



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
BIOLOGÍA GENERAL



**Concentración mínima efectiva del entomopatógeno
Beauveria bassiana expuesta a radiación UV-C sobre
Spodoptera frugiperda y *Cosmopolites sordidus*.**

TESIS

PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA

Br. Cinthya Elizabeth Fernández Gaitán

Br. Stell Rutvi Paico Marín

LAMBAYEQUE – PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
BIOLOGÍA GENERAL



Concentración mínima efectiva del entomopatógeno
***Beauveria bassiana* expuesta a radiación UV-C sobre**
***Spodoptera frugiperda* y *Cosmopolites sordidus*.**

TESIS

PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA

Br. Cinthya Elizabeth Fernández Gaitán

Br. Stell Rutvi Paico Marín

LAMBAYEQUE – PERÚ

2018

**Concentración mínima efectiva del entomopatógeno
Beauveria bassiana expuesta a radiación UV-C sobre
Spodoptera frugiperda y *Cosmopolites sordidus*.**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA

APROBADA POR:

Dra. Carmen Calderón Arias
PRESIDENTE

Dra. Gianina Llontop Barandiarán
SECRETARIA

Dr. Luis Chicoma Chaqui
VOCAL

Lic. Mario C. Moreno Mantilla
PATROCINADOR

LAMBAYEQUE, PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios por permitir realizar mis grandes sueños y mostrarme que en los caminos de la naturaleza se redescubren mediante la investigación grandes enigmas buscadas por espíritus científicos y así observar que muchas de las respuestas se encuentran allí.

A mis padres: Jacqueline Beyrut Marín Saavedra y Leonardo Vitalicio Paico García por su apoyo incondicional, que con su dedicación y amor siempre estuvieron motivándome y apoyándome a continuar mis estudios académicos, A todos mis hermanos que siempre me ayudaron y a mí Krísh Lucero por su colaboración.

A Joel Andrés Arias Alvarado que estuviste motivado en esta investigación y que siempre lleves tu curiosidad al conocimiento.

A todos mis profesores que estuvieron en mi formación durante toda la carrera.

Stell Rutvi Paico Marín

DEDICATORIA

A Dios por permitirme poder realizar éste gran objetivo, por la sabiduría y la buena actitud ante todas las circunstancias en mi vida. A mis padres: Elizabeth Gaitán Chuquílín y Marco Orlando Fernández Cerna por su apoyo incondicional y confianza que me han brindado desde siempre para crecer como profesional. A mis hermanos Olinda y Valentino por aportar buenas cosas en mi vida para seguir creciendo, a Kevin Daniel Llontop Pérez por su compañía en mi vida universitaria y ayudarme a cumplir cada meta, porque ahora sé que sí lo creo, se hace realidad.

A todos mis maestros por su aporte en mis conocimientos durante toda la carrera.

Cintha Elizabeth Fernández Gaitán

AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Mario Moreno Mantilla, profesor de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, por su asesoramiento, orientación y paciencia en la ejecución de la tesis.

Lic. Jorge Fupuy Chung, Profesor de Diseños experimentales por el planteamiento de datos estadísticos y revisión.

Al Sr. Daniel Manrique del Carpio, propietario de Negocios Pachamama SAC. Por la facilidad de acceso a campo para la colecta de muestras del picudo negro, por el apoyo y consideración.

Al Br. Jorge Aníbal Valle por su ayuda en los protocolos de mantenimiento para *Spodoptera frugiperda*.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	ANTECEDENTES	4
	2.1 <i>Beauveria</i> frente a <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
	2.2. <i>Beauveria</i> frente a <i>Cosmopolites sordidus</i>	7
	2.3 <i>Beauveria bassiana</i>	9
	2.4 <i>Spodoptera frugiperda</i>	10
	2.5 <i>Cosmopolites sordidus</i>	12
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	14
	3.1. Población y Muestra	14
	3.2. Materiales	14
	3.2.1. Material biológico	14
	3.2.2. Material de Laboratorio y Reactivos.	14
	3.3 Metodología	18
	3.3.1 Irradiación de la cepa <i>Beauveria bassiana</i> (método de Valdés, 2011 modificado) ..	18
	3.3.2 Preparación del Inóculo	22
	3.3.3 Obtención y Mantenimiento de Plagas	24
	3.3.4 Enfrentamiento	24
	3.3.5 Diseño experimental	26
	3.3.6 Análisis de Datos:	26
IV.	RESULTADOS	29
	4.1 DOSIS LETAL MEDIA (DL50) de las cepas del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>Cosmopolites sordidus</i>	29
	4.1.1 Prueba PROBIT para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>Cosmopolites sordidus</i>	30
	4.2 Análisis estadístico	33
	4.2.1. Promedio de muertos infectados de adultos <i>Cosmopolites sordidus</i>	33
	4.2.2. Análisis estadístico de <i>Cosmopolites sordidus</i>	34
	4.3 DOSIS LETAL MEDIA (DL50) de las cepas del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control larvas del III estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i>	45
	4.3.1 Prueba PROBIT para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i>	46
	4.4 Análisis estadístico	49
	4.4.1. Promedio de muertos infectados de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i>	49
	4.4.2. Análisis estadístico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	50
V.	DISCUSIÓN	61
VI.	CONCLUSIONES	64
VII.	RECOMENDACIONES	65
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
IX.	ANEXOS	71

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Resumen del diseño experimental sobre los tratamientos de <i>B. bassiana</i>	26
Tabla 2	Determinación de la DL50 y DL90 de las cepas Nativa y BI12H para <i>C. sordidus</i>	30
Tabla 3	Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>C. sordidus</i> para la cepa Nativa.	30
Tabla 4	Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>C. sordidus</i> para la cepa BI12H.	31
Tabla5	Análisis de varianza de los promedios de mortalidad de <i>Cosmopolites sordidus</i> por la acción toxica de las cepas Nativa y (BI12H).	34
Tabla 6	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en semanas.	35
Tabla 7	Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.....	37
Tabla 8	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos.....	39
Tabla 9	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas*concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos para <i>C. sordidus</i>	41
Tabla 10	Determinación de la DL50 y DL90 de las cepas Nativa y BI12H de <i>S. frugiperda</i>	45
Tabla 11	Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i> para la cepa Nativa.	46
Tabla 12	Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de <i>larvas del III estadio</i> de <i>S. frugiperda</i> para la cepa BI12H.....	47
Tabla 13	Análisis de varianza de los promedios de mortalidad de <i>Spodoptera frugiperda</i> por la acción toxica de las cepas Nativa y (BI12H).	50
Tabla 14	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en días.....	51
Tabla 15	Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.....	53
Tabla 16	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos.....	55
Tabla 17	Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas de <i>B. bassiana</i> y días de evaluación para la plaga <i>S. frugiperda</i>	57

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Cepa de <i>Beauveria bassiana</i> en tubos	16
Figura 2 Posturas de <i>Spodoptera frugiperda</i> en hojas de maíz.	16
Figura 3 Adultos de <i>Cosmopolites sordidus</i> en tronco maduro del Banano.	17
Figura 4 Irradiación de luz UV-C 254nm de <i>Beauveria bassiana</i> . A. Diseminación del inóculo en placa de Petri. B. Exposición de las placas preparadas a luz UV-C. C. Rotulación de la cepa irradiada.	19
Figura 5 Descripción microscópica de las cepas. 1. <i>Beauveria bassiana</i> Nativa (a) Hifas gruesas, (b) Conidióforo, (c) Esporas. 2. <i>Beauveria bassiana</i> 12h (a) Hifas delgadas, (b) Fiálide, (c) Esporas reducidas.	20
Figura 6 Replicación de las cepas en placas y tubos de ensayo.	21
Figura 7 Preparación de los inóculos. A. Solución salina más 0.1% de Tween 80 + cepas. B. Filtrado de la solución. C. Conteo en cámara de Newbauer. D. Preparación de las concentraciones.	23
Figura 8 Enfrentamiento del entomopatógeno frente a las plagas. A. <i>C. sordidus</i> B. <i>S. frugiperda</i> .	25
Figura 9 Diseño experimental para Establecer la efectividad del entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> expuesta a radiación UV-C sobre adultos de <i>Cosmopolites sordidus</i> y larvas del III estadio de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	28
Figura 10 Insectos infectados de <i>C. sordidus</i> a diferentes concentraciones de a cepa <i>B. bassiana</i> nativa.	43
Figura 11 Insectos infectados de <i>C. sordidus</i> a diferentes concentraciones de a cepa <i>B. bassiana</i> 12H	44
Figura 12 Insectos infectados de <i>S. frugiperda</i> a diferentes concentraciones de la cepa <i>B. bassiana</i> nativa.	59
Figura 13 Insectos infectados de <i>S. frugiperda</i> a diferentes concentraciones de a cepa <i>B. bassiana</i> 12H	60
Figura 14 Vista posterior de la placa, insectos recubiertos por la cepa BI12H	60

INDICE DE GRAFICAS

Gráfico 1 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>C. sordidus</i> para la cepa Nativa.	32
Gráfico 2 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de adultos de <i>C. sordidus</i> para la cepa BI12H.	32
Gráfico 3 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en semanas.....	36
Gráfico 4 Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.	38
Gráfico 5 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos.....	40
Gráfico 6 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas*concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos para <i>C. sordidus</i>	42
Gráfico 7 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i> para la cepa Nativa.	48
Gráfico 8 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno <i>B. bassiana</i> para el control de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i> para la cepa BI12H.	48
Gráfico 9 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en días.....	52
Gráfico 10 Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.	54
Gráfico 11 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de <i>B. bassiana</i> aplicadas en los tratamientos.....	56
Gráfico 12 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas de <i>B. bassiana</i> y días de evaluación para la plaga <i>S. frugiperda</i>	58

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 . Taxonomía de <i>Spodoptera frugiperda</i>	71
Anexo 2. Taxonomía <i>Cosmopolites sordidus</i>	72
Anexo 3 Taxonomía <i>Beauveria bassiana</i>	73
Anexo 4. Identificación de <i>Beauveria bassiana</i>	74
Anexo 5. Mecanismo de Acción	77
Anexo 6. Promedios de mortalidad de adultos <i>Cosmopolites sordidus</i> de la cepa Nativa <i>Beauveria bassiana</i>	79
Anexo 7 Promedios de mortalidad de adultos <i>Cosmopolites sordidus</i> de la cepa (BI12H) <i>Beauveria bassiana</i>	80
Anexo 8. Interacción entre Semana y cepa para la plaga <i>Cosmopolites Sordidus</i>	81
Anexo 9. Interacción entre semana y concentración para la plaga <i>Cosmopolites Sordidus</i>	81
Anexo 10 Promedios de mortalidad de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i> de la cepa Nativa <i>Beauveria bassiana</i>	82
Anexo 11 Promedios de mortalidad de larvas del III estadio de <i>S. frugiperda</i> de la cepa (BI12H) <i>Beauveria bassiana</i>	83
Anexo 12. Interacción entre semana, cepa y concentración para la plaga <i>Cosmopolites Sordidus</i>	84
Anexo 13. Interacción entre días y concentración para la plaga <i>Spodoptera frugiperda</i>	84
Anexo 14. Interacción entre cepas y concentraciones para la plaga <i>Spodoptera frugiperda</i>	85
Anexo 15. Interacción entre días, cepa y concentración para la plaga <i>Spodoptera frugiperda</i>	86
Anexo 16.	86
Anexo 17.	88

RESUMEN

Las plagas *Cosmopolites sordidus* y *Spodoptera frugiperda* son causantes de serios problemas para la agricultura porque causan daños y pérdidas económicas en cultivos de importancia como el de maíz y banano, siendo el biocontrol la opción más adecuada y amigable con el ambiente, teniendo dentro los hongos entomopatógenos a la especie de *Beauveria bassiana*. Con la finalidad de establecer la efectividad del entomopatógeno *Beauveria bassiana* irradiada con luz UV-C frente a las plagas de banano y maíz *Cosmopolites sordidus* y *Spodoptera frugiperda*, estimar su mortalidad y determinar la concentración mínima efectiva. En éste trabajo de investigación se utilizó 10 larvas del estadio III de *Spodoptera frugiperda* y 10 adultos de *Cosmopolites sordidus* que fueron enfrentadas a 5 concentraciones de dos cepas de *Beauveria bassiana* una Nativa como control y una experimental irradiada con luz UVC a 12h (BI12H) establecidas en laboratorio: 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml con 3 repeticiones por concentración. Ésta última cepa se obtuvo mediante la irradiación en una cámara con luz UV-C a 254 nm exponiéndola a 12 horas. Siguiendo un método utilizado en SENASA modificado para la obtención de inóculos y el método según lo descrito por bayley-scott para las disoluciones. Los resultados mostraron una actividad entomopatógena muy potente para la cepa experimental de *B. bassiana* BI12H en donde la efectividad se obtuvo con la dosis letal media DL50 observados en los promedios de mortalidad de las plagas infectadas con el entomopatógeno y en la concentración mínima efectiva que resultó para la concentración 3×10^7 conidias/ml para ambas cepas trabajadas. Se concluyó que la cepa irradiada (BI12H) tiene un mayor efecto entomopatógeno frente a las plagas *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda* que la cepa Nativa en condiciones de laboratorio.

Palabras claves: Entomopatógeno, DL50, cepa Nativa, cepa BI12H, *Beauveria bassiana*, *Cosmopolites sordidus* y *Spodoptera frugiperda*.

ABSTRACT

The pests *Cosmopolites sordidus* and *Spodoptera frugiperda* are causing serious problems for agriculture because cause damages and economic losses in important crops such as corn and bananas, being the biocontrol the most suitable and friendly option with the environment, having the entomopathogenic fungi inside the species of *Beauveria bassiana*. In order to establish the activity of the *Beauveria bassiana* entomopathogen, irradiate with UV-C light against banana and corn pests *Cosmopolites sordidus* and *Spodoptera frugiperda*, estimate their fertility and determine the minimum concentration. In this research work, 10 larvae of *Spodoptera frugiperda* state III and 10 adults of *Cosmopolites sordidus* were observed, which were faced with 5 suppliers of *Beauveria bassiana* strains, one Native as control and one irradiated experimentally with UVC light at 12 h (BI12H) in laboratory: 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidia / ml with 3 repetitions per concentration. This last strain was obtained by irradiation in a chamber with UV-C light at 254 nm exposing it to 12 hours. Follow a method used in modified SENASA for obtaining inoculum and the method as described by bayley-scott for solutions. The results are part of a very potent entomopathogenic activity for the experimental strain *B. bassiana* BI12H is where it is obtained with the dose of lethal means LD50 are observed in the averages of the life of the plagues infected with the entomopathogen and in the minimum effective concentration that the concentration was 3×10^7 conidia / ml for both strains worked. It was concluded that the irradiated strain (BI12H) has a greater effect against the *Cosmopolites sordidus* and larvae of *Spodoptera frugiperda* stage III than the native strain in laboratory conditions.

Key words: Entomopathogen, DL50, native strain, strain BI12H, *Beauveria bassiana*, *Cosmopolites sordidus* and *Spodoptera frugiperda*.

I. INTRODUCCIÓN

Los cultivos de hortalizas y cultivos frutales ocupan un lugar muy importante dentro de los sistemas de producción agrícola en todo el mundo. (Lucero, Peña, & Bacca, 2004). El sector agrario Lambayecano aporta con apenas 0.8% al PBI nacional, mientras que su aporte a la formación del Producto Bruto Interno regional es de 16.2%. Los cultivos predominantes son arroz y caña de azúcar y en menor medida están el maíz, hortalizas, las menestras y frutales de exportación. (Gobierno Regional de Lambayeque, 2008) . El banano orgánico es uno de los principales frutos de Perú, entre el 2010 y 2015, la producción de banano orgánico aumentó en un 94% (Sotomayor, 2015). En enero del 2016, los principales departamentos exportadores de Banano Orgánico Fresco fueron Piura, Tumbes, Lambayeque y Lima. (Ipcni Chiclayo, 2016).

La producción de Maíz, ha aumentado en los últimos años por ser fuente importantísima de fibra para nuestro cuerpo, en el último mes del año 2017, hubo un incremento de 37,4% en comparación al año 2016 en el mismo mes, según lo dio a conocer el INEI mediante el Informe Técnico Perú: Panorama Económico Departamental, elaborado con información proporcionada por el MINAGRI, Ministerio de Energía y Minas (MINEM), la SUNAT, entre otros. (Insituto Nacional de Estadística e Informática, 2018)

Cabe señalar que en los cultivos lambayecanos como: maíz, caña de azúcar, banano y entre otros; *Cosmopolites sordidus* y *Spodoptera frugiperda* son reconocidas plagas causantes de serios problemas para los agricultores. (Mogollón, 2015). La especie *Cosmopolites sordidus*, conocido como “el picudo negro del banano” es una plaga importante del banano, plátano y ensete. Los ataques de los picudos negros interfieren con la iniciación de las raíces, matan las raíces existentes, limitan la absorción de nutrientes, reducen el vigor de las plantas, demoran la floración y aumentan la susceptibilidad a plagas y enfermedades. Se han registrado pérdidas de más de 40% del cultivo debido al picudo negro del banano. (Gold & Messiaen, 2000).

El Cogollero, nombre común del insecto *Spodoptera frugiperda*, es la principal plaga del follaje tanto del maíz como en el sorgo, pudiendo causar la muerte de la planta en su primera etapa de desarrollo, también la larva puede atacar tanto la mazorca como la

panoja. Se han registrado pérdidas que van desde un 20% hasta la pérdida total del cultivo desde las primeras etapas del desarrollo de la planta e incluso cuando éste se encuentra en épocas de floración. (Zagal, 2015)

El grupo más importante de hongos entomopatógenos son los deuteromicetos u hongos imperfectos, en los cuales se desconoce la fase sexual. Los géneros más importantes son *Beauveria*, *Verticillium*, *Metarhizium*, entre otros. El hongo *Beauveria bassiana* se ha estudiado como agente de control de insectos plagas pertenecientes a diferentes órdenes. En cultivos de la agricultura urbana lo recomendaron para el control de varias especies que afectan a muchos cultivos hortícolas. (Arias *et al.*, 2014).

Se ha comprobado que éstos hongos entomopatógenos pueden ocasionar enfermedad y propagarse en la población de artrópodos, dependiendo de las interacciones y factores relacionados con el patógeno (patogenicidad, virulencia, dispersión, germinación de las conidias y persistencia), el hospedero (susceptibilidad, densidad, distribución y comportamiento) y el medio ambiente (abióticos: temperatura, humedad, viento, lluvias y bióticos: parásitos, depredadores, planta – huésped). (Falconi, 2009).

Con respecto al efecto de la luz UV, se reporta que éstas cepas presentan un alto porcentaje de supervivencia a irradiaciones con luz UV, y, además, causan porcentajes de mortalidad (datos no reportados) sobre la broca del café del 68% (cepa Bb718) y del 95% (cepas Bb1053 y Bb2997) bajo condiciones de laboratorio. (Valdés *et al.* 2011)

Son considerados como los patógenos más promisorios contra insectos plaga, ya que pueden infectarlos directamente a través de la penetración de la cutícula y poseen múltiples mecanismos de acción que les confieren una alta capacidad infectiva para evitar que el hospedero se desarrolle y así minimizar la resistencia generada por los insecticidas. (Arias *et al.*, 2014).

Por todo lo expuesto anteriormente el presente trabajo de investigación tiene la finalidad del uso de hongos entomopatógenos que busca un mejor control de estas plagas limitando el uso indiscriminado de químicos (Falconi, 2009).

Es por ello que se planteó el siguiente problema ¿Cuál es la concentración mínima de *Beauveria bassiana* irradiada por UV-C para controlar a adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*? Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

- Establecer la efectividad de la cepa de *Beauveria bassiana* irradiada con UV-C en el control de adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.
- Estimar la tasa de mortalidad de adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.
- Determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* irradiada con UV-C para el control de adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.

II. ANTECEDENTES

Arias *et al.* (2014) obtuvieron el micelio de *B. bassiana* a partir de las larvas y moscas momificadas, realizaron su aislamiento a través de placas de Petri con PDA y una cámara húmeda, para luego identificar las estructuras de *B. bassiana* colocándolas sobre una lámina portaobjeto donde se le adicionó una gota de colorante de azul de lactofenol e inmediatamente se cubrió con una laminilla y se observó al microscopio.

Las cepas de *Beauveria* y *Metarhizium* fueron cultivadas durante 10 días en agar papa–dextrosa (PDA), acidificado al 1% con ácido láctico suplementado con antibiótico (estreptomicina) para evitar la contaminación bacteriana. La remoción de las esporas de los cultivos se realizó con Tween 80 al 0.05%; a partir de esta suspensión se hicieron diluciones seriadas y, con ayuda de un hemocitómetro y un microscopio de luz con aumento de (40x), se realizó el recuento de propágulos infectivos por mililitro, a fin de calcular la concentración de la suspensión madre. Obtenida la concentración de las suspensiones madres, se ajustaron todos los aislamientos, a las concentraciones de: 1×10^5 a 1×10^5 propágulos/ml. Cada concentración se ajustó en un volumen de 25ml donde se suspendieron los insectos de cada tratamiento durante un minuto y medio (1'30''). El experimento lo realizaron sobre 10 larvas de *Ancognatha scarabaeoides*, durante este período no se les suministró alimento a las larvas para que fuera más ágil la infección y proliferación del hongo en el cuerpo de las mismas. La evaluación de la mortalidad de las larvas de *Ancognatha scarabaeoides*, se realizó cada 48 horas (dos días) durante 18 días después de la inoculación, utilizando para esto un estereoscopio que permite observar la mortalidad causada por el hongo. (Lucero *et al.*, 2004)

Falconi (2009) en su experimento evaluó una cepa de *Beauveria sp.* proveniente de *Schistocerca piceifrons peruviana* (Orthoptera). Los bioensayos se realizaron sobre ninfas del 4to estadio de *Dysdercus peruvianus* y las concentraciones de conidias empleadas fueron 3.7×10^8 , 1.9×10^8 , 9.4×10^7 conidias/mL para *Beauveria sp*, *Acremonium sp* y *Scopulariopsis sp* respectivamente. Con estas concentraciones se encontró que el porcentaje de mortalidad a los 20 días post tratamiento fue de 83.3%, 80% y 23.3% para *Beauveria sp*, *Acremonium sp* y *Scopulariopsis sp.*, respectivamente. La cepa *Beauveria sp* fue la que presentó mayor virulencia sobre *D. peruvianus* al alcanzar el mayor porcentaje de mortalidad (83.3%).

