



UNIVERSIDAD NACIONAL

TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA AGRÓNOMA**

**PATOGENICIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS
SOBRE PICUDO DE LA CAÑA (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE), BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO, CHACHAPOYAS- AMAZONAS**

AUTORA: Bach. Elizabeth Requejo Sánchez

ASESOR: Mg. Santos Triunfo Leiva Espinoza

CO – ASESOR: Ing. Alcides Roman Peña

CHACHAPOYAS - PERÚ

2019

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por darme la vida y permitirme lograr cada una de mis metas, agradecer a sí mismo a todas las personas que forman parte de mi vida diaria en especial a mis padres, Liborio Requejo Linares y Fraxila Sánchez Pérez quienes me inspiran con su esfuerzo, trabajo, ejemplo y dedicación a ser una mejor persona cada día.

A mis hermanas por su apoyo incondicional, sus consejos y cada uno de los valores que inculcaron en mi persona, así mismo agradecer a los docentes que entregan sus conocimientos día a día en las aulas.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza siendo gestora de nuestra superación, en especial a la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma por brindarme conocimientos adquiridos durante mi formación profesional.

Al laboratorio de investigación en sanidad vegetal (LABISAV) por apoyarme con materiales para la ejecución de la presente investigación.

A mi asesor Ing. Santos Triunfo Leiva Espinoza y a mi co-asesor Ing. Alcides Roman Peña por su paciencia y orientación durante el desarrollo de la presente investigación.

A mis padres por sus sacrificios hechos para poder estudiar en esta universidad; hermanas, amigos a todas las personas que han formado parte de mi vida profesional quiero darles las gracias por su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO
RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. Policarpio Chauca Valqui

RECTOR

Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón

VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. Flor Teresa García Huamán

VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Ing.Mg. Sc. Erick Aldo Auquiñivin Silva

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la tesis titulada: **Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre el picudo de la caña (Coleoptera: Curculionidae), bajo condiciones de laboratorio, Chachapoyas- Amazonas**, de la tesista egresada de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma.

❖ Bach. Elizabeth Requejo Sánchez

El suscrito da el visto bueno de la mencionada tesis dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado evaluador comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones que formulen para su posterior sustentación.

Chachapoyas, 03 de junio del 2019.



Mg. Santos Triunfo Leiva Espinoza

ASESOR


VISTO BUENO DEL CO - ASESOR DE TESIS

Ingeniero Alcides Roman Peña Co-Investigador del Instituto de Investigación para Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), que suscribe, hace constar que ha asesorado la tesis titulada: **Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre el picudo de la caña (Coleoptera: Curculionidae), bajo condiciones de laboratorio, Chachapoyas- Amazonas**, de la tesista egresada de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma.

❖ Bach. Elizabeth Requejo Sánchez

El suscrito da el visto bueno de la mencionada tesis dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado evaluador comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones que formulen para su posterior sustentación.

Chachapoyas, 03 de junio del 2019.



Ing. Alcides Roman Peña.

CO - ASESOR

JURADO EVALUADOR



Ing. Mg. Sc. Walter Daniel Sánchez Aguilar

PRESIDENTE



Ph. D. Ligia Magali García Rosero

SECRETARIO



D. Sc. Juan Carlos Guerrero Abad

VOCAL

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Bach. Elizabeth Requejo Sánchez, identificado con DNI N° 75901598, egresada de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:

1. Soy autora de la tesis titulada: “Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre el picudo de la caña (Coleoptera: Curculionidae), bajo condiciones de laboratorio, Chachapoyas- Amazonas”; que presento para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agrónoma.
2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La tesis no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Título Profesional, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que la Tesis para obtener el Título Profesional haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 03 de junio del 2019.

