	10	0	16 HORAS	-	10	NO	NO
12	10	0	24 HORAS	-	10	NO	NO
12	10	0	32 HORAS	-	10	NO	NO
12	10	0	40 HORAS	-	10	NO	NO
12	10	0	48 HORAS	-	10	NO	NO

Fuente: Elaboración propia.

Un dato adicional que es importante mencionar y resaltar dentro de la investigación es que, a medida que se evaluaba la efectividad del bioinsecticida con los pequeños ensayos también se aplicaba el producto en los cultivos iniciales que se utilizaron para sacar las 10 especies para cada una de las muestras, como se puede evidenciar en la ilustración 37. Esto se realizó con el propósito de ver que tanta mortalidad podría generar el bioinsecticida en un entorno donde haya una mayor incidencia de plagas.

Ilustración 37. Aplicación del bioinsecticida en cultivos.



Fuente: Elaboración propia.

Los cultivos de *Drosophila Melanogaster* no llevan un registro o conteo previo de los individuos, puesto a que, se está trabajando con una gran cantidad de insectos, eso sin considerar que, esta especie se reproduce demasiado rápido.

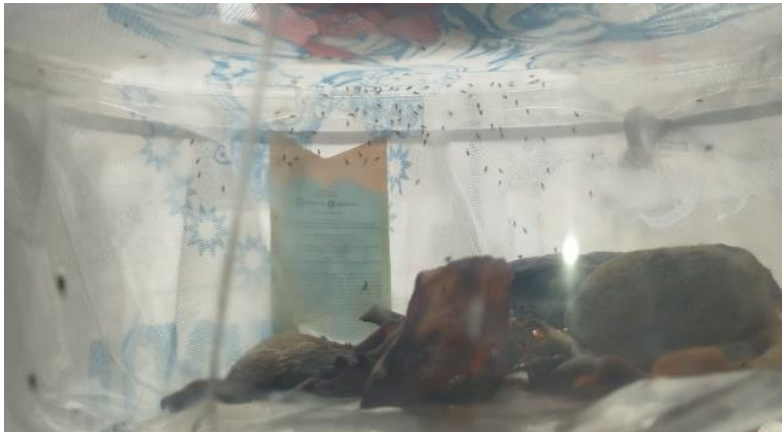
En las ilustraciones 38 y 39 que se presentan en seguida, se plasma la cantidad de moscas con las que se desea explorar cuantas de ellas fallecen frente al bioinsecticida propuesto.

Ilustración 38. Población a evaluar de *Drosophila Melanogaster* en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 39. Población a evaluar de *Drosophila Melanoganster* en recipiente de plástico.



Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos transcurridas las 48 horas que duró el experimento, no fue acorde a los que se esperaba conseguir, ya que, no hubo tanto cambio antes y después de las aplicaciones del producto, pues aún permanecía más del 95% de los individuos de la ilustración 38 y 39. Por lo tanto, al notar esta situación se empezó a examinar las causas de esto, buscando otra forma de hacer más óptimo el bioinsecticida, por lo que se optó por añadir 150 ml de alcohol al 70% junto con 5 gotas de jabón líquido de loza a fin de que se queden pegados en el envase y la concentración al ser mayor, se logre superar la efectividad para una población en constante aumento de *Drosophila Melanoganster*. La nueva sustancia se deja en reposo durante un día.

Para este procedimiento, se dispuso de 12 horas adicionales que van a permitir medir el rendimiento y desempeño del bioinsecticida con una frecuencia de pulverización de cada 2 horas. En este caso, si se notó como la población disminuye con cada aplicación hasta llegar a los resultados que se visualizan en las ilustraciones 40 y 41.

Ilustración 40. Resultados del experimento de *Drosophila Melanoganster* en recipiente de vidrio.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 41. Resultados del experimento de *Drosophila Melanoganster* en recipiente de plástico.



Fuente: Elaboración propia.