Tigano *et al.* (1998) y Falconi (2009) evaluaron diferentes cepas de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* para el control de *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) a una HR cercana a la saturación y a 25 °C, registrando una mortalidad en ninfas del tercer estadio cercana al 100% a los 15 días después del tratamiento, asimismo se pudo notar en dicho estudio que los aislamientos de *B. bassiana* causaron una mortalidad más alta en comparación a los aislamientos de *M. anisopliae*

En investigaciones de Tobar, Vélez y Montoya (1999), seleccionaron cepas de *Beauveria bassiana* 9218 y 9002, se expusieron a luz UV a determinados tiempos, para evaluar el porcentaje de mortalidad de broca, por acción del hongo y se mediría por UFC (unidades formadoras de colonias). Luego del proceso de irradiación sólo se seleccionaron los aislamientos que presentaron resistencia a todos los períodos de exposición a la luz ultravioleta evaluados, correspondientes a *B. bassiana* 9218 y 9002. Sin embargo, luego de la irradiación, el aislamiento *B. bassiana* 9218 mostró una mayor actividad enzimática y una mayor virulencia sobre la broca del café (60%), que el aislamiento 9002, por lo cual fue seleccionado para la prueba de campo.

Valdés *et al.* (2011) con respecto al efecto de la luz UV, seleccionaron siete aislamientos de *B. bassiana*, correspondientes a: tres cepas codificadas como ARSEF: Bb718, Bb1053 y Bb2997. Estas cepas hacen parte de la colección de hongos entomopatógenos, del servicio de investigación agrícola (ARS) localizada en Ithaca, Nueva York (USA). La literatura reporta que estas cepas presentan un alto porcentaje de supervivencia a irradiaciones con luz UV, y, además, causan porcentajes de mortalidad (datos no reportados) sobre la broca del café del 68% (cepa Bb718) y del 95% (cepas Bb1053 y Bb2997) bajo condiciones de laboratorio. En esta investigación se pudo concluir que se logró comprender el comportamiento de la mezcla Cenicafé, la cual muestra una resistencia intermedia a la luz UV, que no interfiere con los altos porcentajes de mortalidad que causa sobre la broca en el campo. El efecto sobre la broca se debe a la expresión de factores relacionados con virulencia y no a una mayor persistencia en el campo, lo cual sugiere el alto potencial de la mezcla, ya que en el campo un menor número de esporas (al compararla con cepas que han mostrado mayor resistencia a la luz UV) estaría ocasionando las mayores mortalidades del insecto, habiendo la posibilidad de mejorar aún más el efecto de este hongo sobre la broca del café, con una adecuada formulación de esta mezcla que incremente la resistencia a la luz UV y persistencia en el campo.

Falconi (2009), aplicó *Beauveria sp* cepa ABvPr11 (20 ml) a su tratamiento con ninfas, éstas fueron transferidas individualmente en un contenedor plástico usando un pincel fino. Cada envase fue tapado, y para proveer ventilación a las ninfas se realizaron pequeños agujeros en las tapas de los envases. Se alimentó a las ninfas en base a hojas de mandarina y semillas de algodón. El alimento fue renovado cada 2 días.

Cuando France, Gerding, & Sandova (2002) en su experimento con adultos de *A. cervinus*, los cuales se mantuvieron en una cámara de incubación a 18°C y oscuridad y dentro de cajas plásticas con poliestireno de baja densidad como sustrato inerte, se alimentaron con hojas y brotes de frambuesas desinfectados con hipoclorito de sodio al 0,05% por 1 min y posteriormente lavados con agua destilada estéril. El alimento se suministró diariamente a voluntad.

En otro experimento de Bastidas *et al.* (2009) para el estudio de la concentración letal del 50 y 90% de la población (CL₅₀ y CL₉₀), se utilizaron cuatro aislamientos de *Beauveria bassiana* seleccionadas por su mayor letalidad a larvas de *A. cervinus* (Qu-B179, Qu-B299, Qu-B314, Qu-B323). Los aislamientos fueron multiplicados en placas Petri con agar Sabouraud (AS); una vez cubiertas las placas con el hongo se colectaron las conidias y se prepararon concentraciones de 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ y 10⁸ conidias mL⁻¹, en agua destilada estéril más 0,1% de humectante (Tween 20); también se incluyó como testigo agua destilada estéril con el humectante. En cada tratamiento se sumergieron cinco adultos de *A. cervinus* por 3s, luego fueron incubados dentro de cajas plásticas con papel absorbente humedecido, y mantenidos en cámaras con temperatura de 18°C en oscuridad. El comportamiento de los individuos y la mortalidad se evaluó diariamente, mediante incubación de los cadáveres en cámaras húmedas, el consumo de alimento fue medido mediante el forrajeo de brotes de frambuesa desinfectados como se describió en el párrafo anterior. Diariamente se reemplazó el alimento por brotes frescos, y cada cinco días se midió la diferencia entre la cantidad proporcionada y el remanente de alimento a las 24 h como peso húmedo.

Aunque las condiciones ambientales más favorables para la expresión del hongo son humedades relativas altas (superior al 90%) y temperaturas entre 23 y 28 °C, resultados de evaluaciones muestran cómo *B. bassiana* se ve afectado por la temperatura, la humedad relativa y la radiación solar haciendo necesario el empleo de agentes coadyuvantes que aporten niveles de protección a los propágulos infectivos. Cardona

(1998) explica que una característica de un buen entomopatógeno es su habilidad para resistir condiciones físicas, para el caso de *B. bassiana* factores como la radiación solar, la temperatura y la humedad relativa disminuyen su viabilidad; aunque presenta habilidad para causar epizootias siendo capaz de sobrevivir por largos periodos de tiempo y así persistir. Se hace necesario formular al hongo para mejorar su vida en almacenamiento, su eficacia y permanencia en campo.

2.1 Beauveria frente a *Spodoptera frugiperda*

Valenzuela (2002) encontró que *S. frugiperda* resultó ser susceptible frente a *B. bassiana* al ser tratada con el hongo.

Las larvas de *S. frugiperda*, el método de colecta que usó Flores (2000) para *Spodoptera frugiperda* fue en campos comerciales de maíz. La técnica de cría de la colonia fue alimentando a las larvas con hojas frescas de maíz, en vasos de plástico de 100 ml de capacidad, mantenidos en forma individual, para evitar canibalismo.

En la evaluación del efecto entomopatógeno, para cada espécimen, que trabajaron se utilizó dos grupos: un control y un experimental. El grupo experimental fue inoculado por aspersión con una suspensión de 1×10^9 esporas de *B. bassiana* / mL, mientras que al grupo control negativo se le inoculó por aspersión solución salina fisiológica estéril, los dos grupos se colocaron en una cámara húmeda de incubación que contenía agua destilada estéril para realizar la evaluación según Arias *et al.* (2014)

Las esporas del hongo *B. bassiana* CBLE-265, fueron hidratadas por 18 horas luego se aplicaron sobre larvas de 1er, 2do y 3er estadio de *Spodoptera frugiperda*, las cuales fueron colocadas individualmente en vasos descartables con alimento de dieta a base de frijol, se agruparon los vasos en grupos de 40 individuos, obteniéndose 3 grupos de 40 individuos cada grupo, cada vaso fue una unidad experimental y cada grupo fue una repetición. (Aliaga & Cruz, 2009)

2.2. Beauveria frente a *Cosmopolites sordidus*

Brenes (2003) y Brenes y Carballo (2004) expusieron que *Cosmopolites sordidus* mostró susceptibilidad frente a varios aislamientos de *B. bassiana*.

Ayala, (1997) probó el efecto de *B. bassiana* sobre *C. sordidus* y obtuvieron resultados superiores al 90% de efectividad.

Para Navas (2011) conforme a los bioensayos realizados en Costa Rica, por Brenes y Carballo (2004) bajo condiciones de laboratorio evaluaron la virulencia de seis aislados de *B. bassiana* para el combate del picudo negro utilizando una concentración de 1×10^9 conidios/ml, de los cuales se obtuvieron mortalidades entre 72,5 a 100%, demostrando que cualquiera de los aislados evaluados fue patogénico en mayor o menor grado. Estos mismos autores determinaron para el aislado A-4 de *B. bassiana*, causa una mortalidad de 97,5% a los 21 días después de inoculados los insectos, al utilizar una concentración de 4×10^9 conidios/ml.

En otro ensayo, los agentes de control biológico más promisorios para el control de las larvas y adultos de *C. sordidus*. En Cuba se ha alcanzado una mortalidad de 61% y 85 % con una concentración de 10^5 conidios/cm² de suelo de razas locales de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. En Brasil también se han logrado resultados exitosos (85 y 95% de mortalidad) usando *B. bassiana* y *M. anisopliae* preparados sobre arroz o frijol, permitiendo que los insectos caminaran sobre los cultivos del hongo o mediante trozos de pseudotallo tratados directamente, para que los picudos se infectaran durante la colonización. (Carballo, 2001).

Base Teórica

2.3 *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es un hongo entomopatógeno que se encuentra naturalmente en algunas plantas y en el suelo, es utilizado como bioinsecticida y considerado un hongo entomopatógeno; son favorecidos por climas templados y húmedos. Las larvas infectadas se tornan de color blanco o gris. Tiene una lista extensa de hospederos que incluye a moscas blancas y áfidos (Homoptera), saltamontes (Orthoptera), escarabajos (Coleoptera), chinches (Hemiptera), hormigas (Hymenoptera) y mariposas (Lepidopteras). (Guitierrez, 2017)

Los hongos entomopatógenos pueden ocasionar enfermedad y propagarse en la población de artrópodos, dependiendo de las interacciones y factores relacionados con: el patógeno (patogenicidad, virulencia, dispersión, germinación de las conidias y persistencia), el hospedero (susceptibilidad, densidad, distribución y comportamiento) y el medio ambiente (abióticos: temperatura, humedad, viento, lluvias y bióticos: parásitos, depredadores, planta - huésped). Son considerados como los patógenos más promisorios contra insectos, ya que pueden infectarlos directamente a través de la penetración de la cutícula y poseen múltiples mecanismos de acción que les confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia. (Arias *et al.*, 2014)

Taxonomía: (Guitierrez, 2017)

División: Mycota

Subdivisión: Eumycotina

Clase: Deuteromycetes

Orden: Hyphomycetes

Género: *Beauveria*

Especie: *bassiana*

Morfología

El género *Beauveria*, se caracteriza por presentar fialides con una parte basal dilatada terminando en zigzag. Por las características de los conidios se pueden distinguir dos especies.

- a) Conidios globosos o subglobosos: con 2-3 x 2-2,5 μ m, con conidióforos formando densos racimos: *Beauveria bassiana*.
- b) Conidios elipsoides: con 2-3 x 1.5- 2,5 μ m, conidióforos escasos y raramente en racimos: *Beauveria brongniartii* (*Beauveria tenella*). (Samson 2001)

Beauveria bassiana presenta un crecimiento lento, circular, llegando alcanzar 20 mm de diámetro en 10 días, para la colonia de *B. bassiana* en un rango de 0.6 a 2.3cm de diámetro. El aspecto de la colonia es lanoso y en forma de polvo debido a los abundantes conidios, es de color blanco en un principio, tornándose amarillenta posteriormente en la parte del centro, de textura blanda y superficie plana. Ésta especie posee hifas cenocíticas, lisas, con células conidiógenas formando densos racimos irregularmente agrupados, las fialides se encuentran hinchadas en la base que asemeja la estructura de un frasco sub-globoso y se adelgazan hacia la parte que sostiene las esporas llamado raquis en forma de zigzag. Los conidios de *B. bassiana* son hialinos, lisos, de forma globosa a elipsoidal. (García, Cappello, Leshner, & Molina, 2011)

2.4 *Spodoptera frugiperda*

Constituye la plaga más importante del cultivo del maíz en el Perú y en diferentes países de la región Neotropical, las pérdidas que esta ocasiona son cuantiosas, pudiendo reducir los rendimientos en 0,8 t/ha de maíz seco. Las larvas consumen principalmente las hojas que indirectamente afectan el rendimiento del cultivo, reduciendo el área fotosintética de estas; el ataque a plantas pequeñas, daña o destruye el tejido meristemático, ocasionando reducción de la población de plantas o modificación de su estructura. (Aliaga & Cruz, 2009)

Taxonomía: (Guitierrez, 2017)

Phylum: Anthropoda

Subphylum: Mandibulata

Clase: Insecta

Sub clase: Pterygota

Orden: Lepidoptera

Sub orden: Frenatae

Superfamilia: Noctuoidea

Familia: Noctuidae

Tribu: Predeninii

Género: Spodoptera

Especie: *S. frugiperda*

Características biológicas

Los adultos son polillas que miden aproximadamente 3.75 cm de extensión alar. En el macho son de color pardo claro, con marcas oscuras y líneas irregulares pálidas en el centro, mientras que las de la hembra son más oscuras y grisáceas, con diseños menos notorios. Los adultos presentan hábitos nocturnos y tienen una longevidad que varía de 4 a 8 días, dependiendo de las condiciones ambientales; las hembras durante su vida son capaces de producir hasta 3,600 huevecillos. Los huevecillos son puestos en masas que varían de 40, 150 y hasta 1500 huevos por masa, colocadas en el envés de las hojas, cubiertas por escamas de la hembra. La incubación varía de 2 a 10 días, las larvas son del tipo cruciforme, de color pardo amarillento a pardo oscuro; en sus regiones laterales son blanquecinas y presentan líneas longitudinales laterales pálidas y moteadas. Las larvas neonatas viven en grupos al principio y se separan posteriormente, debido a sus hábitos caníbales, quedando en forma general una larva por planta de maíz. Inicialmente las larvas comienzan a alimentarse en el envés de las hojas, se dispersan y se dirigen al cogollo de la planta de maíz. Las larvas pasan por seis estadios en un lapso que puede durar de 2 a 3 semanas; transcurrido este tiempo se introducen en el suelo para pupar. Las pupas son de tipo obtecta y miden cerca de 2 cm de largo; son de color pardo rojizo, con el protórax más oscuro, encontrándose normalmente enterradas en el suelo, donde permanecen una semana aproximadamente y luego emergen como adultos; de esta forma, se reanuda su ciclo.

Daños

Éste insecto se alimenta de una gran diversidad de especies vegetales; en el Continente Americano es considerada la plaga más importante, pues ataca más de 60 especies de plantas, en diversas familias, vegetales y se le atribuye su polifagia a una carencia en la especialización de la alimentación larvaria. Por lo tanto, la capacidad de la plaga de hacer daño depende, por una parte, de la densidad poblacional existente en el cultivo.

En la estimación del daño que causan los insectos a las plantas se debe considerar el tipo de cultivo, variedades, densidad de plantas, hábitos de crecimiento, base de desarrollo,

condición y permanencia en el campo. La parte de la planta afectada por la plaga determina a veces la magnitud e importancia del daño. Las larvas, que son la etapa más perjudicial, se alimentan del cogollo o verticilo de las plantas de maíz y sorgo en desarrollo.

En el cultivo del maíz, el desarrollo fenológico de la planta tiene una fuerte influencia sobre el ataque de las poblaciones *S. frugiperda*. Este insecto inicia su ataque cuando las plantas tienen alrededor de 5 a 6 hojas libres y a medida que progresa la edad de la planta, las poblaciones del insecto también progresan hasta alcanzar el punto de máxima infestación y este se presenta cuando la planta tiene 10 hojas libres. (Flores, 2000)

2.5 *Cosmopolites sordidus*

El picudo negro del plátano, es la plaga principal en los cultivos de plátano y banano. Al igual que las musáceas, este insecto es originario del sureste de Asia, donde no representa un problema crítico debido a la presencia de controladores naturales. El crecimiento de las poblaciones del picudo negro es lento, y su ataque puede interferir en el establecimiento de parcelas y en el acortamiento de su vida útil. (Biocontrol Do&mdore, 2012)

Taxonomía: (Genmar, 2016)

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Coleoptera

Superfamilia: Curculionoidea

Familia: Dryophthoridae

Subfamilia: Rhynchophorinae

Tribu: Litosomini

Género: *Cosmopolites*

Especie: *C. sordidus*

Características biológicas

En su forma adulta, es un pequeño escarabajo de color negro de 10 a 15 mm. de longitud. Es común encontrarlo entre las vainas foliares, en el suelo, en la base de la

planta, o asociado con los residuos del cultivo. Es de actividad nocturna y muy sensible a la desecación. Rara vez vuelan, y se desplazan distancias cortas de menos de 25 m. En substratos húmedos, el picudo puede sobrevivir sin alimentarse durante varios meses. En general, un adulto vive entre 1 a 4 años. La hembra pone sus huevos individualmente, en hoyos excavados con su pico, entre las vainas foliares y en la superficie del rizoma. Los huevos son blancos y ovalados, y el ritmo de puesta se estima en 1 huevo por semana. El desarrollo larvario comprende de 5 a 8 estadios de desarrollo. Las larvas emergentes se alimentan dentro del rizoma, ocasionando los daños más importantes, pero también pueden atacar el tallo verdadero y, ocasionalmente, el pseudotallo. La formación de la pupa ocurre en células desnudas cerca de la superficie de la planta hospedera, hasta la metamorfosis y emergencia de un nuevo adulto. La velocidad de desarrollo depende de la temperatura, bajo condiciones tropicales el período que le toma a un huevo convertirse en un picudo adulto es de 5-7 semanas. El desarrollo de los huevos no ocurre con temperaturas inferiores a 12 °C. (Biocontrol Do&mdore, 2012)

Daños:

Los picudos negros del banano son atraídos por los rizomas cortados, lo que convierte a los retoños que se utilizan como material de plantación especialmente susceptibles al ataque. Se han registrado pérdidas de más de 40% del cultivo debido al picudo negro del banano.

Se informa que los ataques de los picudos negros interfieren con la iniciación de las raíces, matan las raíces existentes, limitan la absorción de nutrientes, reducen el vigor de las plantas, demoran la floración y aumentan la susceptibilidad a plagas y enfermedades. Las reducciones de rendimiento son causadas tanto por la pérdida de plantas (muerte de las plantas, el rompimiento de los rizomas, volcamiento), como por el peso reducido de los racimos. (Gold & Messiaen, 2000)

III. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. (Lambayeque)

3.1. Población y Muestra

La población que se utilizó como objeto de estudio estuvo constituida por larvas del III estadio y adultos de las especies *Spodoptera Frugiperda* y *Cosmopolites sordidus*. La muestra estuvo conformada por; 10 larvas del estadio III de *Spodoptera frugiperda* y 10 adultos de *Cosmopolites sordidus*.

También estuvo constituida por dos cepas de *Beauveria. bassiana* una nativa que actuó como control y una cepa irradiada con luz UVC por 12 horas (BI12H) empleando cinco concentraciones para cada cepa: 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml. Con 3 repeticiones para cada concentración. Lo cual nos da un total de 600 ejemplares: 300 larvas del estadio III de *Spodoptera frugiperda* y 300 adultos de *Cosmopolites sordidus*.

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

- Cepa de *Beauveria bassiana*, aislado de muestras de insectos del distrito de Incahuasi y mantenidas en el laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Lambayeque. (Figura 1), (Anexo 4.)
- Posturas de *Spodoptera frugiperda* obtenidos de cultivos de maíz del distrito de Reque. (Figura 2).
- Adultos de *Cosmopolites sordidus* obtenidos del tronco maduro del banano en el distrito de Olmos. (Figura 3).

3.2.2. Material de Laboratorio y Reactivos.

- Reactivos y Medios de Cultivo
 - Agar Sabouraud
 - Caldo Sabouraud
 - Solución al 0.1% de Twin 80
 - Colorante Azul de Lactofenol

- Solución Salina Fisiológica
- Material de Vidrio
 - Matraces de 250 – 500 ml
 - Placas de Petri
 - Tubos de 150x15
 - Láminas portaobjetos
 - Laminillas de 22x22
 - Espátula drigalsky
- Otros
 - Asa micológica
 - Mechero de Bunsen
 - Cinta Scotch
 - Cámara fotográfica
 - Tapers de plástico



Figura 1. Cepa de *Beauveria bassiana* en tubos



Figura 2. Posturas de *Spodoptera frugiperda* en hojas de maíz.



Figura 3 Adultos de *Cosmopolites sordidus* en tronco maduro del Banano.

3.3 Metodología

3.3.1 Irradiación de la cepa *Beauveria bassiana* (método de Valdés, 2011 modificado)

- La cepa de *Beauveria bassiana* que se mantuvieron en tubos con medio de Agar Sabouraud, se le agregó solución salina, agitándolo suavemente hasta que las esporas se soltaran a la solución, luego se vertió en otro tubo de ensayo estéril, llevándolo a la Escala Mc Farland, graduándolo hasta que la solución tuvo una concentración de 1.5×10^8 esporas/ml. Se tomó 1ml de éste inóculo y se colocó en el centro de la Placa de Petri con medio A.S., con ayuda de la espátula Drigalsky se hizo la diseminación del inóculo en la placa de Petri, finalmente se expuso la placa recién inoculada a la cámara de UV-C durante un tiempo de 12h. Pasado el tiempo indicado se retiró la placa de Petri de la cámara de UV-C, se incubó a 23 °C durante una semana.
- Después de los 4 días de incubación se observó la formación de colonias pequeñas de color blanco y aspecto algodonoso, la parte posterior presentaba una coloración amarilla.
- Luego se realizó una observación en fresco, usando azul de algodón para describir las características morfológicas de la cepa. (Figura 4, 5 y 6).