.....
Elizabeth Requejo Sánchez

DNI N° 75901598



ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 10 de Julio del año 2019, siendo las 20:00 horas, el aspirante Bach: Elizabeth Requijo Sánchez defiende en sesión pública la Tesis titulada: Patogenicidad de hongos entomopatógenos sobre picudo de la caña (Coleoptera: curculionidae), Bajo Condiciones de Laboratorio, Chachapoyas - Amazonas

para obtener el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente : Ing. M.Sc. Walter Daniel Sánchez Aguilar
 Secretario : Ph.D. Ligia Magali García Rostro
 Vocal : D.Sc. Juan Carlos Guerrero AARD

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 21:29 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

[Signature]
SECRETARIO

[Signature]
VOCAL

[Signature]
PRESIDENTE

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	iii
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS	iv
VISTO BUENO DEL CO - ASESOR DE TESIS	v
JURADO EVALUADOR.....	vi
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO	vii
ÍNDICE GENERAL	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	3
2.1. Equipos, insumos y materiales de laboratorio	3
2.1.1. Equipos.....	3
2.1.2. Materiales	3
2.1.3. Material Biológico	4
2.1.4. Insumos	4
2.2. Lugar de ejecución.....	5
2.3. Diseño de la investigación	6
2.4. Población, muestra y muestreo	6

2.4.1. Población.....	6
2.4.2. Muestra.....	6
2.4.3. Muestreo.....	6
2.5. Técnicas de recolección de datos.....	7
2.6. Instrumentos de recolección de datos.....	7
2.7. Procedimiento.....	7
2.7.1. Fase de campo.....	7
a) Recolección de los adultos de <i>Metamasius sp</i>	7
2.7.2. Fase de Laboratorio.....	8
a) Características del experimento.....	8
b) Descripción de los tratamientos.....	8
c) Tratamiento control (testigo absoluto).....	9
d) Croquis de la distribución de los tratamientos.....	10
e) Desinfección de adultos vivos de picudo rayado de la caña.....	11
f) Lavado con agua destilada estéril.....	11
g) Preparación del medio de cultivo (PDA).....	12
h) Reactivación de hongos entomopatógenos.....	13
i) Preparado del sustrato de arroz para inoculación de hongos entomopatógenos.....	14
j) Preparación de la suspensión de conidios.....	16
k) Aplicación de hongos entomopatógenos comerciales y nativos.....	18
l) Mortalidad de los adultos de picudo rayado de la caña de azúcar.....	20
m) Eficacia de hongos entomopatógenos sobre adultos del picudo rayado de la caña de azúcar.....	20

n) Grado de micosis de hongos entomopatógenos sobre adultos de picudo rayado de la caña de azúcar	21
2.5. Análisis de datos	22
III. RESULTADOS	23
3.1. Porcentaje de mortalidad	23
3.2. Nivel de eficacia de los hongos entomopatógenos	25
3.3. Porcentaje de micosis	28
IV. DISCUSIÓN	31
V. CONCLUSIONES	35
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
VII. ANEXOS.....	39
Anexo N° 01: Tablas de resultados	39
Anexo N° 02: Ficha de evaluación	46
Anexo N° 03: Panel fotográfico.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Características generales del experimento.	8
Tabla N° 02: Tratamientos en evaluación de hongos entomopatógenos.	9
Tabla N° 03: Procedencia de hongos entomopatógenos.....	13
Tabla N° 04: Análisis de varianza sobre el promedio, respecto al porcentaje de mortalidad y eficacia en función a hongos entomopatógenos, dosis e interacción.	39
Tabla N° 05: Análisis de varianza sobre el promedio, respecto al porcentaje de micosis en función a hongos entomopatógenos, dosis e interacción.	39
Tabla N° 06: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia.	40
Tabla N° 07: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis.	41
Tabla N° 08: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia (experimento 01).....	42
Tabla N° 09: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis (experimento 01).....	43
Tabla N° 10: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia (experimento 02).....	44
Tabla N° 11: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis (experimento 02).....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01: Mapa de ubicación del Laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal (LABISANV) – UNTRM.	5
Figura N° 02: Mapa de ubicación del Distrito de Santa Rosa Provincia de Rodríguez de Mendoza.....	8
Figura N° 03: Croquis de la distribución de los tratamientos en laboratorio.	10
Figura N° 04: Desinfección de los adultos del picudo rayado de la caña.	11
Figura N° 05: Lavado con agua destilada estéril a los adultos de picudo rayado de la caña.	12
Figura N° 06: Reactivación de los hongos entomopatógenos en (PDA).	14
Figura N° 07: Inoculación de hongos entomopatógenos en cámara de flujo de aire laminar.	15
Figura N° 08: Incubación de hongos entomopatógenos en sustrato de arroz pre cocido.	15
Figura N° 09: Preparación de la suspensión de conidios para cada hongo entomopatógeno.....	17
Figura N° 10: Condicionando la cámara de Neubauer con suspensión de conidios.	17
Figura N° 11: Cámara de Neubauer vista al microscopio (40X).....	18
Figura N° 12: Inoculación de <i>Metamasius sp</i> sobre <i>Beauveria bassiana</i>	19
Figura N° 13: Inoculación de <i>Metamasius sp</i> sobre <i>Metarhizium anisopliae</i>	19
Figura N° 14: Clasificación del grado de micosis de <i>Metarhizium anisopliae</i>	21
Figura N° 15: Clasificación del grado de micosis de <i>Beauveria bassiana</i>	22
Figura N° 16: Porcentaje de mortalidad alcanzado por hongos entomopatógenos.	23
Figura N° 17: Dosis utilizadas en porcentaje de mortalidad.	24
Figura N° 18: Porcentaje de mortalidad alcanzado por cada uno de los tratamientos. .	25
Figura N° 19: Porcentaje de eficacia alcanzado por hongos entomopatógenos.....	26