Por último, se realiza una investigación final donde se busca comprobar que la mortalidad de las *Drosophila Melanogaster* fue a causa del bioinsecticida y no por la presencia de alcohol al 70%, cuando se adicionó a la sustancia para optimizar y maximizar la efectividad del mismo en cultivos. Para dar inicio, se debe garantizar que se establezcan las mismas condiciones del experimento anterior, por tanto, se hace un conteo de 10 ejemplares para cada una de las muestras, tal y como se evidencia en la ilustración 42.

Ilustración 42. Conteo de los 10 ejemplares en cada muestra.



Fuente: Elaboración propia.

Una vez se agreguen los insectos a los recipientes, se cierra el envase con un trozo de media velada que permita el flujo de aire necesario para que los individuos no se asfixien junto con el alimento necesario para evitar que las moscas fallezcan por causas naturales. No obstante, para asegurar que los individuos que se evalúan solo hayan muerto por el alcohol al 70%, se coloca una segunda muestra con testigos, esta va a validar que las *Drosophila Melanogaster* no se vean afectadas por ninguna circunstancia. En la ilustración 43, se evidencia que el ensayo con testigos es el frasco que tiene el caucho blanco, mientras que, la muestra que será expuesta a los efectos del alcohol es la del caucho negro.

En la ilustración 44, se ve como el alcohol al 70% es envasado a un recipiente de splash para facilitar las aplicaciones del producto cada 8 horas. Este experimento tiene una duración de 24 horas.

Ilustración 43. Muestras del experimento final solo con aplicaciones de alcohol al 70%.



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 44. Alcohol al 70% en recipiente de splash.



Fuente: Elaboración propia.

Transcurridas las 24 horas, se registra en la tabla 13 la cantidad de mortalidad ocasionada por el alcohol al 70% sobre una muestra de 10 individuos. Según los resultados,

no hubo ninguna variación durante el tiempo estimado del experimento, ya que, en todo momento se mantuvo una cantidad de 10 ejemplares vivos, tanto en la muestra de estudio como en los testigos. Esto permite validar y corroborar que el alcohol no influye dentro de la mortalidad del bioinsecticida, puesto a que, este ingrediente puede ayudar a que la sustancia consiga una máxima concentración de la *Azadiractina* presente en las semillas de Neem, lo que genera un mayor impacto frente a las *Drosophila Melanoganster* en estado adulto en cultivos o poblaciones en constante crecimiento.

Tabla 13. Resultados del experimento final con alcohol al 70%.

EXPERIMENTO FINAL CON ALCOHOL AL 70%							
MUESTRAS / REPETICIONES	VIVAS	MUERTAS	APLICACIÓN	DOSIS DE MORTALIDAD	CANTIDAD TOTAL	¿SE ALCANZA EL DL50?	¿SE ALCANZA EL DL90?
1	10	0	8 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO
1	10	0	16 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO
1	10	0	24 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO
Testigo	10	0	8 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO
Testigo	10	0	16 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO
Testigo	10	0	24 HORAS	Alcohol 70%	10	NO	NO

Fuente: Elaboración propia.

12. ANÁLISIS DE HIPOTESIS

En base a los resultados obtenidos en la tabla 13 y 14, se puede concluir que existe una diferencia significativa en el aumento de la mortalidad de *Drosophila melanogaster* con la aplicación de la *Azadiractina* extraída del árbol de Neem, medida en DL50. Nuestros hallazgos respaldan la hipótesis alterna planteada, demostrando que la *Azadiractina* tiene un efecto significativo en la mortalidad de las moscas de la fruta.

Tabla 14. Comparación de medias de los ensayos con flujo de aire y luz.

COMPARACION DE MEDIAS		
Muestra 1 con Muestra 2	0,5	< 1,95 (No signigicativa)
Muestra 2 con Muestra 3	2	> 1,95 (Significativa)
Muestra 5 con Muestra 6	9,16666667	> 1,95 (Significativa)

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 15. Comparación de medias de los ensayos sin flujo de aire y luz.