(Fuente: Proyecto realizado por Elías Agapito Yajaira, Paico Marín Stell, Tocas Ordemar Alonso de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo)

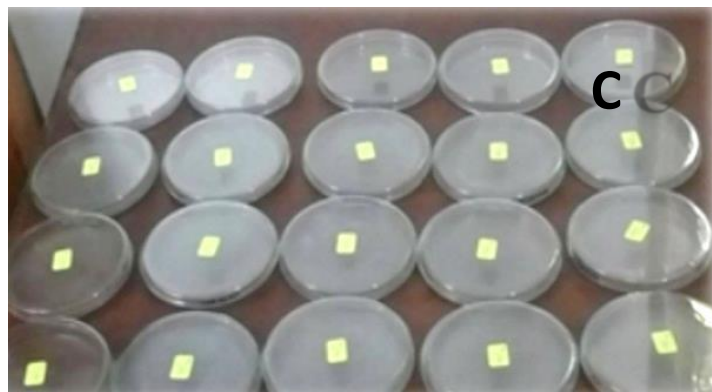
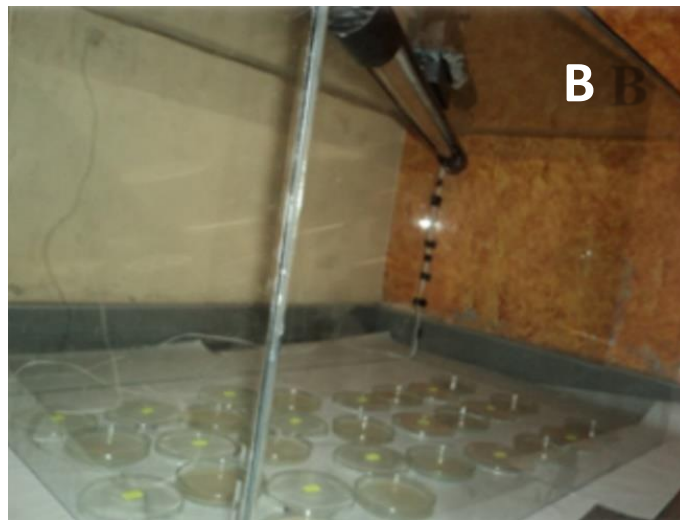
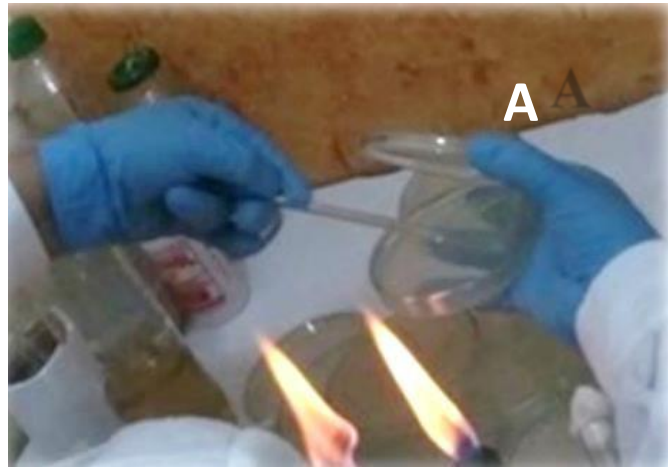
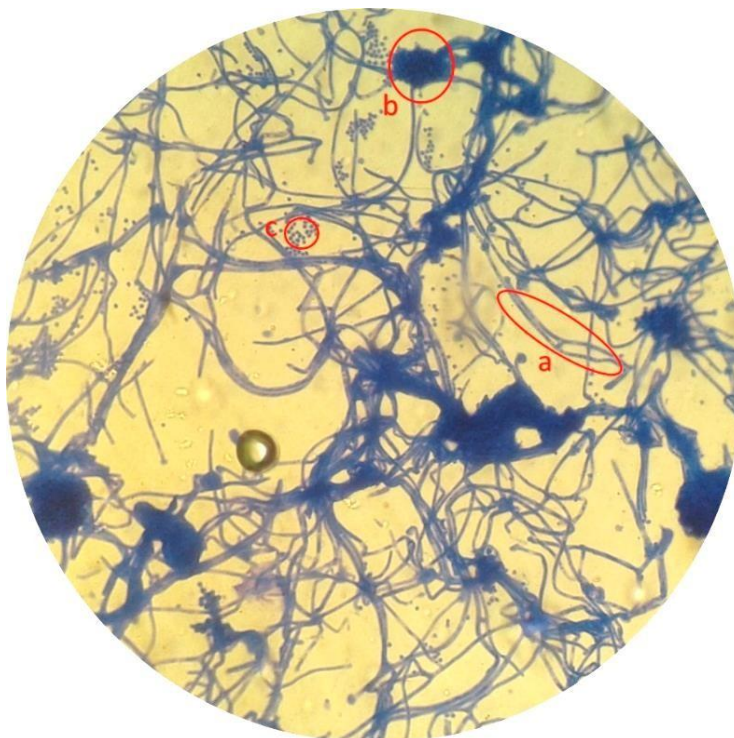


Figura 4. Irradiación de luz UV-C 254nm de *Beauveria bassiana*. **A.** Diseminación del inóculo en placa de Petri. **B.** Exposición de las placas preparadas a luz UV-C. **C.** Rotulación de la cepa irradiada.

1



2

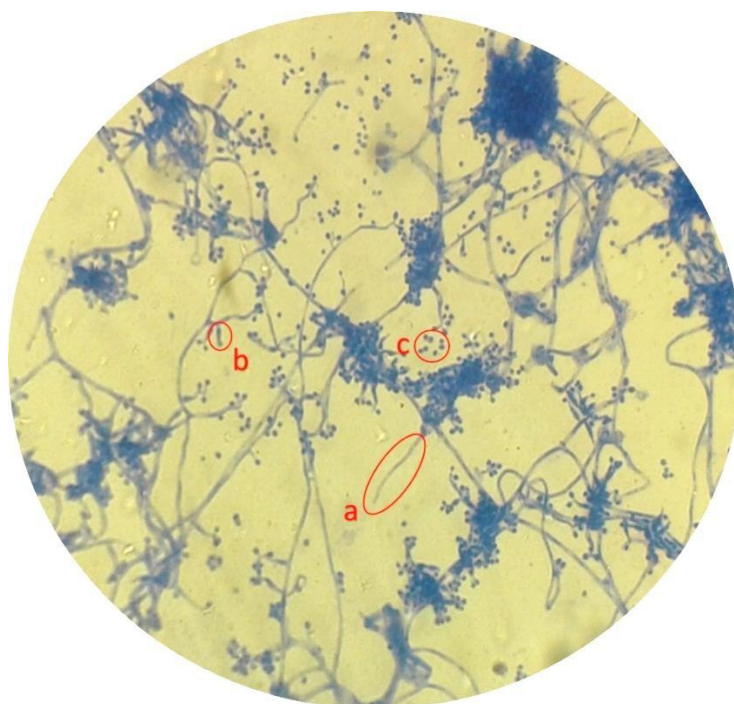


Figura 5. Descripción microscópica de las cepas. **1.** *Beauveria bassiana* Nativa (**a**) Hifas gruesas, (**b**) Conidióforo, (**c**) Esporas. **2.** *Beauveria bassiana* 12h (**a**) Hifas delgadas, (**b**) Fiálide, (**c**) Esporas reducidas.



Figura 6. Replicación de las cepas en placas y tubos de ensayo.

3.3.2 Preparación del Inóculo

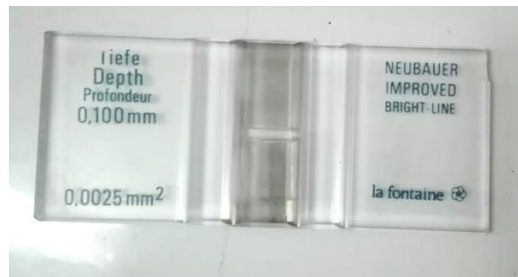
- A los cultivos de *Beauveria bassiana* nativa y *Beauveria bassiana* 12 h UVC (BI12H) de 15 días de incubación se les agregó solución salina más 0.1% de Tween 80, se agitaron vigorosamente los frascos para desprender las esporas y se dejó reposar un día, luego se filtró en un matraz estéril; así se prosiguió con los demás frascos preparados.
- Se hizo el conteo de esporas utilizando una cámara de Newbauer, para lo cual se colocó 10 µl en la cámara y se realizó el conteo en el área que corresponde al conteo de glóbulos rojos con objetivo de 40x del microscopio CARL ZEISS, hasta obtener el recuento de esporas (solución madre).
- Con la solución madre obtenida se prepararon las concentraciones a experimentar: 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 usando la fórmula de las concentraciones $C_1V_1=C_2V_2$ hasta llegar a las diluciones propuestas usando como solvente a la solución salina más 0.1% de Tween 80. (Figura 7)



A



B



C



D

Figura 7. Preparación de los inóculos. **A.** Solución salina más 0.1% de Tween 80 + cepas. **B.** Filtrado de la solución. **C.** Conteo en cámara de Neubauer. **D.** Preparación de las concentraciones.

3.3.3 Obtención y Mantenimiento de Plagas

- *Spodoptera frugiperda*
 - Se recolectó las especies en campos de cultivo de maíz en la ciudad de Reque, centro poblado de “Monte Grande”, con ayuda de frascos de plástico para su transporte a laboratorio, en donde se procedió a colocarlos en recipientes de plásticos para su mantenimiento.
 - Para su alimentación se utilizó hojas de higuerilla hasta obtener el estadio de las larvas requeridas en el ensayo.
- *Cosmopolites sordidus*
 - Se recolectó las especies en campos de cultivo de banano en el distrito de Olmos, caserío “El Imperial”, con ayuda de frascos de plástico para su transporte a laboratorio, en donde se procedió a colocarlos en recipientes de plásticos para su mantenimiento.
 - Para su alimentación se utilizó troncos de bananos maduros hasta la semana del enfrentamiento

3.3.4 Enfrentamiento

- *Cosmopolites sordidus*:

Con la obtención del inóculo en las concentraciones establecidas se preparó un total de 60ml; para la experimentación, consistió de 3 repeticiones por concentración, la cual por repetición se utilizó 1 taper de plástico, agregando 5 ml de la concentración cada 3 días durante 2 semanas; por cada taper de plástico se colocó 10 adultos de *C. sordidus*. Así mismo cada taper tuvo su alimento, simulando su actividad natural.

- *Spodoptera frugiperda*:

Se preparó los inóculos en las concentraciones establecidas la cantidad de 30ml; la experimentación consistió de 3 repeticiones por concentración, la cual por repetición se utilizó 10 placas de Petri con su respectivo medio de cultivo, agregando 1 ml de la concentración; por cada placa se colocó 1 larva del estadio III de *S. frugiperda*.

A



B

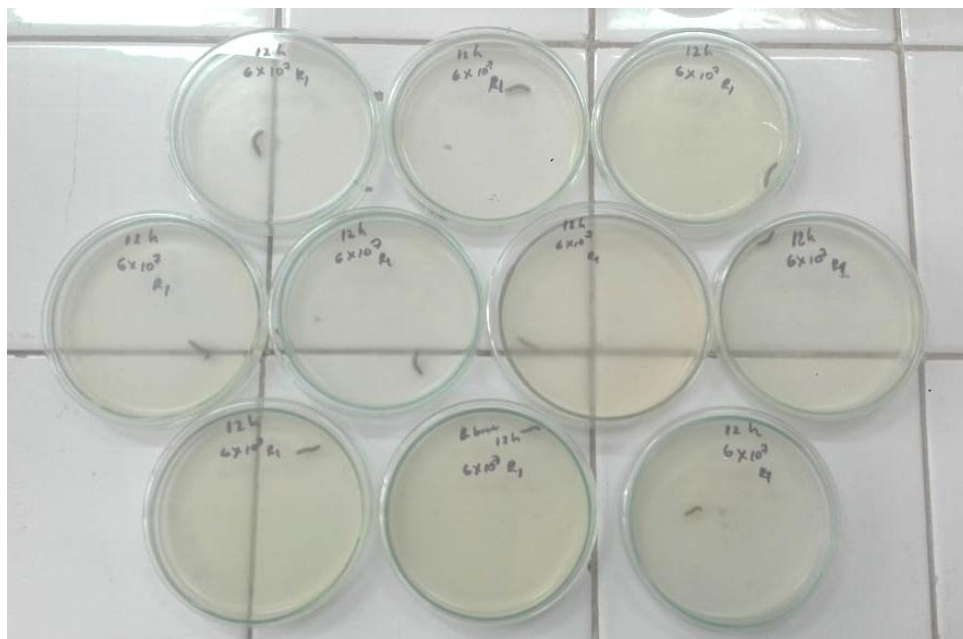


Figura 8. Enfrentamiento del entomopat6geno frente a las plagas. **A.** *C. sordidus* **B.** *S. frugiperda*.

3.3.5 Diseño experimental

El diseño experimental presentó cinco tratamientos que fueron las diferentes concentraciones del hongo entomopatógeno para la cepa experimental irradiada a UVC (BI12H) sobre los adultos de *C. sordidus* y las larvas del III estadio de *S. frugiperda* que son las concentraciones 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml y cada una contó con 3 repeticiones, el diseño también presentó un grupo control con la cepa de *B. bassiana* nativa la cual también se trabajó con las mismas concentraciones propuestas y contaron con 3 repeticiones sobre las mismas plagas presentadas.

Tabla 1 Resumen del diseño experimental sobre los tratamientos de *B. bassiana*

Grupo	Concentraciones	Control (nativa)	Cepa (BI12H)
1	<i>Beauveria bassiana</i> 3×10^7 conidias/ml	3	3
2	<i>Beauveria bassiana</i> 4×10^7 conidias/ml	3	3
3	<i>Beauveria bassiana</i> 5×10^7 conidias/ml	3	3
4	<i>Beauveria bassiana</i> 6×10^7 conidias/ml	3	3
5	<i>Beauveria bassiana</i> 7×10^7 conidias/ml	3	3

3.3.6 Análisis de Datos:

Los datos recolectados fueron organizados en una hoja de cálculo, se obtuvo las medidas de tendencia central y de dispersión por grupo experimental y se comparó con prueba de ANOVA factorial de 2 factores (Concentración, plagas muertas infectadas) con arreglo ($5 \times 2 \times 2 \times 10 \times 3$) donde cinco es el número de concentraciones de la solución de *B. bassiana* (3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml), dos es el número de cepas utilizadas (Control nativa y BI12H), dos es el número de especies plagas trabajadas, 10 es la unidad muestral y tres es el número de repeticiones, lo que nos da un total de 600 unidades muestrales en Excel.

Toda la información procesada fue presentada en tablas y gráficos respectivos. Éste análisis se complementó con la prueba discriminatoria de Tukey a 0,05 nivel de significancia, con la finalidad de determinar las diferencias entre cada uno de los efectos. Así mismo, para determinar la concentración mínima efectiva, para cada estadio de cada especie, se utilizó la Prueba de PROBIT, a un nivel de significancia del 5%.

El procesamiento estadístico se realizó con ayuda del software: Statística versión 12.5 y Excel 2016.

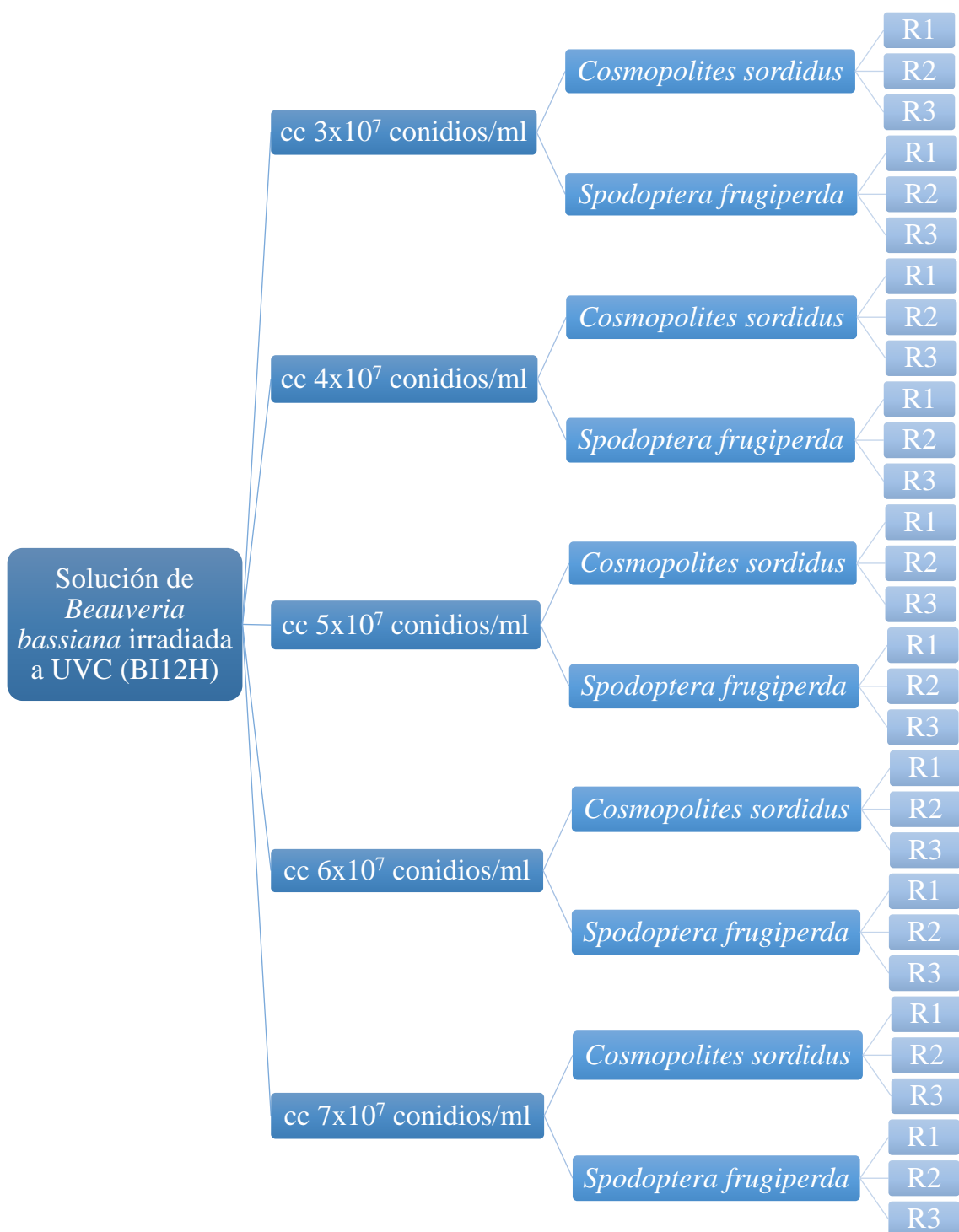


Figura 9. Diseño experimental para Establecer la efectividad del entomopatógeno *Beauveria bassiana* expuesta a radiación UV-C sobre adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.

IV. RESULTADOS

El objetivo de éste trabajo de investigación fue establecer la efectividad de la cepa *Beauveria bassiana* irradiada con UV-C para el control de adultos de *Cosmopolites sordidus* y larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*, la misma que se evidenció por la cantidad de insectos muertos infectados y determinando la concentración mínima efectiva del entomopatógeno, los resultados se muestran a continuación en tablas y gráficos con su correspondiente interpretación. (Figuras 10 – 14)

4.1 DOSIS LETAL MEDIA (DL50) de las cepas del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *Cosmopolites sordidus*

Se determinó la dosis letal media para demostrar el cumplimiento de los objetivos planteados en este trabajo de investigación, donde se analizaron los promedios obtenidos en la **Tabla 2** en la que se describió la DL50 y DL90 para cada una de las cepas: Nativa y (BI12H) donde se observó que la DL50 para la cepa Nativa ocurrió durante la segunda semana de exposición de los adultos *Cosmopolites sordidus*, mientras que para la cepa irradiada (BI12H) la DL50 se observó en la primera semana de exposición.

La DL90 para la cepa nativa se evidenció en la cuarta semana, mientras que para la cepa irradiada ocurrió en la tercera semana. Demostrando así la efectividad de las cepas y una mejor actividad entomopatógena de la cepa experimental BI12H.

También se estimó la tasa de mortalidad en porcentajes del 50% y 90%, lo que afianzó los resultados.

Tabla 2 Determinación de la DL50 y DL90 de las cepas Nativa y BI12H para *C. sordidus*

CEPA	SEMANA	PROMEDIO (MI)	%
Nativa	2	5	50
	4	9	90
BI12H	1	4.7	50
	3	8.7	90

MI = Muertos infectados

4.1.1 Prueba PROBIT para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *Cosmopolites sordidus*

Al haberse utilizado las concentraciones propuestas 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml se calculó en la prueba de regresión la concentración mínima que hizo efecto en el control de adultos de la plaga *C. sordidus* para la cepa Nativa recayendo en la LD50 como se aprecia en la (tabla 3 y Gráfico 1) para la concentración menor 3×10^7 conidias/ml trabajada; que nos indicó ya una actividad entomopatógena alta, siendo de igual manera la concentración mínima efectiva para el control de la plaga.

Tabla 3 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *C. sordidus* para la cepa Nativa.

Estadísticos de Regresión			
LD50	3.0091	LD50 Error Estándar	0.7405
LD50 LCL	2.2686	LD50 UCL	4.4975
Log10[LD50]	0.5665	Error Estándar	0.0867
Beta	1.1916	Intercepto	4.3249
Beta Error Estándar	0.3971		

Las concentraciones propuestas 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml que se calculó en la prueba de regresión, la concentración mínima que hizo efecto en el control de adultos de la plaga *C. sordidus* para la cepa experimental BI12H recayó en la LD50 como se aprecia en la (tabla 4 y Gráfico 2) para la concentración menor 3×10^7 conidias/ml empleada; que presentó ya una actividad entomopatógena muy potente, siendo la concentración mínima efectiva para el control de la plaga.

Tabla 4 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *C. sordidus* para la cepa BI12H.

Estadísticos de Regresión			
LD50	3.6857	LD50 Error Estándar	0.3329
LD50 LCL	2.0568	LD50 UCL	3.4973
Log10[LD50]	0.4784	Error Estándar	0.0480
Beta	2.2452	Intercepto	3.9258
Beta Error Estándar	0.4144		

Gráfico 1. Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *C. sordidus* para la cepa Nativa.