Figura N° 20: Dosis utilizadas en porcentaje de eficacia.	26
Figura N° 21: Porcentaje de eficacia alcanzado por cada uno de los tratamientos.	27
Figura N° 22: Porcentaje de micosis alcanzado por hongos entomopatógenos.	28
Figura N° 23. Dosis utilizadas en el porcentaje de micosis.....	29
Figura N° 24: Porcentaje de micosis alcanzado por cada tratamiento.	30

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la patogenicidad de dos cepas nativas y dos cepas comerciales de hongos entomopatógenos sobre adultos de picudo rayado de la caña de azúcar (*Metamasius sp*), bajo condiciones de laboratorio, los hongos entomopatógenos con los que se trabajó fueron *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria sp* y *Metarhizium sp*. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de mortalidad, nivel de eficacia y grado de micosis sobre adultos de *Metamasius sp*, el diseño utilizado fue completamente al azar (DCA) con arreglo factorial con 9 tratamientos (8 tratamientos más 1 testigo) y 4 repeticiones por tratamientos, cada tratamiento estuvo conformado por 10 insectos adultos de *Metamasius sp*, haciendo un total de 36 unidades experimentales, en lo que se utilizó un total de 720 adultos de *Metamasius sp*, este proceso experimental se realizó en 2 etapas, los resultados obtenidos se evaluaron con la prueba de (Tukey= 0.05%). Con respecto al porcentaje de mortalidad y eficacia el T7 a una concentración de 1×10^{10} conidios / mL alcanzó mayores porcentajes de mortalidad y eficacia con un promedio de 60.91%, por otra parte, el T2 fue quien obtuvo un menor porcentaje de mortalidad con un 29.71% a una concentración de 1×10^9 conidios / mL. Referente al porcentaje de micosis el T1 evidenció un 79.45%, seguidamente el T3 con un 78.74%; por lo tanto, estos dos tratamientos fueron los que alcanzaron los mejores signos de micosis a una concentración de 1×10^{10} conidios / mL. Y el T6 obtuvo un menor signo de micosis con un 48.28%, a una concentración de 1×10^9 conidios / mL.

Palabras clave: Patogenicidad, *Metamasius sp*, caña de azúcar, hongos entomopatógenos.

ABSTRACT

The objective of the investigation was to evaluate the pathogenicity of two native strains and two commercial strains of entomopathogenic fungi on adult weevils of sugarcane (*Metamasius sp*), under laboratory conditions, the entomopathogenic fungi with which they were worked. *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria sp* and *Metarhizium sp*. The evaluated variables were: percentage of mortality, level of efficacy and degree of mycosis on adults of *Metamasius sp*, the design used was completely randomized (DCA) with factorial arrangement with 9 treatments (8 treatments plus 1 control) and 4 repetitions by treatments, each treatment consisted of 10 adult insects of *Metamasius sp*, making a total of 36 experimental units, in which a total of 720 adults of *Metamasius sp* were used, making a total of 36 experimental units, in which a total of 720 adults of *Metamasius sp* was used, this experimental process was carried out in 2 stages, the results obtained were evaluated with the test of (Tukey = 0.05%). With respect to the percentage of mortality and efficacy, T7 at a concentration of 1×10^{10} conidia / mL reached higher mortality and efficacy percentages with an average of 60.91%, on the other hand, T2 obtained the lowest percentage of mortality with 29.71% at a concentration of 1×10^9 conidia / mL. Regarding the percentage of mycosis, T1 showed 79.45%, followed by T3 with 78.74%; therefore, these two treatments were those that achieved the best signs of mycosis at a concentration of 1×10^{10} conidia / mL. And the T6 obtained a lower sign of mycosis with 48.28%, at a concentration of 1×10^9 conidia / mL.