COMPARACION DE MEDIAS		
Muestra 1 con Muestra 2	0,6666667	< 1,95 (No signigicativa)
Muestra 2 con Muestra 3	0,5	< 1,95 (No signigicativa)
Muestra 5 con Muestra 6	8,5	> 1,95 (Significativa)

Fuente: Elaboración propia.

Los datos recopilados y analizados revelaron un aumento notable en la mortalidad de *Drosophila melanogaster* cuando se expuso a concentraciones crecientes de *Azadiractina*. Además, los resultados mostraron una relación dosis-respuesta clara, donde las concentraciones más altas de *Azadiractina* resultaron en una mayor mortalidad.

Finalmente, en las ilustraciones 42 y 43 se realiza el test de normalidad de shapiro-wilk con el objetivo de comprobar que la población esta normalmente distribuida.

Ilustración 45. Test de normalidad de Shapiro-wilk para las muestras con flujo de aire y luz.

```
Grupo.A = c(6,9,9,10,10,10,7,10,10,10,10,5,7,7,7,9,10,7,7,8,9,9,10,8,9,9,9,10,10)
shapiro.test(Grupo.A)
```

Run (Ctrl-Enter) [You si](#)
[Privac](#)
Comp

```
Shapiro-Wilk normality test
data: Grupo.A
W = 0.82418, p-value = 0.0001869
```

Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 46. Test de normalidad de Shapiro-wilk para las muestras sin flujo de aire y luz.

```
Grupo.A = c(8,8,9,9,10,10,7,7,8,8,10,10,6,6,7,8,10,10,6,8,10,10,10,10,7,7,8,9,10,10)
shapiro.test(Grupo.A)
```

Run (Ctrl-Enter) [You sho](#)
[Privacy](#)
Comput

```
Shapiro-Wilk normality test
data: Grupo.A
W = 0.84224, p-value = 0.0004282
```

Fuente: Elaboración propia.

13. CONCLUSIONES:

Inicialmente el proyecto permitió a partir del proceso de molienda de las semillas del árbol de neem demostrar ser efectivo para obtener el extracto de Azadiractina, el cual es el componente activo del bio insecticida. Esta etapa es crucial para asegurar la disponibilidad de la dudita cuando necesaria para el control de la plaga objeto la cual fue la *drosophila melanogaster*.

Además, el bioinsecticida hecho a partir de la *Azadiractina* extraída de la semilla de Neem presenta propiedades insecticidas que pueden ser eficientes con la *drosophila melanogaster* en estado adulto. Entre las ventajas se destaca su origen natural, su bajo impacto ambiental, genera menos toxicidad para otros organismos no objetivo, contribuye a la reducción de la contaminación del suelo y del agua, preserva la biodiversidad y los ecosistemas y finalmente cabe la posibilidad de ser utilizado dentro de la agricultura orgánica ya que cumple con los estándares de productos naturales y sostenibles. Sin embargo, este tipo de bioinsecticida genera limitaciones puesto que la persistencia de este es menor, lo que significa que se puede requerir una aplicación más frecuente, además, su efectividad puede depender de factores ambientales tales como la temperatura y la humedad de la zona.

Por otro lado, a través de pruebas y experimentos, se ha evaluado la eficacia del bioinsecticida a base de Azadiractina en el control de *Drosophila melanogaster* en estado larval. Los resultados obtenidos inicialmente con el alcohol al 40% demostraron una mortalidad significativa de la plaga objetivo, sin embargo, se demora en evidenciar su efectividad por lo que se aumenta su porcentaje de alcohol al 70% dando resultados bastante significativos demostrando que el bioinsecticida es capaz de reducir la población de esta plaga a más de la mitad.