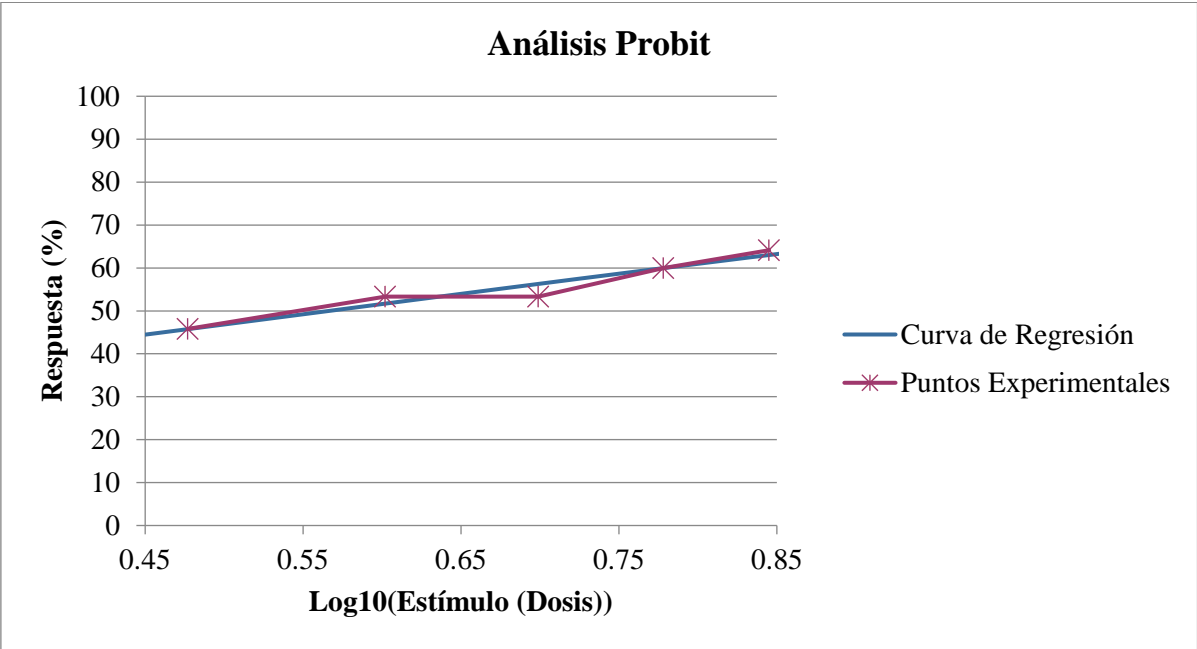
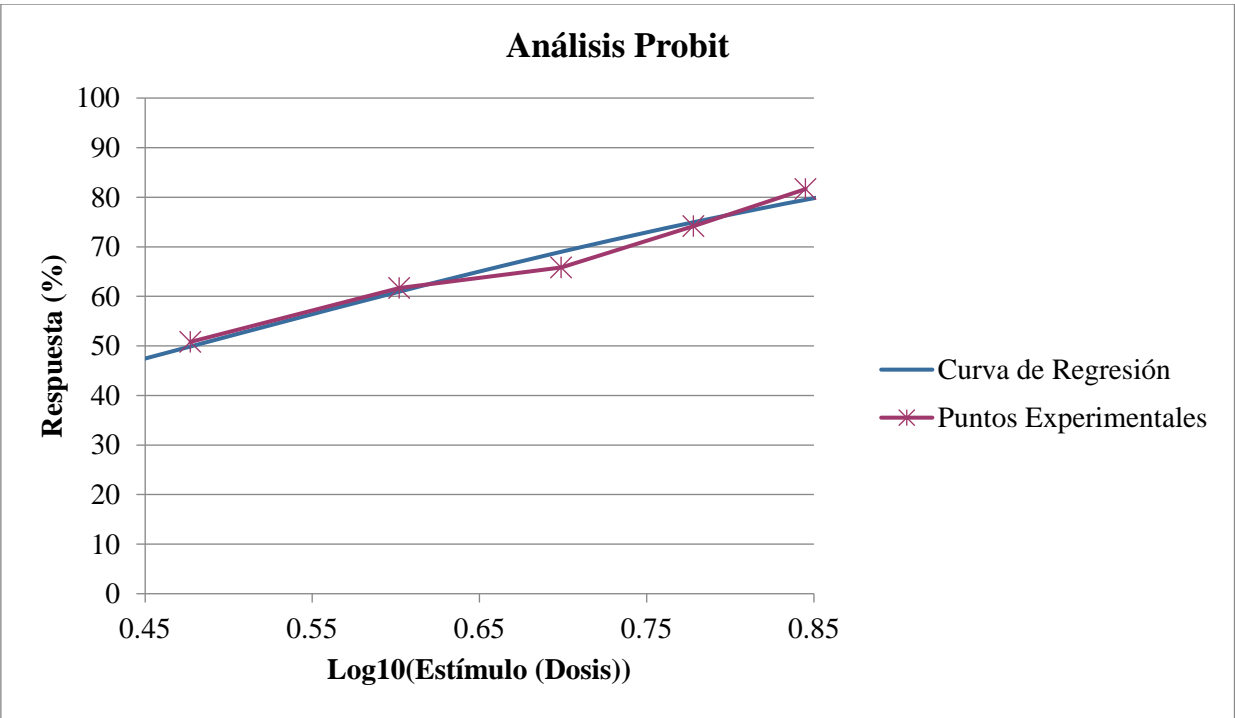


Gráfico 2. Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de adultos de *C. sordidus* para la cepa BI12H.



4.2 Análisis estadístico

4.2.1. Promedio de muertos infectados de adultos *Cosmopolites sordidus*.

Los valores obtenidos demostraron que todos los individuos de *C. sordidus* en estudio fueron atacados por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* encontrándose algunas diferencias en la acción de las cepas, debido a que fueron enfrentados a diferentes concentraciones de la solución.

Se obtuvieron los promedios de mortalidad para *C. sordidus*, de tal modo que para la cepa nativa de *B. bassiana*, se observó que en la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) alcanzó un promedio de 3 muertos infectados (MI) y para la concentración mayor (7×10^7 conidias/ml) llegó a un promedio de 4 muertos infectados en la primera semana; aumentando en las siguientes tres semanas los promedios de muertos infectados, siendo para la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) un promedio de 7 MI y para la mayor concentración (7×10^7 conidias/ml) en un promedio alcanzado de 9 durante la cuarta semana, lo que nos indica que conforme va aumentando las semanas de exposición al entomopatógeno, asciende los promedios de muertos infectados.

La cepa (BI12H) de *B. bassiana*, la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) obtuvo un promedio de 3 MI en la primera semana y la concentración mayor (7×10^7 conidias/ml) obtuvo un promedio de 7 MI en la misma semana, incrementando en las siguientes tres semanas los promedios de muertos infectados, siendo en la última para la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) un promedio de 7 MI y para la mayor concentración (7×10^7 conidias/ml) un promedio alcanzado de 10 MI, indicándonos que conforme va pasando las semanas de exposición al entomopatógeno, incrementa los promedios de muertos infectados. Observándose una mejor actividad en la cepa (BI12H) de *B. bassiana*. Se observa en el **Anexo 6**, el promedio de adultos muertos infectados de *Cosmopolites sordidus* por la acción tóxica de *Beauveria bassiana* durante un periodo de 4 semanas obteniéndose en la última semana una mortalidad del 90% de los insectos para la concentración (7×10^7 conidias/ml). Y en el **Anexo 7**, se observa el promedio de adultos muertos infectados de *Cosmopolites sordidus* por la acción tóxica de *Beauveria bassiana* durante un periodo de 4 semanas observándose en ésta última una mortalidad del 100% de los insectos para la concentración (6×10^7), lo cual nos demuestra que los efectos de la irradiación UVC han incrementado el poder de toxicidad de la cepa.

4.2.2. Análisis estadístico de *Cosmopolites sordidus*.

Al realizar el análisis de varianza de la actividad entomopatógena de *Beauveria bassiana* frente a *Cosmopolites sordidus* a diferentes concentraciones de las dos cepas utilizadas, se observó que las variables semana, cepa, concentración y cepa*concentración presentan diferencias estadísticas significativas, donde se rechaza la hipótesis (Tabla 5). De tal modo que los resultados nos muestran que las variables mencionadas influyen significativamente en la efectividad de *B. bassiana* frente a las plagas de *C. sordidus*.

HIPÓTESIS:

H₀: No existe diferencias significativas entre la semana de tratamiento.

H₀: No existe diferencias significativas en las cepas Nativa y (BI12H)

H₀: No existe diferencias significativas entre las concentraciones empleadas

H₀: No existe diferencias significativas entre semana y cepa

H₀: No existe diferencia significativa entre semana y concentración

H₀: No existe diferencia significativa entre cepa y concentración

H₀: No existe diferencia significativa entre semana, cepa y concentración

Tabla5 Análisis de varianza de los promedios de mortalidad de *Cosmopolites sordidus* por la acción toxica de las cepas Nativa y (BI12H).

Efecto	SC	GL	CM	F	Decisión
Semana	254.958	3	84.986	178.918	Rechazar H ₀
Cepa	39.675	1	39.675	83.526	Rechazar H ₀
CC	84.883	4	21.221	44.675	Rechazar H ₀
semana*Cepa	3.492	3	1.164	2.450	Aceptar H ₀
semana*CC	3.583	12	0.299	0.629	Aceptar H ₀
Cepa*CC	5.783	4	1.446	3.044	Rechazar H ₀
semana*Cepa*CC	3.217	12	0.268	0.564	Aceptar H ₀
Error	38.000	80	0.475		

SC = Suma de Cuadrados GL = Grados de Libertad CM = Cuadrado Medio

VARIABLE: SEMANAS

La prueba de significación de Tukey (0.05) a los promedios de mortalidad de la plaga tratada según el tiempo de acción en semanas se puede apreciar que la mayor mortalidad se observó en la cuarta semana y una diferencia en la tercera semana, mientras que en los primeras dos semanas no se observa una diferencia significativa de la actividad del entomopatógeno.

De tal manera se pudo afirmar que a medida aumenta el tiempo de acción del entomopatógeno mayor es la mortalidad de la plaga *C. sordidus*.

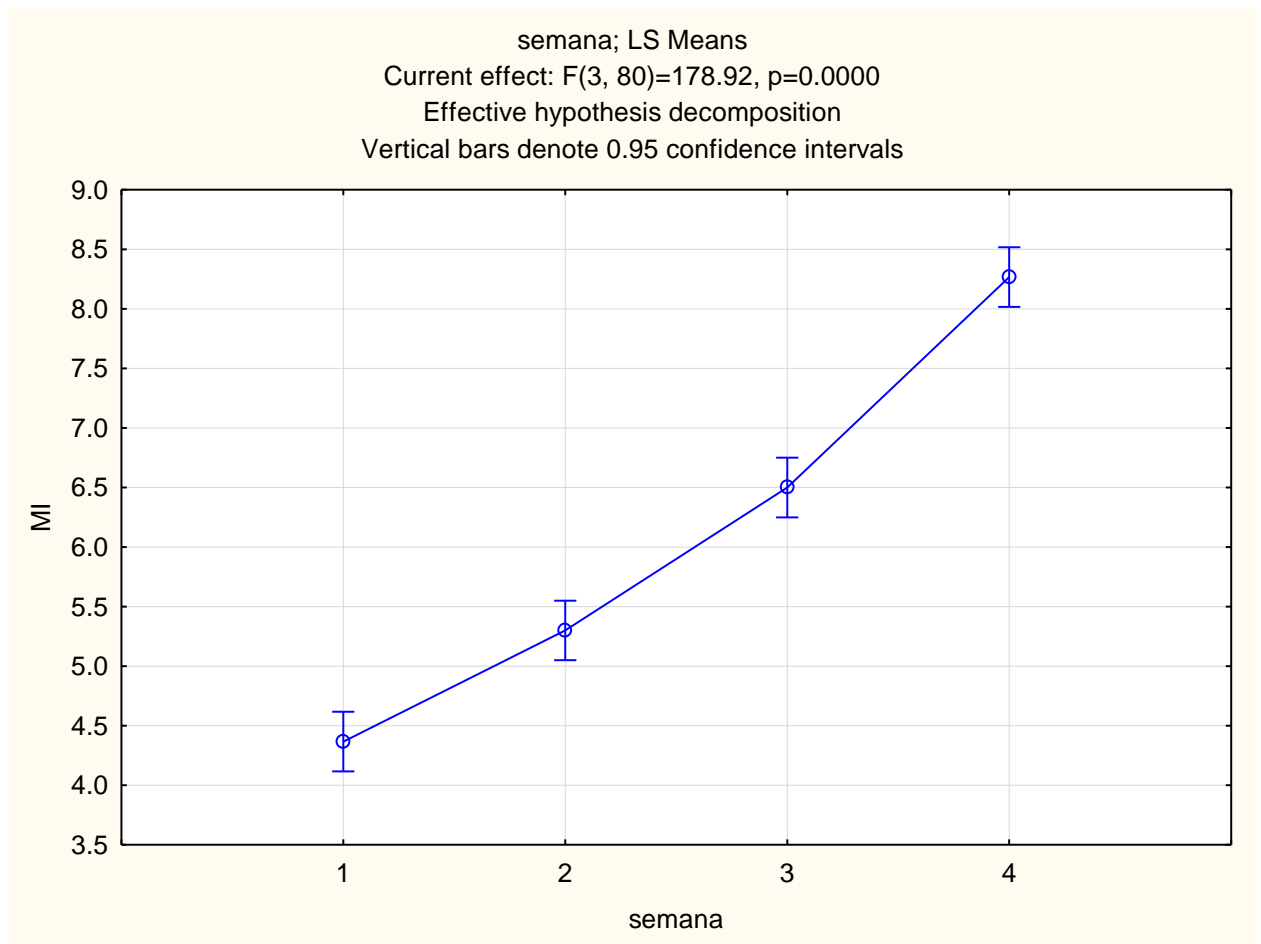
Tabla 6 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en semanas.

SEMANA	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
1	4.4	a
2	5.3	a
3	6.5	b
4	8.3	c

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 3. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en semanas.



VARIABLE: CEPA

Al realizar la prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga trabajada según las cepas utilizadas se puede observar que la cepa irradiada tiene una mejor actividad entomopatógena que la cepa nativa.

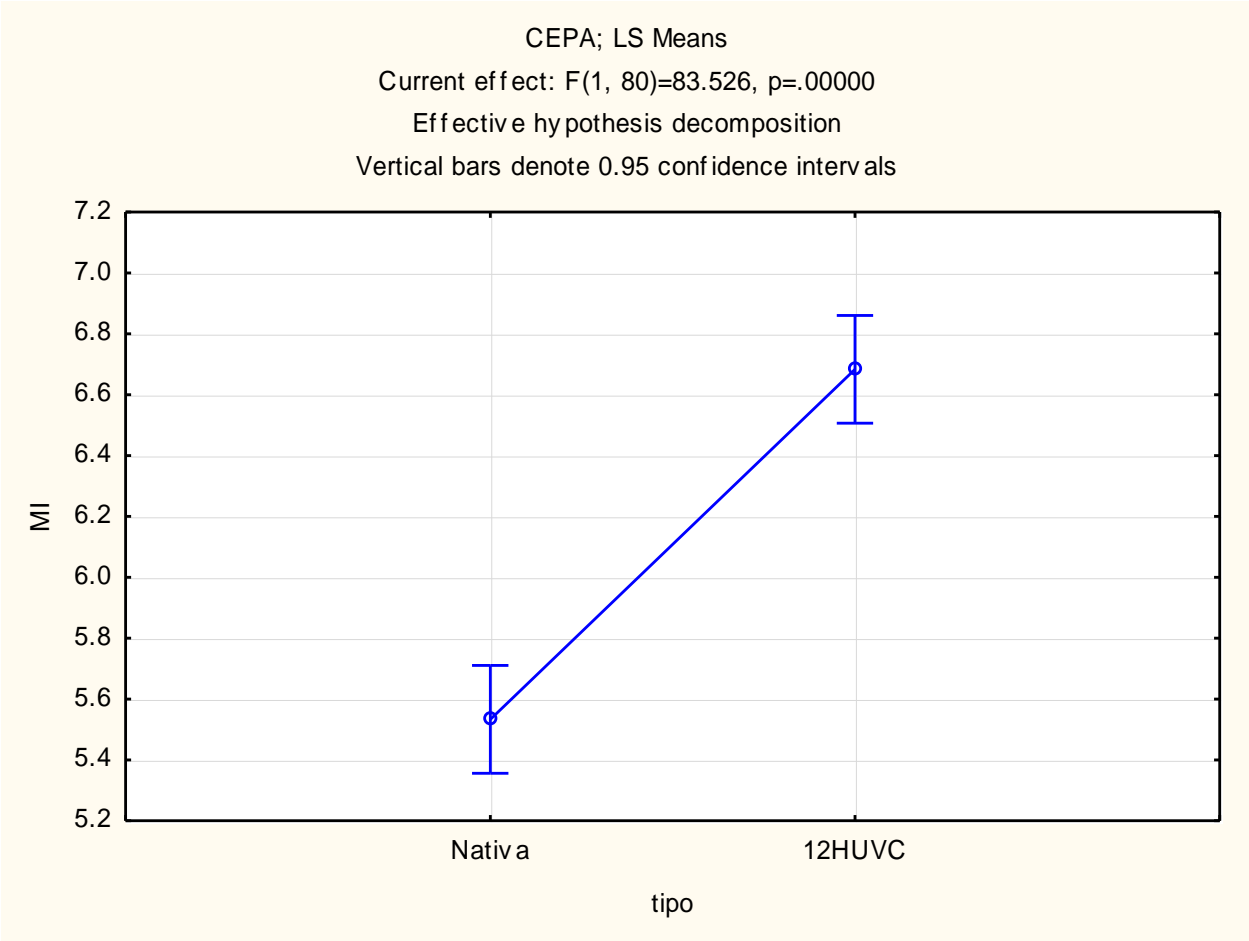
Tabla 7 Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.

CEPA	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
Nativa	5.5	a
BI12H	6.7	b

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 4. Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.



VARIABLE: CONCENTRACIÓN

La prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga tratada según las concentraciones empleadas nos demuestran que a medida que incrementan las concentraciones, la actividad entomopatógena de las cepas aumenta.

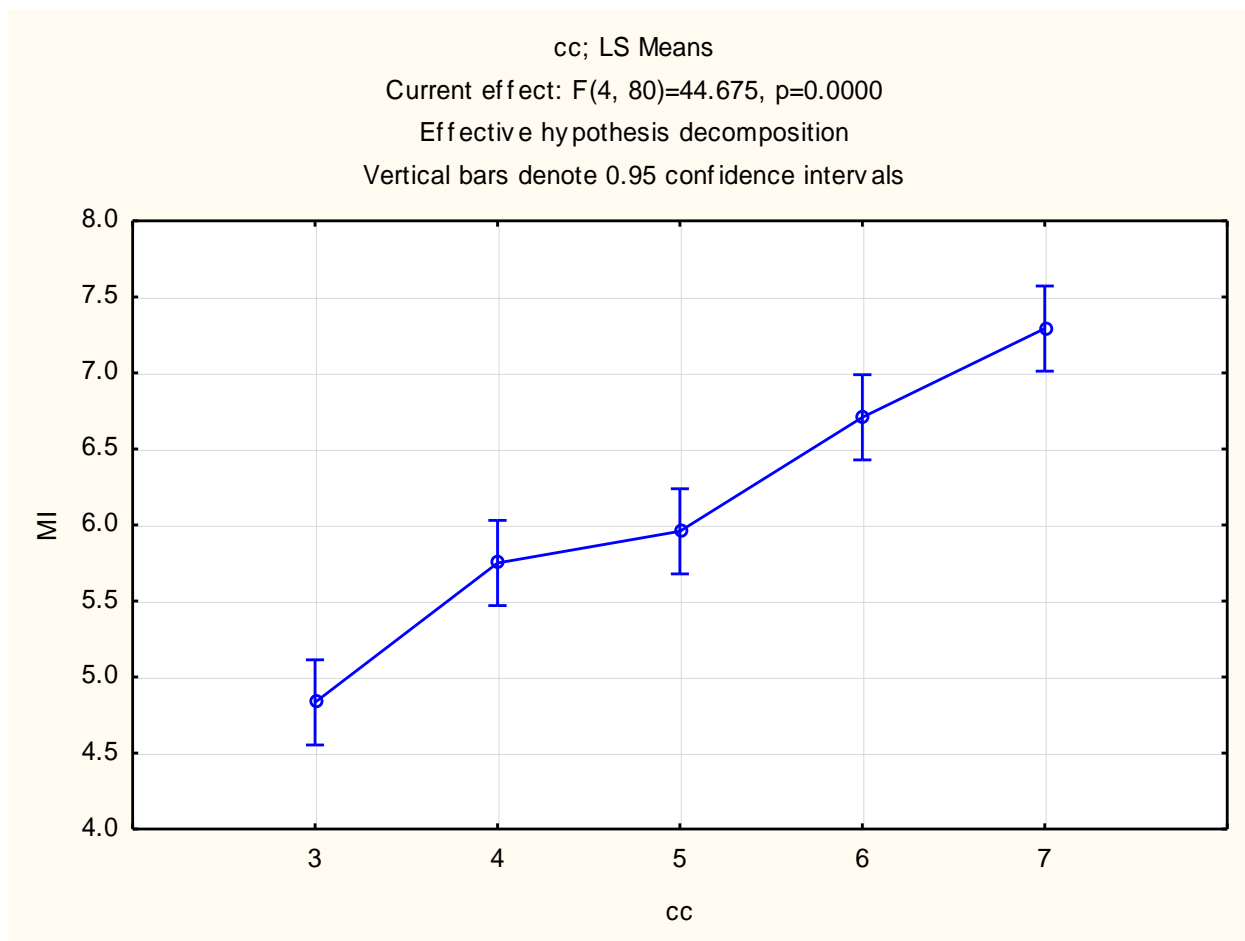
Tabla 8 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos.

CC	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
3	4.8	a
4	5.8	b
5	6.0	b
6	6.7	c
7	7.3	c

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 5. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos.



VARIABLE: CEPA* CONCENTRACIÓN

La prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga tratada según la cepa y concentración empleadas se observó que las concentraciones 4×10^7 y 5×10^7 de la cepa Nativa no presentaron diferencia significativa lo que nos indica que tienen una actividad entomopatógena similar, del mismo modo se pudo observar para las concentraciones 6×10^7 y 7×10^7 de la cepa Nativa. Se demostró diferencias significativas en las concentraciones de la cepa BI12H con respecto a las mismas concentraciones de la cepa Nativa utilizada como control, lo que nos indica que tienen una mayor actividad entomopatógena.

De tal modo se reafirmó que a medida que aumenta la concentración, incrementa el promedio de muertos infectados de las plagas *C. sordidus* para cada una de las cepas; evidenciándose mayor diferencia significativa entre las concentraciones de la cepa BI12H y la cual demostró mejor actividad entomopatógena.

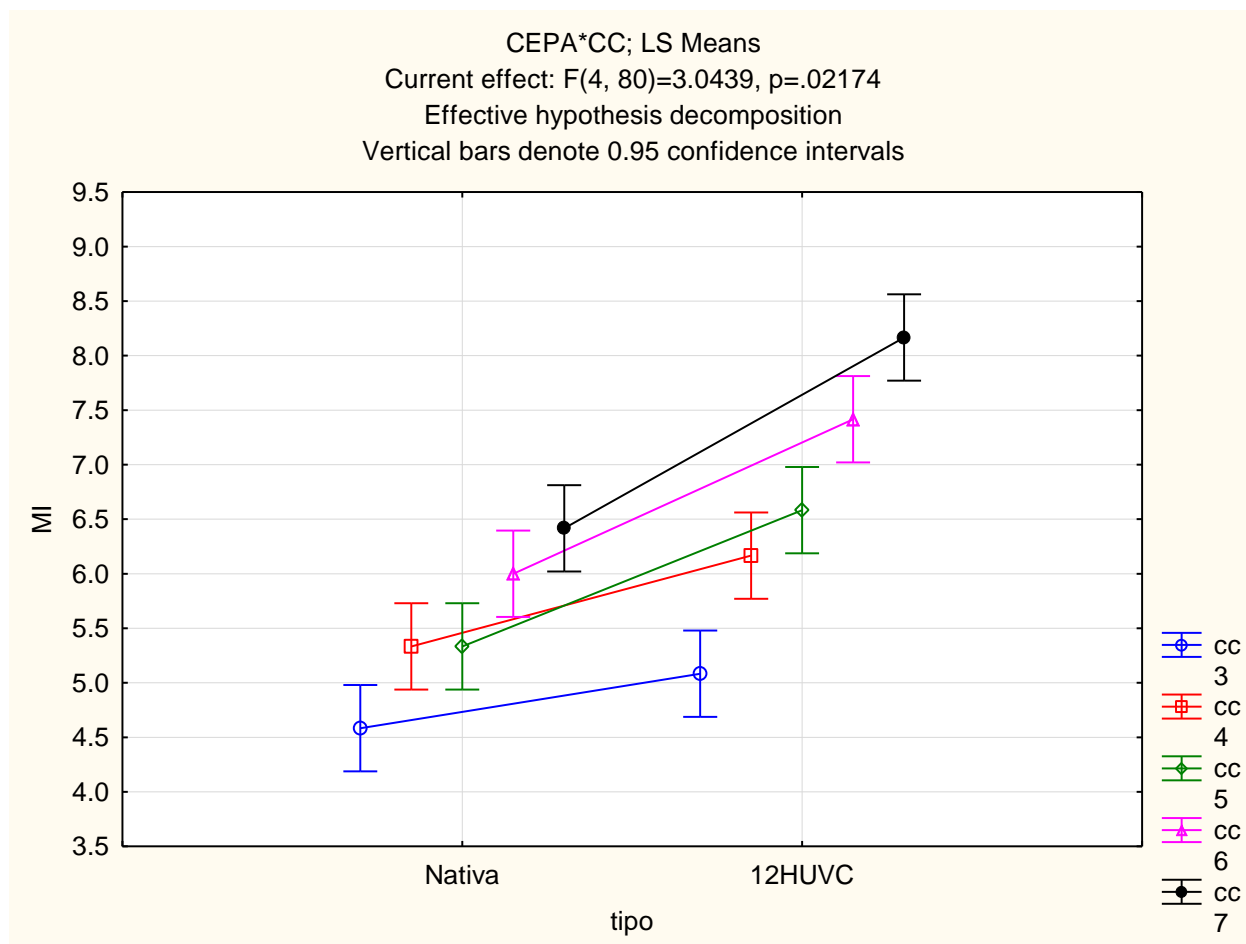
Tabla 9 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas*concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos para *C. sordidus*

CEPA	CC	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
Nativa	3	4.6	a
	4	5.3	b
	5	5.3	b
	6	6	c
	7	6.4	c d
BI12H	3	5.1	e
	4	6.2	f
	5	6.6	g
	6	7.4	h
	7	8.2	i

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 6. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas*concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos para *C. sordidus*



Beauveria bassiana nativa



Figura 10. Insectos infectados de *C. sordidus* a diferentes concentraciones de la cepa *B. bassiana* nativa.

Beauveria bassiana 12H (BI12H)

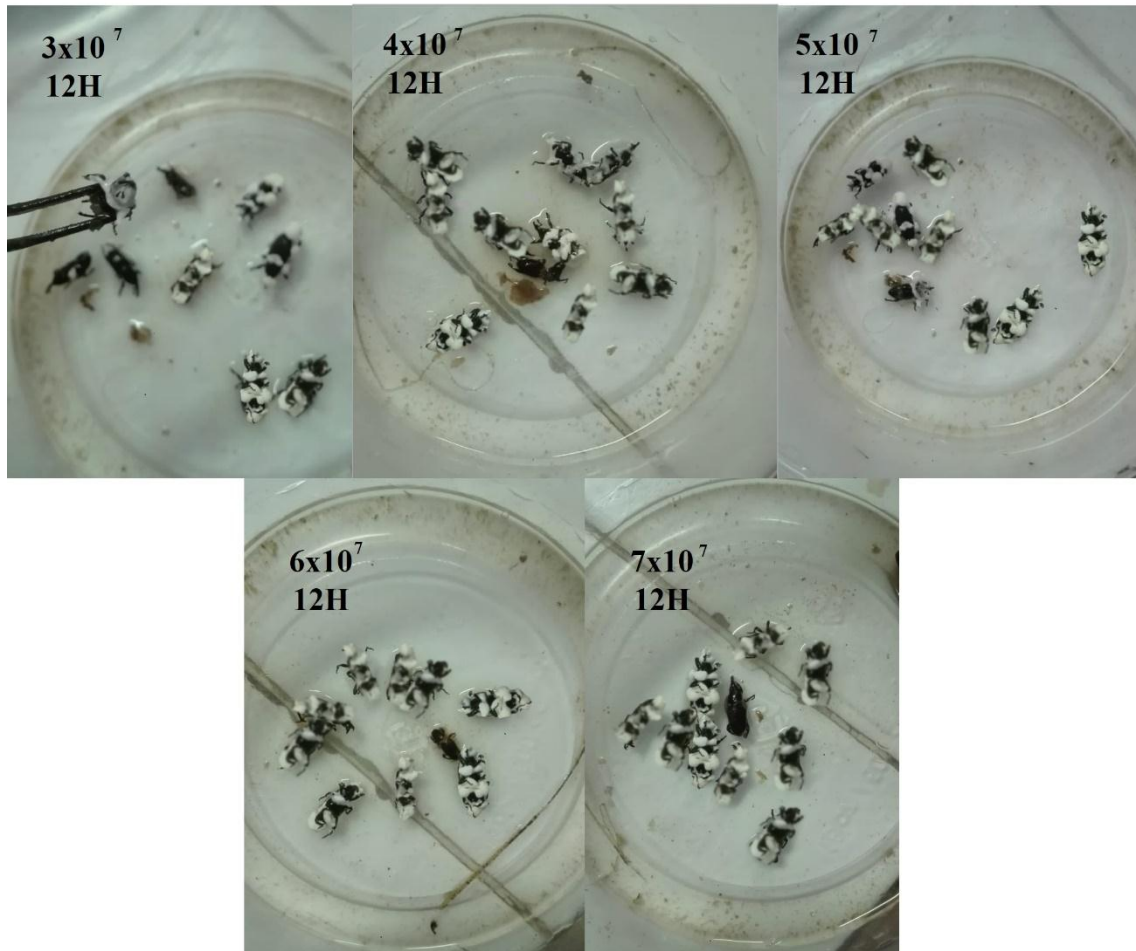
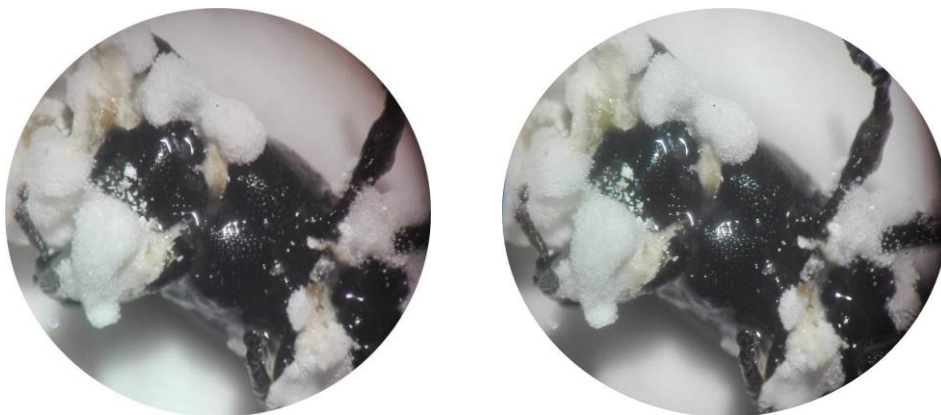


Figura 11. Insectos infectados de *C. sordidus* a diferentes concentraciones de la cepa *B. bassiana* 12H



4.3 DOSIS LETAL MEDIA (DL50) de las cepas del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.

Se determinó la dosis letal media, donde se analizaron los promedios obtenidos en la **Tabla 10** en la que se describió la DL50 y DL90 para cada una de las cepas: Nativa y (BI12H) en la que se observó que la DL50 para la cepa Nativa y cepa irradiada (BI12H) ocurrió en el día tres de evaluación de larvas del III estadio de *Spodoptera frugiperda*.

La DL90 para la cepa nativa se evidenció en el día doce, mientras que para la cepa irradiada ocurrió en el día nueve de evaluación. Demostrando así la efectividad de las cepas y una mejor actividad entomopatógena de la cepa experimental BI12H.

También se estimó la tasa de mortalidad en porcentajes del 50% y 90%, llegando en el día 12 al 100% de mortalidad reforzando los resultados.

Tabla 10 Determinación de la DL50 y DL90 de las cepas Nativa y BI12H de *S. frugiperda*.

TIPO	DÍAS	PROMEDIO(MI)	%
Nativa	3	5	50
	12	9	90
BI12H	3	5	50
	9	9.3	90
	12	9.6	100

MI = Muertos infectados

4.3.1 Prueba PROBIT para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *S. frugiperda*.

Al haberse utilizado las concentraciones propuestas 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml se calculó en la prueba de regresión la concentración mínima que hizo efecto en el control de larvas del III estadio de la plaga *S. frugiperda* para la cepa Nativa recayendo en la LD50 como se aprecia en la (Tabla 11 y Gráfico 7) para la concentración menor 3×10^7 conidias/ml trabajada; que nos indicó ya una actividad entomopatógena alta, siendo de igual manera la concentración mínima efectiva para el control de la plaga.

Tabla 11 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *S. frugiperda* para la cepa Nativa.

Estadísticos de Regresión			
LD50	3.9326	LD50 Error Estándar	0.2652
LD50 LCL	3.3593	LD50 UCL	4.3749
Log10[LD50]	0.5947	Error Estándar	0.0293
Beta	2.2974	Intercepto	3.6338
Beta Error Estándar	0.4055		

Las concentraciones propuestas 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 conidias/ml que se calculó en la prueba de regresión, la concentración mínima que hizo efecto en el control de larvas del III estadio de la plaga *S. frugiperda* para la cepa experimental BI12H recayó en la LD50 como se aprecia en la (Tabla 12 y Gráfico 8) para la concentración menor 3×10^7 conidias/ml empleada; que presentó ya una actividad entomopatógena muy potente, siendo la concentración mínima efectiva para el control de la plaga.

Tabla 12 Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *S. frugiperda* para la cepa BI12H.

Estadísticos de Regresión			
LD50	3.1308	LD50 Error Estándar	0.3383
<i>LD50 LCL</i>	2.3753	<i>LD50 UCL</i>	3.6251
<i>Log10[LD50]</i>	0.4956	<i>Error Estándar</i>	0.0468
<i>Beta</i>	2.1654	<i>Intercepto</i>	3.9267
<i>Beta Error Estándar</i>	0.4110		

Gráfico 7. Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *S. frugiperda* para la cepa Nativa.

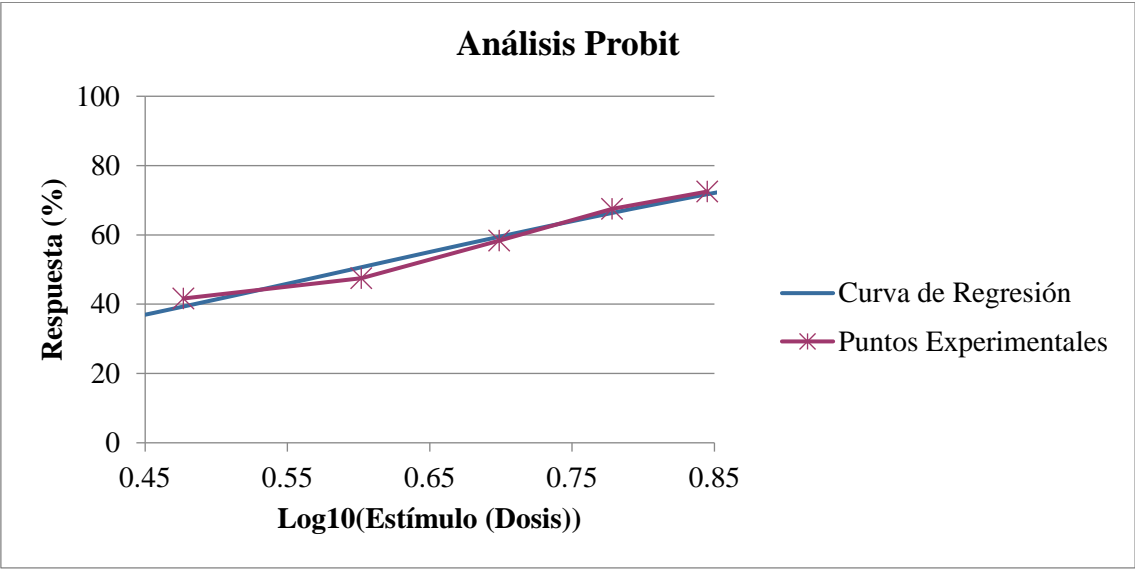
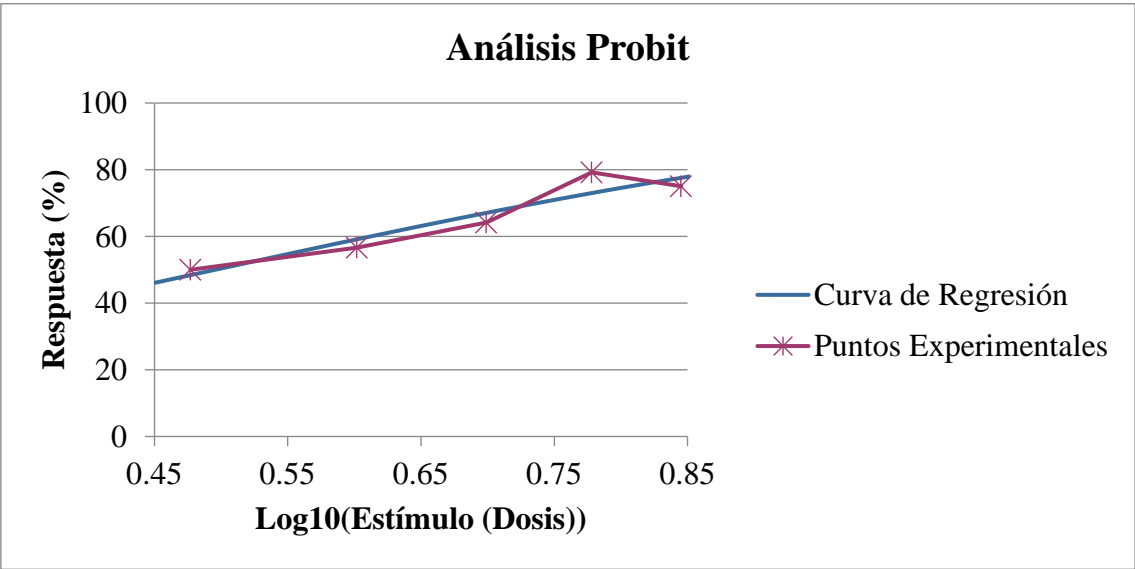


Gráfico 8. Prueba de regresión para determinar la concentración mínima efectiva del entomopatógeno *B. bassiana* para el control de larvas del III estadio de *S. frugiperda* para la cepa BI12H.



4.4 Análisis estadístico

4.4.1. Promedio de muertos infectados de larvas del III estadio de *S. frugiperda*.

Los valores obtenidos demostraron que todos los individuos de *S. frugiperda* en estudio fueron atacados por el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* encontrándose algunas diferencias en la acción de las cepas, debido a que fueron enfrentados a diferentes concentraciones de la solución.

Se obtuvieron los promedios de mortalidad para *S. frugiperda*, de tal modo que para la cepa nativa de *B. bassiana*, se observó que en la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) alcanzó un promedio de 3 muertos infectados (MI) y para la concentración mayor (7×10^7 conidias/ml) llegó a un promedio de 6 muertos infectados en el día 3; aumentando en los siguientes 6, 9 y 12 días los promedios de muertos infectados, siendo para la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) un promedio de 6 MI y para la mayor concentración (7×10^7 conidias/ml) en un promedio alcanzado de 9 durante el día 12, lo que nos indica que conforme va aumentando los días de exposición al entomopatógeno, asciende los promedios de muertos infectados.

La cepa (BI12H) de *B. bassiana*, la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) obtuvo un promedio de 3 MI en el día 3 y la concentración mayor (7×10^7 conidias/ml) obtuvo un promedio de 6 MI en el mismo día, incrementando en los siguientes 6, 9 y 12 días los promedios de muertos infectados, siendo en el último día para la menor concentración (3×10^7 conidias/ml) un promedio de 7 MI y para la mayor concentración (7×10^7 conidias/ml) un promedio alcanzado de 10 MI, indicándonos que conforme va pasando las semanas de exposición al entomopatógeno, incrementa los promedios de muertos infectados. Comparando la actividad inicial de ambas cepas se mostró similitud en la mortalidad de las plagas trabajadas y distinguiéndose posteriormente en los resultados de los demás días evaluados. Observándose una mejor actividad en la cepa (BI12H) de *B. bassiana*. Se observa en el **Anexo 10** el promedio de *larvas del III estadio* muertos infectados de *S. frugiperda* por la acción tóxica de *Beauveria bassiana* durante un periodo de 4 días observándose en el día 12 una mortalidad del 90% de los insectos para la concentración (7×10^7 conidias/ml). Y en el **Anexo 11** se observa el promedio de *larvas del III estadio* muertos infectados de *S. frugiperda* por la acción tóxica de *Beauveria bassiana* durante un periodo de 4 días observándose en ésta última una mortalidad del 100% de los insectos para la concentración (6×10^7), lo cual nos

demuestra que los efectos de la irradiación UVC han incrementado el poder de toxicidad de la cepa.

4.4.2. Análisis estadístico de *Spodoptera frugiperda*.

Al realizar el análisis de varianza de la actividad entomopatógena de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda* a diferentes concentraciones de las dos cepas utilizadas, se observó que las variables días, cepa, concentración y días*cepa presentan diferencias estadísticas significativas, donde se rechaza la hipótesis (**Tabla 13**). De tal modo que los resultados nos muestran que las variables mencionadas influyen significativamente en la efectividad de *B. bassiana* frente a las plagas de *S. frugiperda*.

HIPÓTESIS:

H₀: No existe diferencias significativas entre los días de tratamiento.

H₀: No existe diferencias significativas en las cepas Nativa y (BI12H)

H₀: No existe diferencias significativas entre las concentraciones empleadas

H₀: No existe diferencias significativas entre días y cepa

H₀: No existe diferencia significativa entre días y concentración

H₀: No existe diferencia significativa entre cepa y concentración

H₀: No existe diferencia significativa entre días, cepa y concentración

Tabla 13 Análisis de varianza de los promedios de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* por la acción toxica de las cepas Nativa y (BI12H).

Efecto	SC	GL	CM	F	Decisión
Días	228.225	3	76.075	217.36	Rechazar H ₀
Cepa	15.408	1	15.408	44.02	Rechazar H ₀
Cc	148.383	4	37.096	105.99	Rechazar H ₀
días*Cepa	3.425	3	1.142	3.26	Rechazar H ₀
días*cc	4.817	12	0.401	1.15	Aceptar H ₀
Cepa*cc	0.55	4	0.137	0.39	Aceptar H ₀
días*Cepa*cc	4.783	12	0.399	1.14	Aceptar H ₀
Error	28	80	0.35		

SC = Suma de Cuadrados GL = Grados de Libertad CM = Cuadrado Medio

VARIABLE: DÍAS

La prueba de significación de Tukey (0.05) a los promedios de mortalidad de la plaga tratada según el tiempo de acción en días se puede apreciar que la mayor mortalidad se observó en el día 12 y una diferencia en el día 9, mientras que en los días 3 y 6 no se observa una diferencia significativa de la actividad del entomopatógeno.

De tal manera se pudo afirmar que a medida aumenta el tiempo de acción del entomopatógeno mayor es la mortalidad de la plaga *S. frugiperda*.