Finalmente, el estudio demuestra que el bioinsecticida desarrollado a partir de la extracción de la *Azadiractina* eficiente en el control de *drosophila melanogaster* está estado adulto. Los resultados obtenidos indican que la aplicación de este bioinsecticida reduce significativamente la población, demostrando su capacidad para controlar esta plaga de manera efectiva. Además, ofrece una opción prometedora para el control de plagas en la agricultura y puede ayudar a reducir la dependencia de productos químicos sintéticos en la producción de alimentos.

14. OBSERVACIONES

El bioinsecticida elaborado a partir de *Azadiractina* ha demostrado tener un efecto significativo en el exoesqueleto y la quitina de los insectos adultos, lo que se evidencia en su notable mortalidad tras su aplicación. La presencia de *Azadiractina* en el producto actúa como un alterador específico del proceso de muda y crecimiento de los insectos, interfiriendo en la síntesis y formación adecuada de la quitina, componente principal del exoesqueleto. Esta interferencia debilita el exoesqueleto, reduciendo su capacidad de protección y generando una mayor vulnerabilidad en los insectos tratados, lo que finalmente conduce a su fallecimiento.

Este mecanismo de acción específico confirma la eficacia del bio-insecticida en el control de plagas, al atacar de manera selectiva la integridad del exoesqueleto y la síntesis de quitina en los insectos. Además, esta acción dirigida proporciona un enfoque respetuoso con el medio ambiente al no afectar negativamente a otros organismos no objetivo. La evidente mortalidad observada en los insectos tratados propone este producto como una alternativa prometedora y sostenible en el control de plagas, al aprovechar los mecanismos naturales de defensa de los insectos y su propia biología para combatir su proliferación.

La importancia de realizar múltiples aplicaciones del bio-insecticida es una estrategia que asegura una cobertura completa y mayor efectividad en el control de los insectos adultos, teniendo en cuenta que algunos individuos pueden no haber sido alcanzados en aplicaciones anteriores. Se debe considerar el tiempo de duración de su acción y determinar si es necesario repetir las aplicaciones en intervalos regulares para mantener un control efectivo. Esta evaluación permitirá garantizar un tratamiento continuo y una protección a largo plazo contra los insectos tratados.

15. BIBLIOGRAFIA.

- ¿Qué es el Neem? (s/f). Com.mx. Recuperado el 15 de noviembre de 2022, de <https://suryaneem.com.mx/que-es-el-neem/>
- Agboyi, L. K., Djade, K. M., Ahadji-Dabla, K. M., Ketoh, G. K., Nuto, Y., and Glitho, I. A. (2015). Vegetable production in Togo and potential impact of pesticide use practices on the environment. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(2): 723-736
- Ahmed, S. 1985,1986(forthcoming). Use of neem materials by Indo-Pakistani farmers: Some observations. In R. C. Saxena and S. Ahmed, ed, Proc. Res. Planning Wkshp., Botanical Pest Control Project. Int. Rice Res. Inst., Los Baños, Philippines.
- Angulo, M. Gardea, A. Vélez de la Rocha, R. García, R. Carrillo, A. Cháidez, C. y Partida, J. (2004). Contenido de Azadiractina en Semillas de Nim (*Azadirachta indica* A. JUSS) Colectadas en Sinaloa, México. *Fitotecnia*, 27(4), 305-311. 3.
- Arévalo C, A., Bacca, T., & Soto G, A. (2014). DIAGNÓSTICO DEL USO Y MANEJO DE PLAGUICIDAS EN FINCAS PRODUCTORAS DE CEBOLLA JUNCA *Allium fistulosum* EN EL MUNICIPIO DE PASTO. *Luna Azul*, 38, 132–145. <https://doi.org/10.17151/luaz.2014.38.8>
- Artículos de agricultura orgánica | Blog. Recuperado 10 de septiembre de 2022, de <https://mycsainc.com/newsletter/blog/2019/11/02/uso-del-extracto-de-neem-paracontrol-de-plagas/>
- Azadirachtina: una alternativa para el manejo de plagas en su cultivo*. (2018, 13 agosto). Metroflor. <https://www.metroflorcolombia.com/azadirachtina-una-alternativa-para-el-manejo-de-plagas-en-su-cultivo/>
- Arora, S., Kanojia, A. K., Kumar, A., Sardana, H. R., and Sarkar, S. K. (2012). Impact of biopesticide formulation on tomato (*Lycopersicon esculentum*): economics and environmental effects. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*. 82(12): 67-70.
- Ávila, K., Chaparro-Giraldo, A., and Reyes, G. (2011). Environmental effect of conventional and GM crops of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Agronomía Colombiana*. 29(3): 341-348.
- Bajwa, A. y Ahmad, A. (2012). Potential Applications of Neem Based Products as Biopesticides. *The Health*, 3(4), 116-120.
- Bellés, X. (s/f). *Regulación hormonal de la metamorfosis en los insectos*. Investigación y Ciencia. Recuperado el 23 de noviembre de 2022, de <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/la-especie-queconquist-el-planeta-650/regulacin-hormonal-de-la-metamorfosis-en-los-insectos-13550>
- Biswas, K. Chattopadhyay, I. Banerjee, R. y Bandyopadhyay, U. (2002). Biological Activities and Medicinal Properties of Neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82(11), 1 336-1 345.
- Casarett & Doull's. (2005). Fundamentos de toxicología. Scribd.