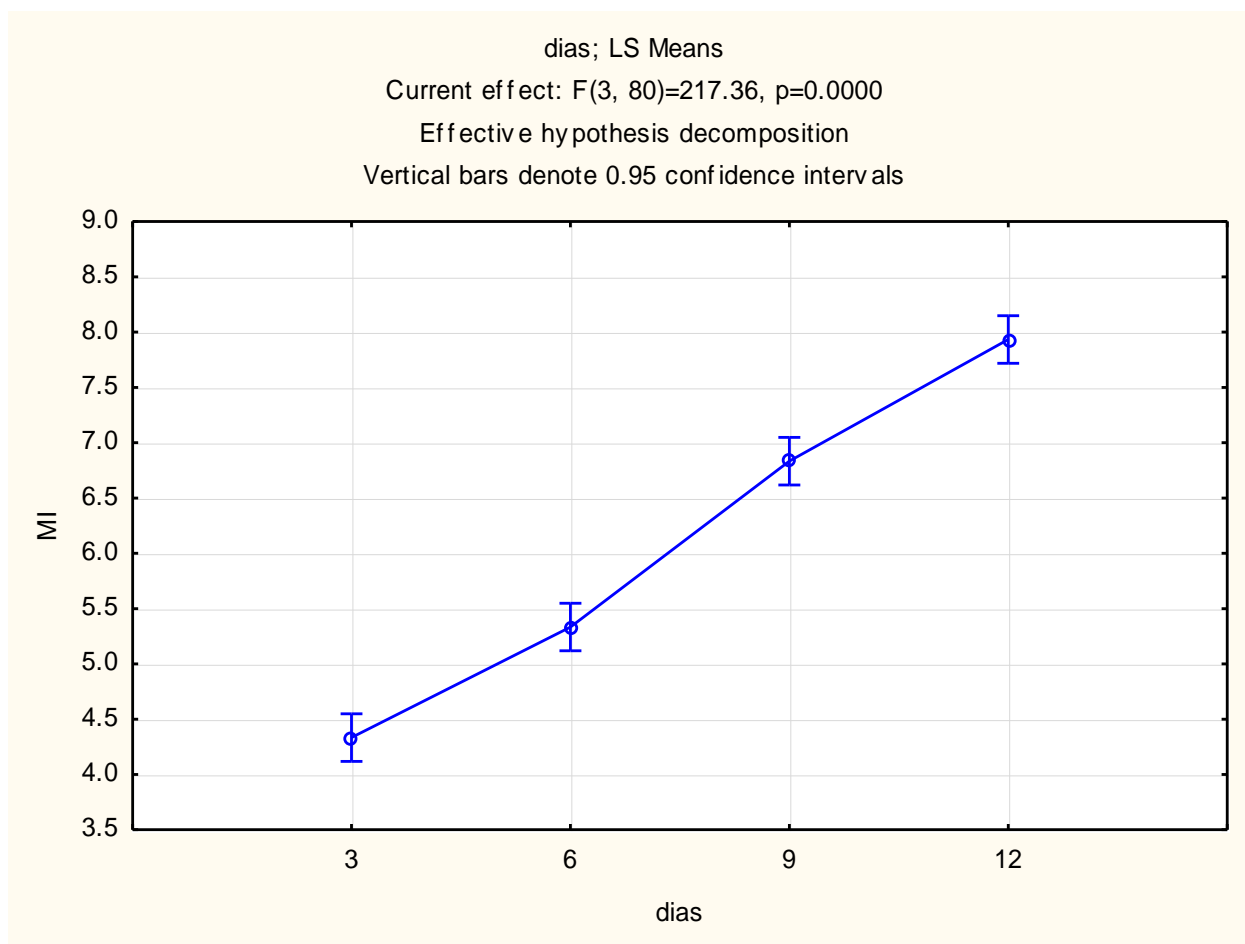
Tabla 14 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en días.

DÍAS	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
3	4.3	a
6	5.3	a
9	6.8	b
12	7.9	c

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 9. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tiempo de exposición del entomopatógeno expresado en días.



VARIABLE: CEPA

Al realizar la prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga trabajada según las cepas utilizadas se puede observar que la cepa irradiada tiene una mejor actividad entomopatógena que la cepa nativa.

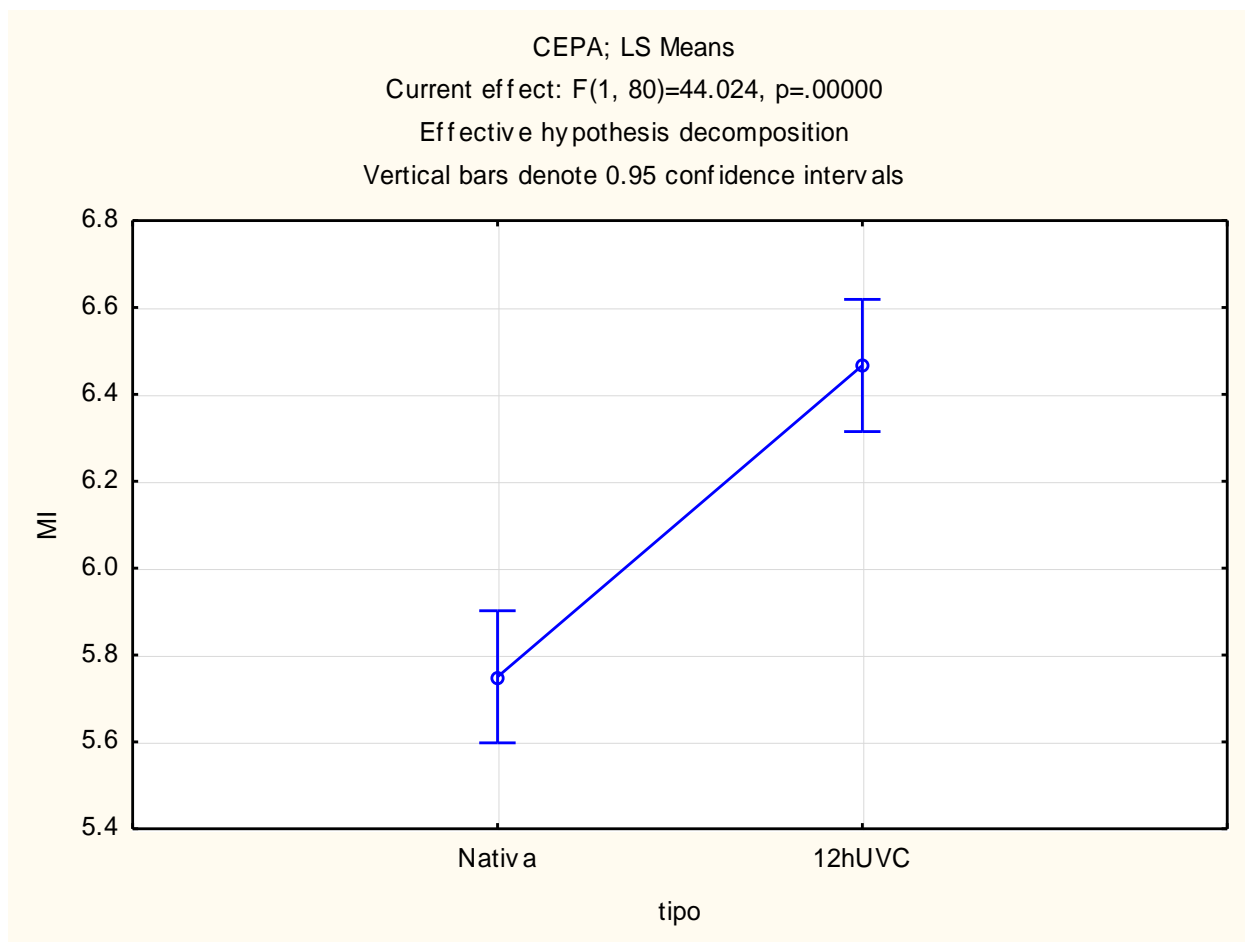
Tabla 15 Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.

CEPA	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
Nativa	5.8	a
12hUVC	6.5	b

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 10. Prueba de significancia Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según el tipo de cepa.



VARIABLE: CONCENTRACIÓN

La prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga estudiada según las concentraciones empleadas presentó una diferencia significativa que nos demostraron que a medida incrementan las concentraciones, la actividad entomopatógena de las cepas aumenta.

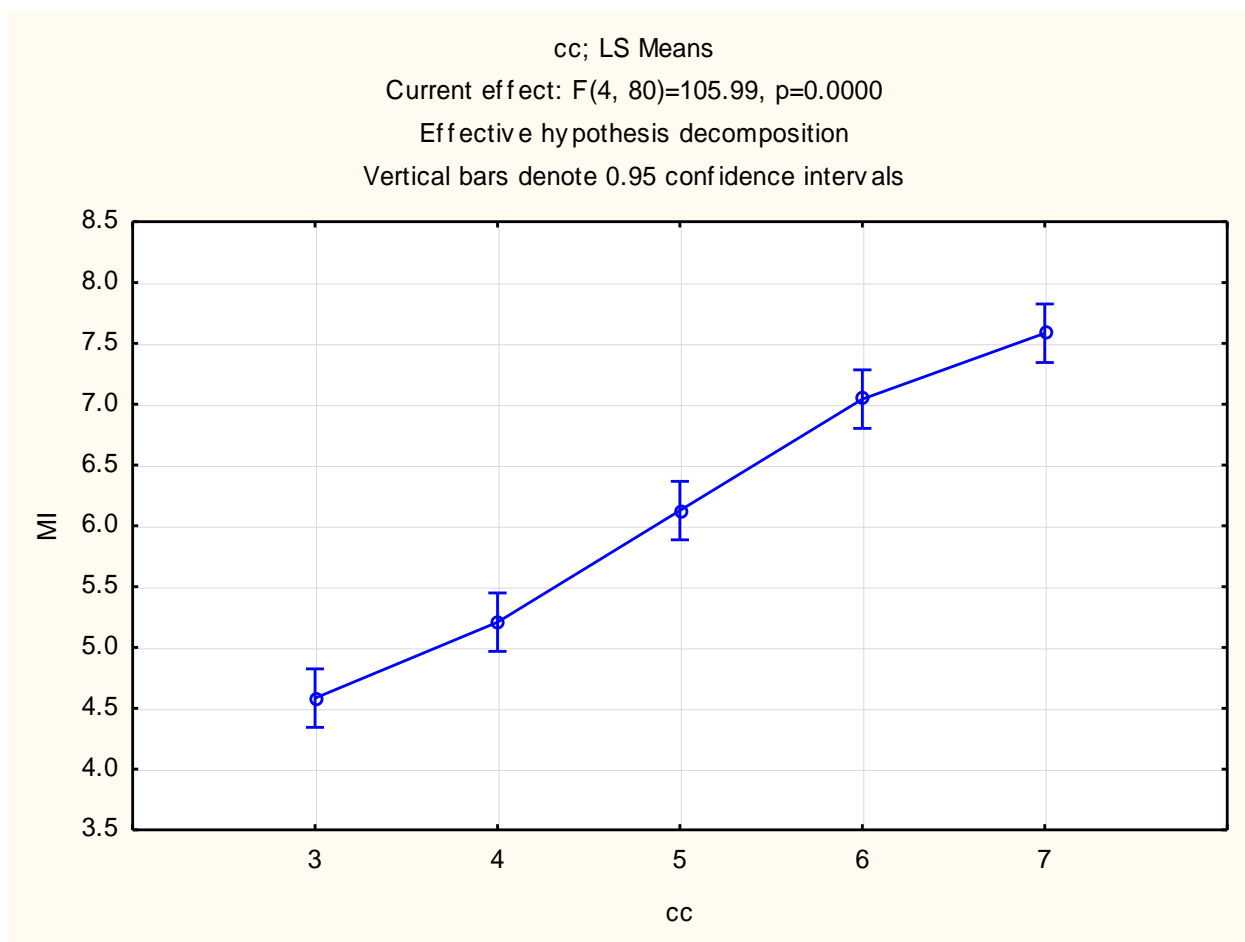
Tabla 16 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos.

CC	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
3	4.6	a
4	5.2	a b
5	6.1	b
6	7.0	c
7	7.6	c

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 11. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las concentraciones de *B. bassiana* aplicadas en los tratamientos.



VARIABLE: DIAS*CEPA

Por medio de la prueba de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad de la plaga estudiada según la cepa y concentración empleadas se demostró estadísticamente que para cada cepas utilizadas Nativa y BI12H existió diferencias significativas con respecto al tiempo en días empleado en el presente trabajo, lo cual nos permitió reafirmar una regla directamente proporcional donde al aumentar el tiempo de acción de las cepas entomopatógenas, incrementó el promedio de muertos infectados para la plaga *Spodoptera frugiperda*.

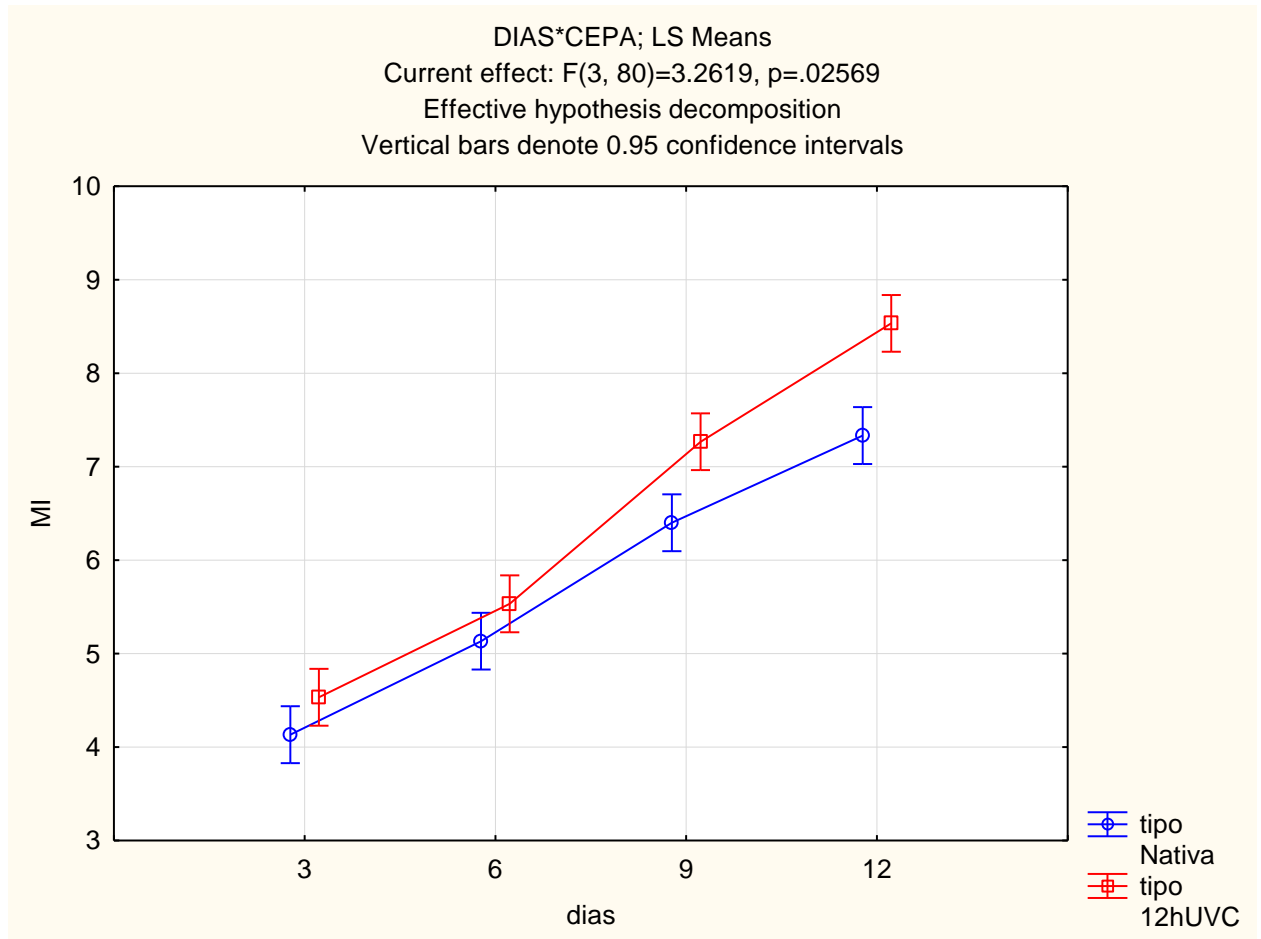
Tabla 17 Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas de *B. bassiana* y días de evaluación para la plaga *S. frugiperda*.

CEPA	DÍAS	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA ($\alpha = 0,05$)
Nativa	3	4.1	a
	6	5.1	b
	9	6.4	c
	12	7.3	d
BI12H	3	4.5	e
	6	5.5	f
	9	7.3	g
	12	8.5	h

Letras iguales = No existe diferencia significativa

Letras diferentes = Existe diferencia significativa

Gráfico 12. Prueba de significancia de Tukey (0.05) de los promedios de mortalidad según las cepas de *B. bassiana* y días de evaluación para la plaga *S. frugiperda*.



***Beauveria bassiana* nativa**



Figura 12. Insectos infectados de *S. frugiperda* a diferentes concentraciones de la cepa *B. bassiana* nativa.

***Beauveria bassiana* 12H (BI12H)**



Figura 13. Insectos infectados de *S. frugiperda* a diferentes concentraciones de la cepa *B. bassiana* 12H



Figura 14. Vista posterior de la placa, insectos recubiertos por la cepa BI12H

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se evaluaron dos cepas de *Beauveria bassiana*, una cepa nativa y otra irradiada con Luz ultravioleta UVC con longitud de 254 nm frente a dos plagas que afectan a cultivos de banano (*Cosmopolites sordidus*) y de maíz (*Spodoptera frugiperda*).

El trabajo se realizó utilizando insectos adultos de *C. sordidus* y del III estadio de las larvas de *S. frugiperda*; las cepas de *B. bassiana* fueron aisladas de insectos del distrito de Incahuasi y mantenidas en el laboratorio con Agar Sabouroad; un subcultivo de ésta cepa fue irradiada con luz ultravioleta durante 12H para ser utilizada en la presente investigación.

El trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología durante los meses mayo a octubre.

Se trabajaron 5 concentraciones que van desde 3×10^7 a 7×10^7 conidias/ml para cada una de las cepas, siendo la concentración de 5×10^7 de la cepa Nativa que mató al 50 % de individuos de *C. sordidus* en la segunda semana de evaluación (DL50) y la concentración de 7×10^7 que mató al 90% (DL90) en la cuarta semana de haber infectado al insecto. Para la cepa (BI12H) la DL50 se observó en la concentración de 4×10^7 en el lapso de una semana y la DL90 estuvo en la concentración de 7×10^7 en un tiempo de 3 semanas. Nuestros resultados coinciden con los de Bastidas *et al.* (2009) Quien determinó que concentraciones de 10^4 a 10^8 conidias/ml presentaron una mortalidad del 97 y 98% sobre la Broca en un tiempo de 4,4 y 4,7 días.

Brenes y Carballo (2009) demostraron la virulencia de *B. bassiana* a una concentración de 1×10^9 conidias/ml con una mortandad del 72,5 al 100% sobre el picudo negro, así mismo menciona que la cepa A-4 a una concentración de 4×10^9 conidias/ml dieron una mortandad del 97.5% a los 21 días después de inoculado los insectos.

La dosis letal 50 para la cepa nativa sobre *S. frugiperda* estuvo en 6×10^7 conidias/ml observado en un tiempo de 3 días y de la DL90 fue a una concentración de 7×10^7 conidias/ml en un tiempo de 12 días de exposición. Para la cepa de (BI12H) fue de 6×10^7 conidias/ml al tercer día después de la exposición y la DL90 fue de 7×10^7 conidias/ml fue en un tiempo de 9 días después de la exposición. Nuestros resultados no concuerdan con los de Aliaga *et al.* (2009) Quién determinó la DL50 en 1.90×10^{24}

conidias/gr. y el valor del DL90 fue del 2.30×10^{31} conidias/gr. frente al estadio I de *S. frugiperda*; para el estadio II el valor del DL50 fue de 7.9×10^{24} conidias/gr el valor del DL90 fue de 9.10×10^{31} conidias/gr sin embargo para el estadio III no encontró letalidad con *B. bassiana*.

Al evaluar las variables en estudio a través del análisis de varianza observamos que existen diferencias significativas entre el tiempo de exposición, el tipo de cepa y las concentraciones empleadas tanto para *C. sordidus* como para *S. frugiperda*. (Tabla 12 y Tabla 17). La diferencia observada en el tiempo de exposición entre ambas plagas se debe a la estructura misma del insecto ya que *C. sordidus* se trabajó con individuos adultos cuya estructura corporal está básicamente por quitina, mientras que las larvas de *S. frugiperda* presenta un tejido blando que favorece una mayor colonización del hongo en menor tiempo. (Flores, 2000) éstos resultados se corroboran con la prueba de significancia de TUKEY en donde el tiempo promedio de infección se aprecia entre el 3er y 4ta semanas para *C. sordidus* (Tabla 13 y Gráfico 5) mientras que para *S. frugiperda* estuvo entre 9 a 12 días. (Tabla 18 y Gráfico 9)

En cuanto al tipo de cepa se puede decir que la cepa irradiada (BI12H) tuvo una mejor actividad entomopatógena debido a una rápida colonización sobre los insectos y esto va refrendado porque a nivel de laboratorio los cultivos irradiados tuvieron una mayor velocidad de crecimiento que la cepa nativa, así mismo se observó una variación a nivel del diámetro de las hifas y del tamaño de microconidias observadas microscópicamente en comparación con la cepa nativa (Figura 5). La prueba de significancia de TUKEY se corrobora que ambas cepas presentan un comportamiento distinto frente a la actividad entomopatógena de *C. sordidus* y *S. frugiperda*.

En cuanto a las concentraciones empleadas para ambas cepas se observó que existen diferencias significativas, lo que se evidencia en la prueba de significancia de TUKEY a medida que se incrementa las concentraciones aumenta la mortandad de *C. sordidus* y *S. frugiperda*, siempre y cuando no sobrepase de los valores de la producción, siendo la concentración de 7×10^7 la que logra una mortalidad del 100%.