<https://es.scribd.com/document/257344216/Casarett-y-doull-fundamentos-deToxicologia>

- Chaparro-Narváez, P., & Castañeda-Orjuela, C. (2015). Mortalidad debida a intoxicación por plaguicidas en Colombia entre 1998 y 2011. *Biomédica*, 35(Sup2), 90–102. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2472>
- Chen, X. D., Gill, T. A., Pelz-Stelinski, K. S., and Stelinski, L. L. (2017). Risk assessment of various insecticides used for management of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Florida citrus, against honey bee. *Apis mellifera*. *Ecotoxicology*. 26(3): 351-359.
- Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402-1419.
- Denlinger, D. L., & Lee, R. E. (2010). *Low temperature biology of insects*. Cambridge University Press.
- El Tiempo*, R. (2008, enero 4). *Estudian efectos del alcohol en moscas*. *El Tiempo*. <https://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-2784393>
- Esparza-Díaz, G., López-Collado, J., Villanueva-Jiménez, J. A., Osorio-Acosta, F., Otero Colina, G., & Camacho-Díaz, E. (2010). Concentración de azadiractina, efectividad insecticida y fitotoxicidad de cuatro extractos de *Azadirachta indica* A. Juss. *Agrociencia* (1996), 44(7), 821–833. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140531952010000700008
- Estrella, C. (2017, febrero). IMPREGNACIÓN DE ACEITE DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA) EN SOPORTE TEXTIL PARA COMBATIR LA MOSCA DE LA FRUTA ANASTREPHA STRITAD. *ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA*. Edu.ec. Recuperado el 23 de octubre de 2022, de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/17404/1/CD-7905.pdf>
- FAO, S. F. M. (2004). OMS de Autoridades de Reglamentación sobre Inocuidad de los Alimentos. Secretaría Conjunta del Foro Mundial de Autoridades de Reglamentación sobre Inocuidad de los Alimentos c/o Servicio de Calidad de los Alimentos y Normas Alimentarias Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Viale delle Terme di Caracalla. Roma: FAO/OMS.
- INTOXICACIONES POR SUSTANCIAS QUÍMICAS código: 365*. (s/f). Gov.co. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de http://observatoriosaludcauca.gov.co/wp-content/uploads/2018/03/Intoxicaciones_PROTOCOLO2017.pdf
- Genética FCNyM UNLP. (2019). *Drosophila melanogaster como organismo modelo. Nomenclatura y simbología. Observación de fenotipos*. <https://blogs.ead.unlp.edu.ar/geneticamuseo/files/2019/06/Gu%C3%ADas-TP-2019-Segunda-parte.pdf>
- Gil, B. (2000). Bioinsecticidas de nim en el control de plagas. Consultado en agosto 2010. (en red). Disponible en bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/782/lopezAgrarias2-05.pdf.