En cuanto a la concentración mínima efectiva fue de 2.2686 (cepa Nativa) y de 2.0568 (cepa BI12H) de la plaga *Cosmopolites sordidus* y la concentración mínima para la plaga *Spodoptera frugiperda* fue de 3.3593 y 2.3753 cepa Nativa y cepa BI12H respectivamente, lo cual nos permite demostrar que ambas cepas tienen un alto grado de

efectividad en comparación con los trabajos realizados por Aliaga *et al.* (2009) Quien reportó concentraciones por encima de 10^{24} debido a que usó productos comerciales.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos indican que ambas cepas de *B. bassiana* tuvieron efecto nocivo sobre el picudo negro de banano y el cogollero del maíz, dicha actividad entomopatógica se debe a la capacidad del hongo de colonizar y penetrar a través de los tejidos formando hifas que se ramifican en la superficie de la quitina penetrando luego hacia el interior de los tejidos musculares, cuerpos grasos, hemocitos, etc. y produciendo sustancias tóxicas que constituyen el principal factor de virulencia que ocasiona la muerte de las plagas en estudio. Investigadores como Valdés *et al.* Demostró que cepas de *Beauveria bassiana* irradiadas con UV causaban elevada mortalidad sobre la plaga de la Broca del café (68%) y del (95%) bajo condiciones de laboratorio.

Dicha toxicidad ocasionada por la cepa *B. bassiana* se asocia con la producción de toxinas peptídicas como Beauvericina conocida como Basionólido que presenta una fuerte acción insecticida. (Valenzuela, 2002)

VI. CONCLUSIONES

Finalizado el presente trabajo de investigación se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La cepa irradiada (BI12H) tiene un mayor efecto entomopatígeno frente a las plagas, adultos del picudo negro del banano y larvas del III estadio del cogollero que la cepa Nativa.
- La tasa de mortalidad (DL50) y (DL90) que representa el 50 y 90% para la plaga *Cosmopolites sordidus* estuvo las concentraciones entre 5×10^7 a 7×10^7 conidias/ml para la cepa Nativa en tanto que para la cepa Irradiada BI12H estuvo entre 4×10^7 a 7×10^7 conidias/ml. Para la plaga *Spodoptera frugiperda* estuvo entre las concentraciones de 6×10^7 a 7×10^7 conidias/ml para ambas cepas representando el 50 y 90%.
- La concentración que tuvo mejor actividad entomopatígena fue la de 7×10^7 para ambas cepas en las dos plagas, adultos de *Cosmopolites sordidus* y *Spodoptera frugiperda* y la concentración mínima efectiva fue de 2.2686 (cepa Nativa) y de 2.0568 (cepa BI12H) de la plaga *Cosmopolites sordidus* y para la plaga *Spodoptera frugiperda* fue de 3.3593 y 2.3753 cepa Nativa y cepa BI12H respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- Aplicar el presente trabajo con vectores patógenos que afectan al humano y/o animales.
- Continuar la investigación aplicando concentraciones de *Beauveria bassiana* en campo.
- Realizar trabajos experimentales tanto en laboratorio como en campo con otras plagas de importancia para nuestra región.
- Efectuar otros estudios que permitan demostrar la variabilidad genética de la cepa irradiada con luz UV-C.
- Trabajar a diferentes distancias del foco de luz, irradiaciones de luz UV-C sobre *Beauveria bassiana*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, V. (2015). *EVALUACIÓN DE Beauveria bassiana Y Trichoderma harzianum SOBRE NEMÁTODOS PARÁSITOS DE MELÓN*. Tesis, UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR, Guatemala. Obtenido de <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2015/06/09/Acevedo-Victor.pdf>
- Aliaga Fuentes, J. C., & Cruz Gutierrez, J. S. (2009). *Determinación de las CL50 y CL90 del hongo Beauveria bassiana CBLE-265 para EL control de las plagas Spodoptera frugiperda y Aphis craccivora*. Tesis, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Lima. Recuperado el 28 de Abril de 2018
- Arias López, Banda Banda, Bejarano de la Cruz, Benites Salcedo, & Arellano Barragán. (2014). Efecto de Beauveria bassiana sobre la mosca Anastrepha y larvas del cogollero Spodoptera frugiperda en condiciones de laboratorio. *REBIOLEST, Revista científica de estudiantes*, 1 - 7. Obtenido de <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/644>
- Ayala, J. (1997). Ensayo sobre diferentes dosis de Beauveria bassiana (Bals) (Vuill) para el control del picudo negro del plátano Cosmopolites sordidus (Germar). *Centro Agrícola*, 4(2), 19-24. Recuperado el 21 de Octubre de 2018
- Bastidas, A., Velásquez Salamanca, E., Marín Marín, P., Benavides Machado, P., Bustillo Pardey, A. E., & Orozco C., F. J. (enero - junio de 2009). Evaluación de preformulados de Beauveria bassiana (bálsamo) Vuillemin, para el control de la Broca del Café. *Agronomía*, 17(1), 44 - 61. Recuperado el 5 de Mayo de 2018, de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.475.585&rep=rep1&type=pdf#page=44>
- Biocontrol Do&mdore. (Junio de 2012). *Ficha de Control de Plagas - Cosmopolites sordidus*. Recuperado el 3 de Mayo de 2018, de http://www.aomidoribiocontrol.com/AoM32/images/FichasPDF_ES/FCP_Cosmopolites_sordidus_ES_Rev00.pdf
- Brenes, S. (2003). *Efecto de diferentes aislados del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals) Vuill. sobre Cosmopolites sordidus (Chevrolet) Germar. (Col:Curculionidae)*. Tesis, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- Brenes, S., & Carballo, M. (2004). Evaluación de Beauveria bassiana (Bals) para el control biológico del picudo del plátano Cosmopolites sordidus. *Manejo Integrado de Plagas*(31), 17-21.
- Carballo, M. (2001). *Opciones para el manejo del picudo negro del plátano*. Hoja Técnica, Costa Rica. Recuperado el 28 de Abril de 2018, de

<http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6619/A1750e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Castillo, C. E., Cañizalez, L. M., Valera, R., Godoy, J. C., Guedez, C., Olivar, R., & Morillo, S. (2014). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE BEAUVERIA BASSIANA, AISLADA DE DIFERENTES INSECTOS EN TRUJILLO-VENEZUELA. *ResearchGate*, 8.
- Corral, C. S. (2004). *Determinación del efecto inhibitorio in vitro del jugo de Cranberry (Vaccinium macrocarpum Ait) sobre microorganismos patógenos*. tesis de pregrado, Universidad Austral de Chile, escuela de ingeniería de alimentos, Valdivia.
- Falconi Agapito, F. (2009). *Evaluación in vitro de hongos entomopatógenos como agentes potenciales para el control de Dysdercus peruvianus Guérin-Ménéville 1831 (Hemiptera:Pyrrhocoridae) plaga del cultivo del algodón*. Tesis, Universidad Mayor de San Marcos, Lima. Obtenido de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/902>
- Fausto Cisneros. (Enero de 2010). El Manejo Integrado de Plagas. *Control de Plagas Agrícolas, Fascículo(13)*. Obtenido de https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/Control_de_Plagas_Agricolas_MIP_Ene_2010.pdf
- Flor de Planta . (03 de 12 de 2012). *Flor de Planta*. Recuperado el 10 de setiembre de 2017, de <http://www.flordeplanta.com.ar/control-plagas/como-detectar-prevenir-y-controlar-las-termitas-en-el-jardin/>
- Flores Hueso, R. (2000). *Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) A Bacillus thuringiensis*. Tesis, Universidad de Colima, México. Recuperado el 29 de Marzo de 2018, de http://digeset.uco.mx/tesis_posgrado/Pdf/Raymundo%20Flores%20Hueso%20MAESTRIA.pdf
- France, A., Gerding, M., & Sandoval, A. (Octubre de 2002). Patogenicidad de aislamientos Chilenos de Beauveria bassiana en adultos de Asynonychus cervinus (Boh.) (Coleoptera: Curculionidae). *Scielo*, 62(4), 4. Recuperado el 3 de Mayo de 2018, de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0365-28072002000400001&script=sci_arttext
- García García, M. A., Cappello García, S., Leshner Gordillo, J. M., & Molina Martínez, R. F. (Mayo-Agosto de 2011). Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos Beauveria bassiana y metarhizium anisopliae. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 10(2), 28. Recuperado el 14 de Abril de 2018, de <http://www.redalyc.org/html/4578/457845138002/>

- García, Villaiza, Torres, & Cotes. (2006). Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*(77). Obtenido de <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/6119>
- Genmar. (29 de Octubre de 2016). *Wikipedia*. Recuperado el 12 de Mayo de 2018, de https://es.wikipedia.org/wiki/Cosmopolites_sordidus
- Gobierno Regional de Lambayeque. (2008). *Plan estratégico Regional del Sector Agrario de Lambayeque 2009 - 2015*. Chiclayo: Ministerio de Agricultura. Obtenido de http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/conocenos/transparencia/planes_estrategicos_regionales/lambayeque.pdf
- Gold, C., & Messiaen, S. (Octubre de 2000). El Picudo Negro del Banano *Cosmopolites sordidus*. *Inibap*(4), 4. Recuperado el 5 de Mayo de 2018, de www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN010181_spa.pdf&id=14071
- Góngora Botero, C., Marín Marín, P., & Benavides Machado, P. (Junio de 2009). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico para la Broca de café. *Avances técnicos - Cenicafé*. Colombia. Recuperado el 20 de Abril de 2018, de <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0384.pdf>
- Guitierrez Peña, E. B. (2017). *CONTROL BIOLÓGICO DE COGOLLERO (Spodoptera frugiperda) Y MAZORQUERO (Heliothis zea) EN EL CULTIVO DE MAÍZ AMILÁCEO (Zea mays L.), EN LA LOCALIDAD DE MAUCACALLE ABANCAY – APURÍMAC*. Tesis, Universidad tencológica de los Andes, Facultad de Ingenieria, Abancay - Apurimac.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (23 de Febrero de 2018). *Producción de maíz amarillo duro aumentó 37,4% en diciembre de 2017*. Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/produccion-de-maiz-amarillo-duro-aumento-374-en-diciembre-de-2017-10604/>
- Ipcni Chiclayo. (28 de Octubre de 2016). *Banano Orgánico*. (M. Global, Productor) Recuperado el 13 de Septiembre de 2018, de https://issuu.com/ipcnichiclayo/docs/banano_org_nico
- L. R. Nault. (1997). Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of Entomological Society of America*, 521-541. Recuperado el 09 de setiembre de 2017, de wikipedia: <https://es.wikipedia.org/wiki/Thysanoptera>
- Landazabal, Fernández, & Figueroa. (s.f). *CONTROL BIOLOGICO DE Spodoptera frugiperda (J. E. Smith), CON EL NEMATODO: Neoaplectana carpocapsae EN MAIZ (Zea mays)*. Tesis, Universidad Nacional de Colombia, Colombia. Obtenido de https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/48455

- Lucero Mafla, A. M., Peña Villamil, L. A., & Bacca Ibarra, T. (Octubre de 2004). Evaluación de la actividad biocontroladora de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Ancognatha scarabaeiodes* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Revista Corpoica*, 5(1), 6. Recuperado el 1 de Abril de 2018, de <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/download/23/25/>
- Luz, C., Tigano, M., Silva, I., Cordeiro, C., & Aljanabi, S. (Diciembre de 1998). Selección de aislados de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para controlar *Triatoma infestans*. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 6(93). Recuperado el 15 de Noviembre de 2018, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9921313>
- Ministerio de Salud. (2017). Recuperado el 10 de SETIEMBRE de 2018, de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1410-2.pdf>
- Mogollón Ñáñez, J. (2015). *RENTABILIDAD DEL MAIZ AMARILLO DURO (ZEA MAYS) RESISTENTE AL GUSANO COGOLLERO (SPODOPTERA FRUGIPERDA) EN EL DISTRITO DE JAYANCA, DEPARTAMENTO DE LAMBAYEQUE*. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2027>
- Navas Rivera, J. L. (2011). *Eficacia de Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin 1912 como controlador biológico de Cosmopolites sordidus German 1824 (Coleoptera: Dryophthoridae) en una plantación de Banano en la Región Caribe de Costa Rica*. Tesis, Universidad Nacional Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar Escuela de Ciencias Agrarias , Costa Rica. Recuperado el 15 de Mayo de 2018, de <http://www.sidalc.net/repdoc/A8870E/A8870E.PDF>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). *Producción de banano orgánico en Perú*. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de <http://www.fao.org/world-banana-forum/projects/good-practices/organic-production-peru/es/>
- RPP: Noticias. (23 de Julio de 2016). *Lambayeque: Callanca principal productor de hortalizas en el norte*. Recuperado el 14 de Septiembre de 2018, de <https://rpp.pe/peru/lambayeque/lambayeque-callanca-principal-productor-de-hortalizas-en-el-norte-noticia-981737>
- Samson, R. (2001). Identification of entomopatogenic deuteromycetes in Burges, H.D. En A. Press (Ed.). Londres: Microbial Control of pest and plant disease.
- Sotomayor, C. (2 de Aril de 2015). *Portal Frutícola.com*. Recuperado el 12 de Septiembre de 2018, de <https://www.portalfruticola.com/noticias/2015/04/02/aumenta-produccion-y-exportacion-de-banano-organico-peruano/>

- Tobar H., S., Vélez Arango, P., & Montoya Restrepo, E. (1999). Evaluación en campo de un aislamiento de *Beauveria bassiana* seleccionado por resistencia a la luz ultravioleta. *Cenicafé*, 50(3), 195-204. Recuperado el 14 de Noviembre de 2018, de <https://www.cenicafe.org/es/publications/arc050%2803%29195-204.pdf>
- Valdés Gutiérrez, S. P., Escobar López, L. M., Góngora Botero, C. E., & Córdoba Castro, L. (2011). Efecto de la luz ultravioleta sobre *Beauveria bassiana* y su virulencia a la Broca. *Revista Cenicafé*, 62(2), 58-68. Recuperado el 3 de Mayo de 2018, de <https://www.cenicafe.org/es/documents/4.pdf>
- Valenzuela, L. (2002). *Microorganismos entomopatógenos. Su uso en el control biológico de plagas de insectos*. Tesis, Universidad Autónoma de Chapingo, Dirección General de Patronato Universitario, Ciudad de Mexico.
- Varona, Castro, Páez, Carbajal, Barboza, León, & Díaz. (2011). Impacto en la salud y el medio ambiente por exposición a plaguicidas e implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo de tomate. *Revista Chilena de Salud Pública*, 16(2).
Obtenido de <https://revistasaludpublica.uchile.cl/index.php/RCSP/article/view/20267>
- Zagal Rodriguez, J. N. (2015). *Incidencia y severidad de Spodoptera frugiperda J.E. Smith en cuatro híbridos comerciales de Zea mays L. en Virú - La Libertad*. Tesis, Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Trujillo. Recuperado el 19 de Septiembre de 2018, de <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7790/ZAGAL%20RODR%C3%8DGUEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

IX. ANEXOS

Anexo 1 Taxonomía de *Spodoptera frugiperda*

Taxonomía *Spodoptera frugiperda*: Walker

Reino: Animalia

Phylum: Anthropoda

Subphylum: Mandibulata

Clase: Insecta

Sub clase: Pterygota

Orden: Lepidoptera

Sub orden: Frenatae

Superfamilia: Noctuoidea

Familia: Noctuidae

Tribu: Predeninii

Género: *Spodoptera*

Especie: *S. frugiperda*



Anexo 2 Taxonomía *Cosmopolites sordidus*

Taxonomía *Cosmopolites sordidus*. Germar

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Coleoptera

Superfamilia: Curculionoidea

Familia: Dryophthoridae

Subfamilia: Rhynchophorinae

Tribu: Litosomini

Género: *Cosmopolites*

Especie: *C. sordidus*



Anexo 3 Taxonomía *Beauveria bassiana*

Taxonomía *Beauveria bassiana* (Balsamo)

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *Beauveria bassiana*



Anexo 4 Identificación de *Beauveria bassiana*

Identificación de *Beauveria bassiana* (Paico Marín Stell Rutvi comparación con el trabajo de Castillo, 2012)

La cepa nativa o pura de *Beauveria bassiana* fue aislada de muestras de insectos del distrito de Incahuasi y mantenida en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias biológicas de la Universidad Pedro Ruiz Gallo, se reactivó en las placas de Petri y tubos de ensayo con Agar Sabouraud, para luego identificar las estructuras de *B. bassiana* empleando el método directo colocándolas sobre una lámina portaobjeto donde se le adicionó una gota de colorante de azul de algodón e inmediatamente se utilizó el método de la cinta engomada y se observó al microscopio a un aumento de 40x. Se pudo visualizar las características de las hifas, la formación de microconidias y presencia de fialides.



Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*:

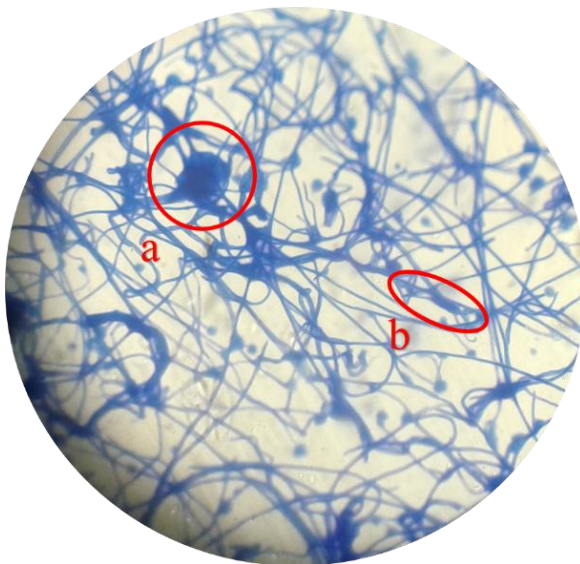
- **Morfología macroscópica:**

En medio Agar Sabouraud a 23°C, los aislamientos presentaron colonias de color blanco y durante su crecimiento fue tomando un color amarillento, por la parte posterior de la placa de Petri y tubo de ensayo, con aspecto algodonoso al comienzo de su crecimiento y posteriormente adquirió un aspecto pulverulento y con superficie semielevada o elevada. Éstas características corresponden con reportes de otros autores. (Castillo, y otros, 2014)

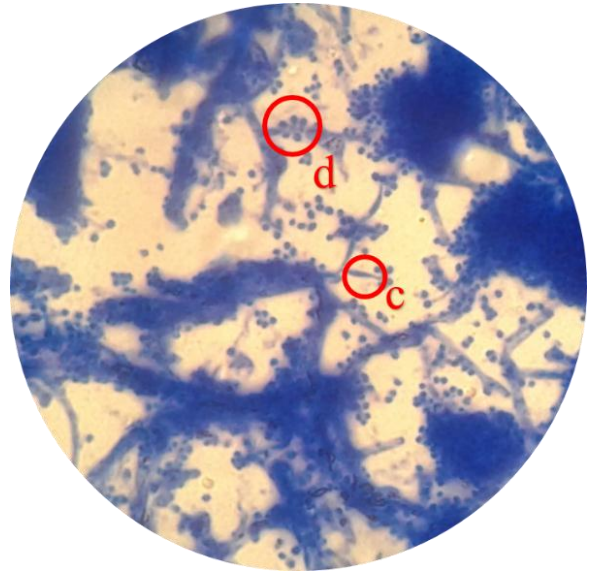


- **Morfología microscópica:**

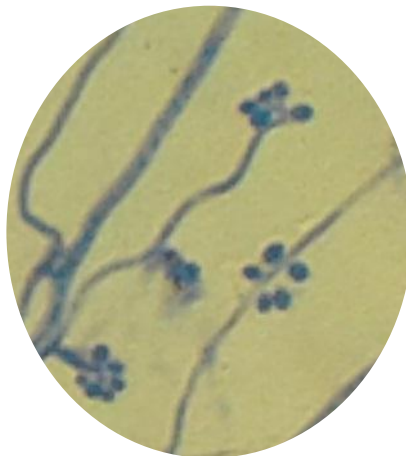
La observación al microscopio con un aumento de 40x del hongo se pudo apreciar las estructuras microscópicas que posee y son: micelio (hifas), conidiógeno (Fiálide), raquis en zig-zag, esporas y conidióforos.



a. Conidióforo b. Hifas



c. Fiálide d. Esporas en racimo



e. Raquis en zig – zag.

Anexo 5 Mecanismo de Acción

Mecanismo de Acción

El ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofítica. El desarrollo del hongo se puede dividir hasta en 8 etapas, mismas que se describen a continuación:

- 1. Adhesión:** el primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espora (conidio) es depositada en la superficie del insecto.
- 2. Germinación:** el conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador (llamado apresorio), que le permite fijarse a la superficie del insecto. Para una germinación adecuada se requiere una humedad relativa del 92% y temperatura de entre 23-25 °C.
- 3. Penetración:** después de la fijación mediante mecanismos físicos (acción de presión sobre la superficie de contacto) y químicos (acción de enzimas: proteasas, lipasas y quitinasas), el hongo ingresa al insecto a través de las partes blandas.
- 4. Producción de toxinas:** dentro del insecto, el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades del hospedante. Produce la toxina llamada Beauvericina que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos. Otras toxinas que secretan son beauvericin, beauverolides, bassianolide, isarolides, ácido oxálico y los pigmentos tenellina y bassianina que han mostrado actividad insecticida. El propósito de las toxinas es evitar el ataque a las estructuras invasivas del hongo.
- 5. Muerte del insecto:** muerte del patógeno y marca fin de la fase parasítica, dando así inicio a la fase saprofítica.
- 6. Multiplicación y crecimiento:** después de la muerte del insecto, el hongo multiplica sus unidades infectivas (hifas) y estas de manera simultánea crecen, terminando por invadir todos los tejidos del insecto y haciéndose resistentes a la descomposición, aparentemente por los antibióticos segregados por el hongo. Después de la completa invasión, el desarrollo posterior del hongo sobre el insecto depende de la humedad relativa, y en caso de no contar con las condiciones idóneas en el insecto, permanece con apariencia de momia.