- Gonzales, G. (2019). Impacto ambiental por uso de plaguicidas en tres áreas de producción de melón en la Comarca Lagunera, México. Tomado de:
<https://www.scielo.org.mx/pdf/cuat/v13n2/2007-7858-cuat-13-02-113.pdf>
- GODOY-HERRERA, RAÚL. (2001). La conducta de larvas de Drosophila (Diptera; Drosophilidae): su etología, desarrollo, genética y evolución. *Revista chilena de historia natural*, 74(1), 55-64. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2001000000011>
- Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977-987.
- Hamann, G. Árboles de nim: solución rápida contra la desertificación. (2013). DW.COM; Deutsche Welle (www.dw.com). Recuperado el 20 de noviembre de 2022, de <https://www.dw.com/es/%C3%A1rboles-de-nim-soluci%C3%B3n-contr%C3%A1-la-desertificaci%C3%B3n/a-17015651>
- Hernández Gutiérrez, Jennifer Exania y Torrentes Herrera, Milena Junieth (2020) *Elaboración de un extracto con función bioinsecticida a partir de las semillas del árbol de neem (Azadirachta indica A. Juss) para combatir la plaga de la mosca blanca (B. Tabaci) en cultivo de tomate. Departamento de Química UNAN, Managua, Agosto-Noviembre 2020.* Otra thesis, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua.
- Jacas, J. Caballero, P. Ávila, J. (2005). El Control Biológico de Plagas y Enfermedades. La Sostenibilidad de la Agricultura Mediterránea. Castellón, España: Publicacions de la Universitat Jaume I
- Jadeja, G. Maheshwari, R. y Naik, S. (2011). Extraction of Natural Insecticide Azadirachtin From Neem (Azadirachta indica A. Juss) Seed Kernels Using Pressurized Hot Solvent. *J. of Supercritical Fluids*, 56(1), 253-258
- La importancia de la biodiversidad en el funcionamiento de los agroecosistemas: caso floricultura. (2017, 17 septiembre). Metroflor. <https://www.metroflorcolombia.com/laimportancia-de-la-biodiversidad-en-elfuncionamiento-de-los-agroecosistemas-casofloricultura/>
- Larson, R. O. (1985). *U.S. Patent No. 4,556,562*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Lino, P. B. (2005). La resistencia a insecticidas: de los mecanismos a las estrategias de manejo. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (173), 36-39.
- López, M. y Estrada, J. (2005), Los Bioinsecticidas de Nim en el Control de Plagas de Insectos en Cultivos Económicos. *FCA UNCuyo*. 37(2), 41-49.
- Mendoza, K. E. Z.(2018). Producción de la especie Drosophila melanogaster para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.
- Mordue (Luntz), A. J., & Blackwell, A. (1993). Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, 39(11), 903–924. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(93\)90001-8](https://doi.org/10.1016/0022-1910(93)90001-8)
- Mordue, A. J., & Nisbet, A. J. (2000). Azadiractina del árbol de neem Azadirachta indica: su acción contra los insectos Azadiractina hacer nim, Azadirachta indica: sua ACAO insetos contraindicaciones. Com.co. Recuperado el 30 de agosto de 2022, de

<http://www.agrogamacolombia.com.co/wp-content/uploads/2014/07/Azadiractinadel%C3%A1rbol-de-Neem.pdf>