- 7. Penetración del interior hacia el exterior:** solo si las condiciones ambientales lo permiten el hongo penetra las partes blandas del insecto y emerge hacia el exterior.
- 8. Producción de nuevas unidades reproductivas:** al contar con las condiciones para su desarrollo inicia la producción de nuevas unidades reproductivas o conidios.
- (Góngora, Marín & Benavides, 2009)



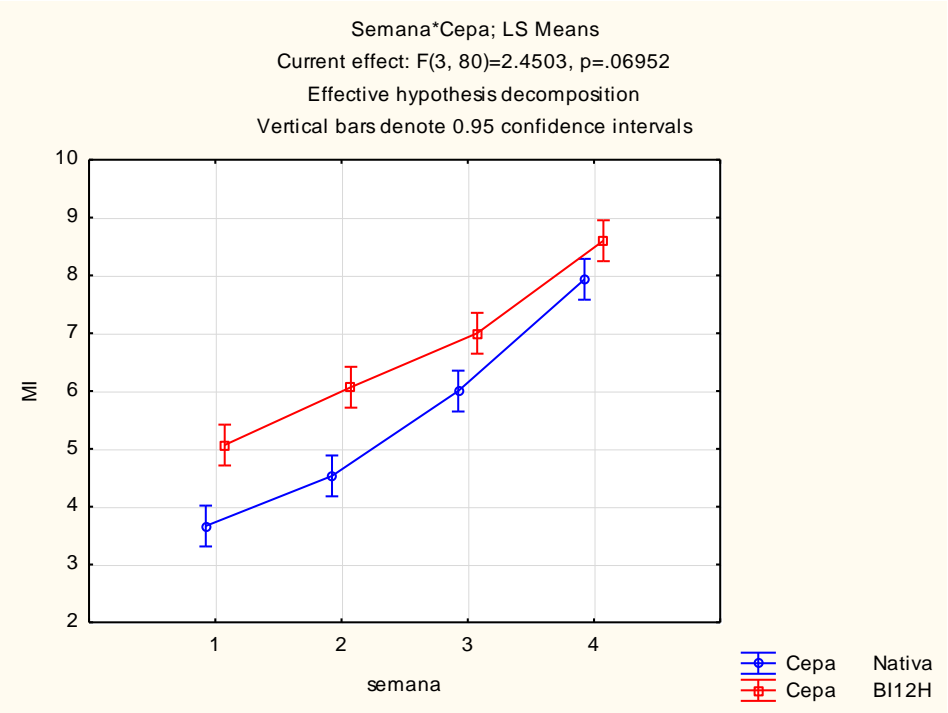
Anexo 6 Promedios de mortalidad de adultos *Cosmopolites sordidus* de la cepa Nativa *Beauveria bassiana*.

Semana	CEPA	Concentración	Muertos infectados	muertos sin infectar	Vivos	TOTAL
1	Nativa	3	2.7	3.3	4.0	10
1	Nativa	4	3.3	2.7	4.0	10
1	Nativa	5	3.7	4.3	2.0	10
1	Nativa	6	4.3	3.3	2.3	10
1	Nativa	7	4.3	4.3	1.3	10
2	Nativa	3	3.7	3.0	3.3	10
2	Nativa	4	4.0	3.3	2.7	10
2	Nativa	5	5.0	3.7	1.3	10
2	Nativa	6	4.7	3.7	1.7	10
2	Nativa	7	5.3	3.7	1.0	10
3	Nativa	3	5.0	2.7	2.3	10
3	Nativa	4	5.7	3.0	1.3	10
3	Nativa	5	5.7	3.7	0.7	10
3	Nativa	6	6.7	2.3	1.0	10
3	Nativa	7	7.0	3.0	0.0	10
4	Nativa	3	7.0	2.0	1.0	10
4	Nativa	4	8.3	1.7	0.0	10
4	Nativa	5	7.0	3.0	0.0	10
4	Nativa	6	8.3	1.7	0.0	10
4	Nativa	7	9.0	1.0	0.0	10

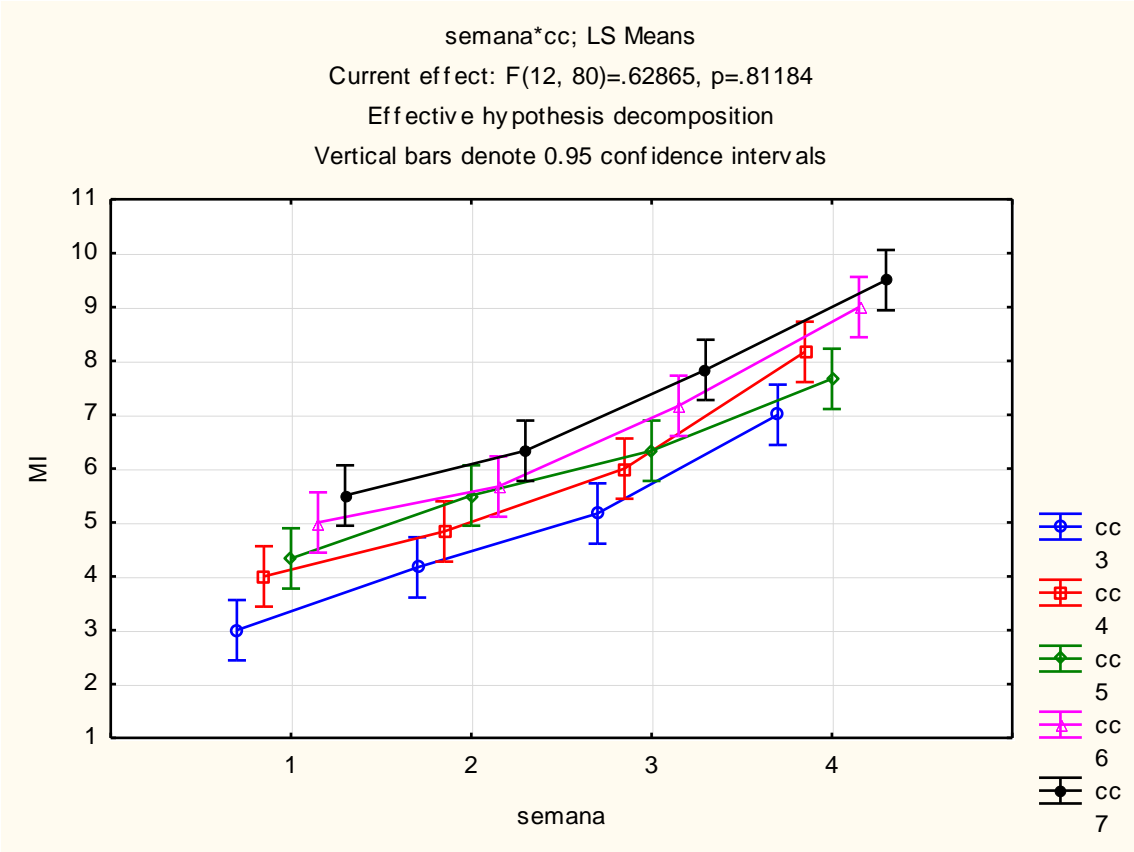
Anexo 7 Promedios de mortalidad de adultos *Cosmopolites sordidus* de la cepa (BI12H) *Beauveria bassiana*.

Semana	CEPA	Concentración	Muertos infectados	muertos sin infectar	vivos	TOTAL
1	12h UVC	3	3.3	3.3	3.3	10
1	12h UVC	4	4.7	2.0	3.3	10
1	12h UVC	5	5.0	3.3	1.7	10
1	12h UVC	6	5.7	3.0	1.3	10
1	12h UVC	7	6.7	2.0	1.3	10
2	12h UVC	3	4.7	3.3	2.0	10
2	12h UVC	4	5.7	2.3	2.0	10
2	12h UVC	5	6.0	3.3	0.7	10
2	12h UVC	6	6.7	3.0	0.3	10
2	12h UVC	7	7.3	2.7	0.0	10
3	12h UVC	3	5.3	4.7	0.0	10
3	12h UVC	4	6.3	3.3	0.3	10
3	12h UVC	5	7.0	3.0	0.0	10
3	12h UVC	6	7.7	2.3	0.0	10
3	12h UVC	7	8.7	1.3	0.0	10
4	12h UVC	3	7.0	3.0	0.0	10
4	12h UVC	4	8.0	2.0	0.0	10
4	12h UVC	5	8.3	1.7	0.0	10
4	12h UVC	6	9.7	0.3	0.0	10
4	12h UVC	7	10.0	0.0	0.0	10

Anexo 8 Interacción entre Semana y cepa para la plaga *Cosmopolites Sordidus*



Anexo 9 Interacción entre semana y concentración para la plaga *Cosmopolites Sordidus*



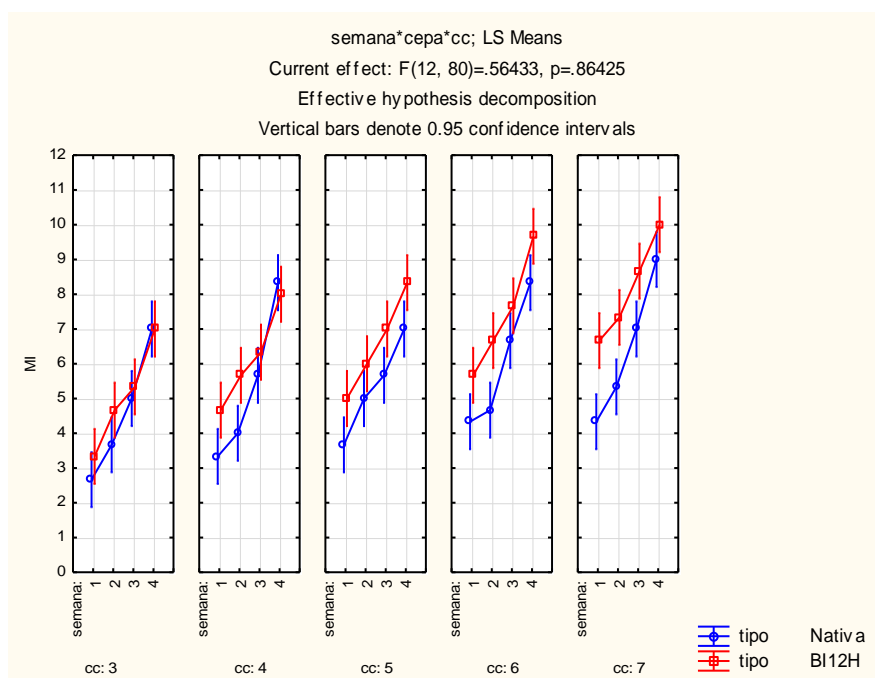
Anexo 10 Promedios de mortalidad de larvas del III estadio de *S. frugiperda* de la cepa Nativa *Beauveria bassiana*.

Días	Tipo	Concentración	Muertos Infectados	Muertos sin infectar	Vivos	Total
3	Nativa	3	2.7	2.3	5.0	10
3	Nativa	4	3.3	2.0	4.7	10
3	Nativa	5	4.0	3.3	2.7	10
3	Nativa	6	5.0	2.7	2.3	10
3	Nativa	7	5.7	2.3	2.0	10
6	Nativa	3	3.7	2.7	3.7	10
6	Nativa	4	3.7	2.7	3.7	10
6	Nativa	5	5.3	2.3	2.3	10
6	Nativa	6	6.3	2.0	1.7	10
6	Nativa	7	6.7	1.7	1.7	10
9	Nativa	3	4.7	2.0	3.3	10
9	Nativa	4	5.3	2.0	2.7	10
9	Nativa	5	6.7	1.7	1.7	10
9	Nativa	6	7.7	1.3	1.0	10
9	Nativa	7	7.7	2.0	0.3	10
12	Nativa	3	5.7	2.0	2.3	10
12	Nativa	4	6.7	1.7	1.7	10
12	Nativa	5	7.3	2.0	0.7	10
12	Nativa	6	8.0	1.7	0.3	10
12	Nativa	7	9.0	1.0	0.0	10

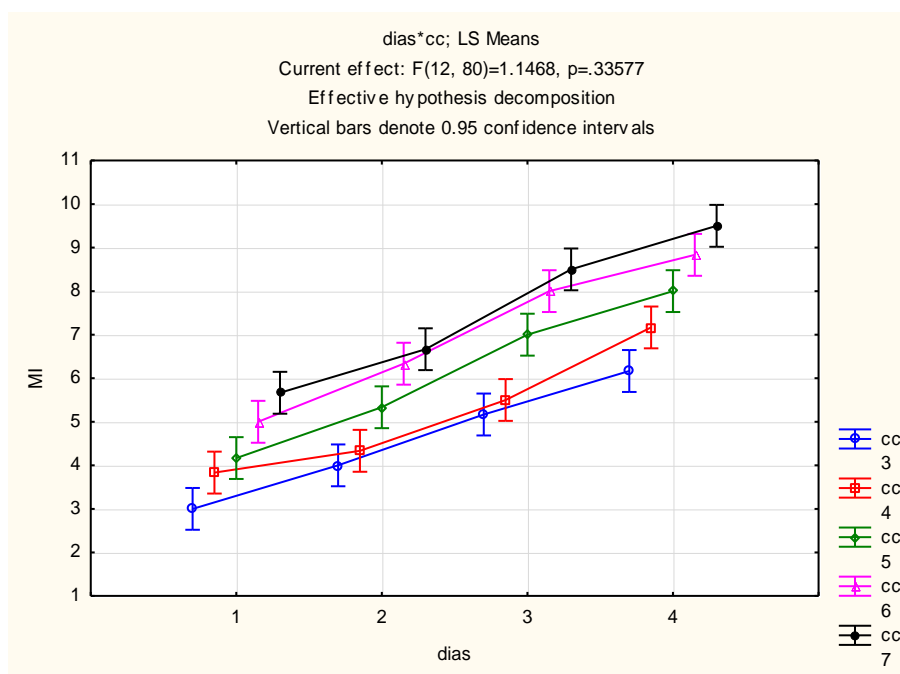
Anexo 11 Promedios de mortalidad de larvas del III estadio de *S. frugiperda* de la cepa (BI12H) *Beauveria bassiana*.

Días	Tipo	Concentración	Muertos Infectados	Muertos sin infectar	Vivos	Total
3	12hUVC	3	3.3	4.0	2.7	10
3	12hUVC	4	4.3	3.0	2.7	10
3	12hUVC	5	4.3	4.3	1.3	10
3	12hUVC	6	5.0	3.3	1.7	10
3	12hUVC	7	5.7	2.7	1.7	10
6	12hUVC	3	4.3	4.0	1.7	10
6	12hUVC	4	5.0	3.0	2.0	10
6	12hUVC	5	5.3	4.0	0.7	10
6	12hUVC	6	6.3	3.7	0.0	10
6	12hUVC	7	6.7	3.3	0.0	10
9	12hUVC	3	5.7	3.3	1.0	10
9	12hUVC	4	5.7	4.0	0.3	10
9	12hUVC	5	7.3	2.7	0.0	10
9	12hUVC	6	8.3	1.7	0.0	10
9	12hUVC	7	9.3	0.7	0.0	10
12	12hUVC	3	6.7	3.3	0.0	10
12	12hUVC	4	7.7	2.3	0.0	10
12	12hUVC	5	8.7	1.3	0.0	10
12	12hUVC	6	9.7	0.3	0.0	10
12	12hUVC	7	10.0	0.0	0.0	10

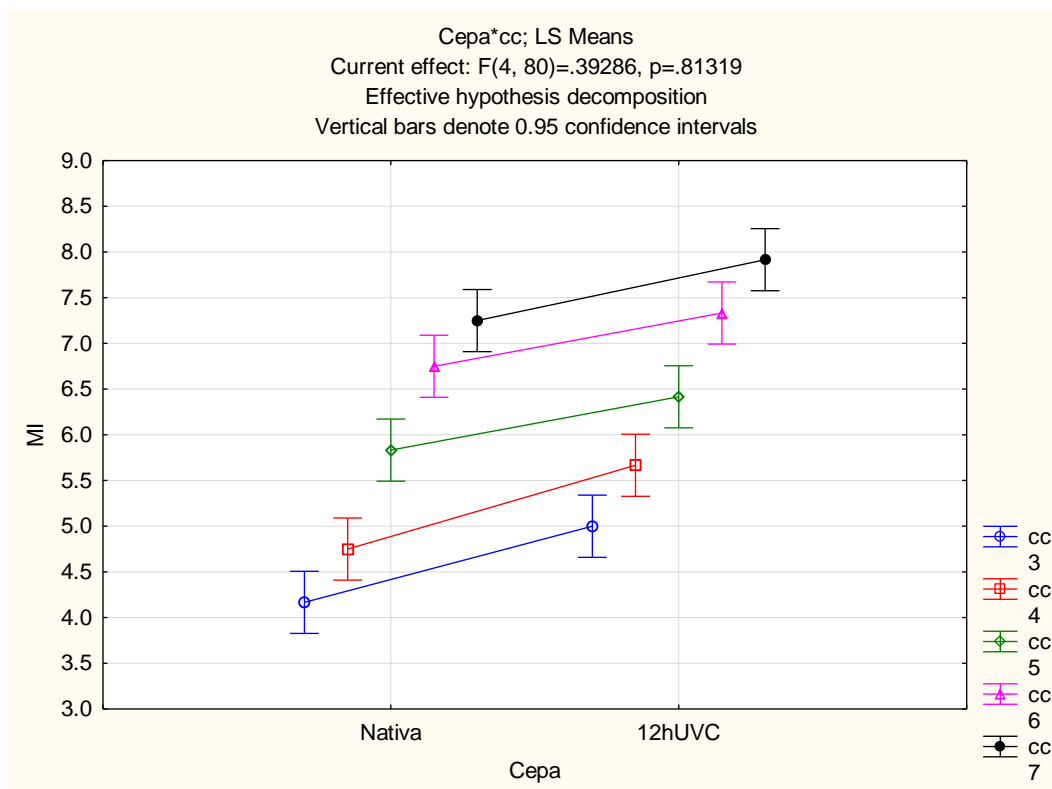
Anexo 12 Interacción entre semana, cepa y concentración para la plaga *Spodoptera frugiperda*



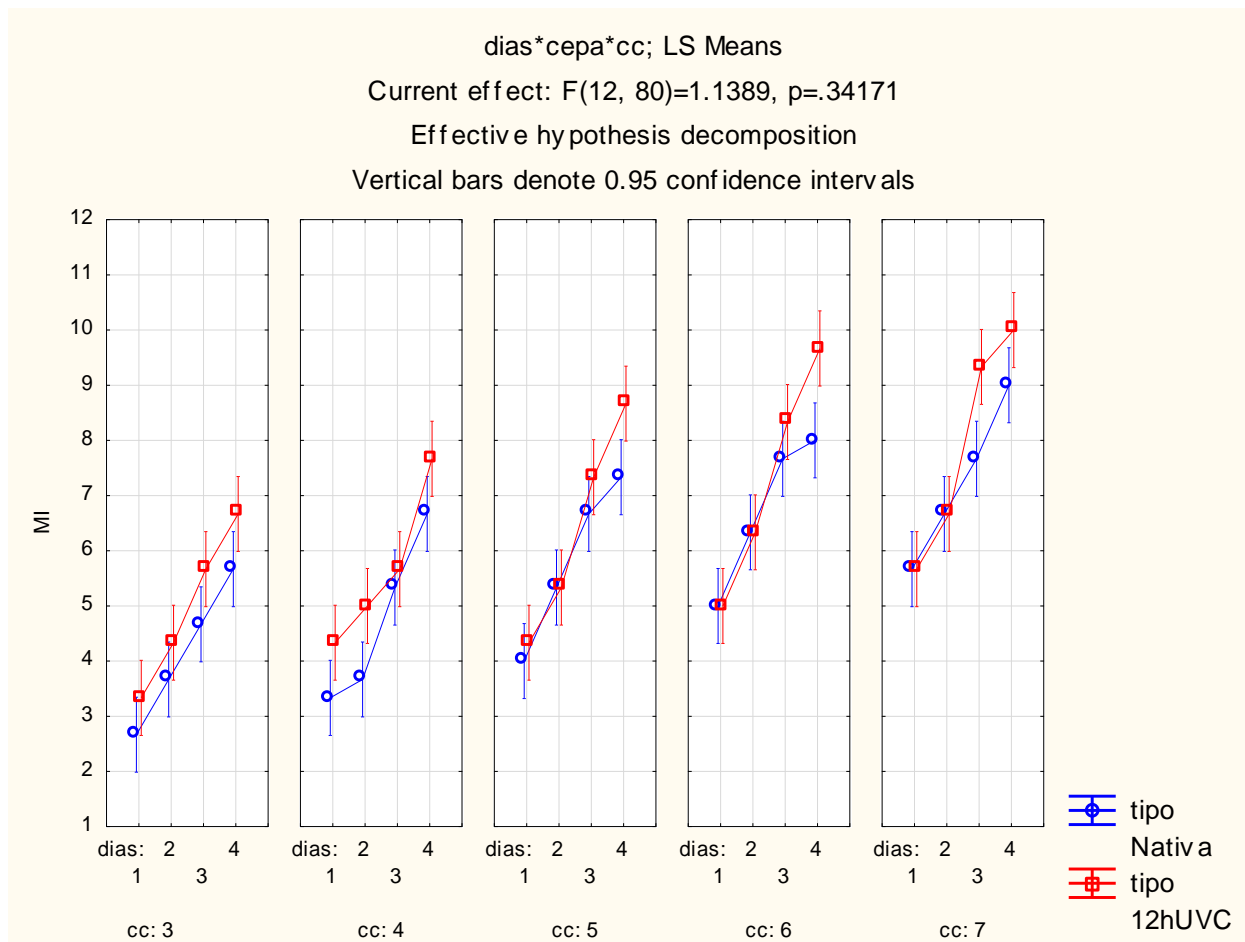
Anexo 13 Interacción entre días y concentración para la plaga *Spodoptera frugiperda*.



Anexo 14 Interacción entre cepas y concentraciones para la plaga *Spodoptera frugiperda*



Anexo 15 Interacción entre días, cepa y concentración para la plaga *Spodoptera frugiperda*.



Anexo 16





Anexo 17