- N. (2022, 15 marzo). *Descubre el uso del extracto de Neem para control de plagas*. Artículos de agricultura orgánica | Blog. <https://mycsainc.com/newsletter/blog/2019/11/02/uso-del-extracto-de-neem-para-control-de-plagas/>
- Ordoñez-Beltrán, M. F., Jacobo-Cuéllar, J. L., Quintana-López, E., Parra-Quezada, R. Á., Guerrero-Prieto, V. M. y Ríos-Velasco, C. (2016). Pulgón lanígero e impacto ambiental por el uso de pesticidas en manzano en Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7(3): 573-583.
- Orozco, F. y Rodríguez, M. (2007). Cultivos de Células en Suspensión de *Azadirachta indica* para la Producción de un Bioinsecticida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3), 251-258.
- O'Malley, G. F., & O'Malley, R. (2023, 19 abril). *Intoxicación (envenenamiento) por insecticidas*. Manual MSD versión para público general. [https://www.msdmanuals.com/es-co/hogar/traumatismos-y-envenenamientos/intoxicaciones-o-envenenamientos/intoxicaci%C3%B3n-envenenamiento-por-insecticidas#:~:text=S%C3%ADntomas%20de%20la%20intoxicaci%C3%B3n%20\(envenenamiento,como%20deposiciones%20y%20micci%C3%B3n%20frecuentes](https://www.msdmanuals.com/es-co/hogar/traumatismos-y-envenenamientos/intoxicaciones-o-envenenamientos/intoxicaci%C3%B3n-envenenamiento-por-insecticidas#:~:text=S%C3%ADntomas%20de%20la%20intoxicaci%C3%B3n%20(envenenamiento,como%20deposiciones%20y%20micci%C3%B3n%20frecuentes).
- Ozuna, E., 2000. Producción de plantas, establecimiento y manejo de plantaciones de *Neem* (*Azadirachta indica* Juss). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, pp. 29.
- Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229-252.
- Pretty, J. (2008). Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1491), 447-465.
- Prieto Villalba, D. (2018). *Causas y consecuencias de las problemáticas actuales en la gestión de envases plaguicidas de uso agrícola en Cundinamarca* (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).
- Quarters, J. (1994). Estudios sobre la eficacia del control biológico del escarabajo de la patata *Leptinotarsa decemlineata*: Comparación de la eficacia de un producto comercial de *Bacillus thuringiensis* (Novodor), y un preparado de azadiractina (NeemAzal-T) a dos concentraciones distintas. Experto en agricultura ecológica. España.
- Regoli, F., & Gorbi, S. (2013). Heavy metal pollution in estuaries: Impacts on environment and organisms. *Estuaries and Coasts*, 36(4), 693-701.
- Reyes, C. (2018, 13 abril). Efectos nocivos de los plaguicidas en la salud humana. *Panorama AGROPECUARIO*. Recuperado 16 de octubre de 2022, de <https://panoramaagro.com/?p=2984>
- Robert, W., Douglass, C. & Gustav, v. (s. f.). La revolución neolítica. La economía de mercado. Recuperado 9 de septiembre de 2022, de https://www.juntadeandalucia.es/averroes/centros-tic/14002996/helvia/aula/archivos/repositorio/250/271/html/economia/1/la_revolucion

– [neolitica.htm#:~:text=La%20revoluci%C3%B3n%20neol%C3%ADtica&text=Hace%20diez%20mil%20a%C3%B1os%2C%20reci%C3%A9n,el%20pulimentado%20de%20la%20piedra.](#)

Satdive, R. Fulzele, D. y Eapen, S. (2006). Production of Biopesticide Azadirachtin by Hairy Root Cultures of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Barc Newsletter*, 273, 195-206.

Terrazas, B. (2019, 4 abril). *¿En qué nos parecemos a las moscas de la fruta?* UNAM Global. <https://unamglobal.unam.mx/en-que-nos-parecemos-a-las-moscas-de-la-fruta/>