Key words: Pathogenicity, *Metamasius sp*, sugar cane, entomopathogenic fungi.

I. INTRODUCCIÓN

De las superficies agrícolas dedicadas a los cultivos industriales como parte del consumo humano directo, mencionamos a la caña de azúcar que representa el 3.4% de la producción nacional con 141.3 miles de hectáreas INEI (2012), este cultivo está siendo afectado por diversas plagas y enfermedades dentro de los cuales se encuentra el picudo rayado de la caña (*Metamasius sp*) que en zonas de sierra y ceja de selva origina daños considerables a los tallos; las pérdidas que genera está considerado como un plaga clave y de importancia económica en las zonas productoras de caña de azúcar de la Región Amazonas (Alpizar *et al.*, 2012), lo que ocasiona pérdidas de hasta 15% de la caña cosechable y 30% de la sacarosa extraíble, en las campañas conducidas ha demostrado su efectividad, su factibilidad y la economía del sistema. Las intensidades de infestación han sido reducidas a menos de 2% y la extracción expresada en libras de azúcar por tonelada de caña ha oscilado entre 17.11% y 34.55% en áreas donde la plaga ha sido controlada (Salazar y Chavez, 2013).

En la actualidad el cultivo de la caña pasa por una crisis que tiene al borde de la quiebra a las comunidades campesinas dedicadas a la industria de la panela, pues no tienen los recursos económicos para realizar tecnificación de sus cultivos, además actualmente se encuentran cultivares demasiado longevas que por el pasar de los años han perdido su capacidad de alta producción, lo cual hace cada día más ineficientes en la producción del cultivo de la caña para la posterior transformación de los jugos extraídos de la planta para la producción de la panela.

En la región Amazonas se cultiva la caña de azúcar siendo procesado para la producción de panela, aguardiente y bebidas de consumo en fresco como guarapo (jugo fermentado). Estos productos tienen un segmento de mercado dada su importancia local lo descrito anteriormente nos conlleva a buscar nuevas propuestas de control, incluyendo las existentes dentro del control biológico a partir del uso de hongos entomopatógenos.

Los adultos del picudo son atraídos a las socas después del corte de la caña, efectuando sus posturas y permitiendo el ingreso de agentes de pudrición y fermentación de la caña. Las larvas además de alimentarse de los tejidos destruidos o dañados, invaden las partes sanas, permaneciendo en el tallo hasta completar su periodo larval. Los síntomas son amarillamiento, acumulación de aserrín en los orificios de las galerías, que son normalmente mayores que los de *Diatraea* (Mora *et al.*, 2004).

Las larvas al consumir tejido vegetal, hacen perder jugo y el porcentaje de fibra aumenta, los tallos afectados, presentan sus entrenudos convertidos en una masa putrefacta de bagazo fermentado y maloliente. El resto de la planta, al ser privada de su corriente de savia se seca y muere; al momento de la cosecha, previa quema, los tallos quedan reducidos a carbón y son imposibles de cosechar y transportar a la fábrica (Risco, 1967).

Es por ello que el presente trabajo de investigación tiene como objetivo general: evaluar la patogenicidad de dos cepas nativas y dos cepas comerciales de hongos entomopatógenos sobre el picudo rayado de la caña (*Metamasius sp*), bajo condiciones de laboratorio. Como una alternativa de represión a partir de los enemigos naturales de tan importante problema; lo cual contribuirá en un inicio a la búsqueda de soluciones para combatir este problema en campo definitivo y teniendo como objetivos específicos: determinar el nivel de mortalidad causado por dos dosis de cepas nativas *Beauveria sp*, *Metarhizium sp* y cepas comerciales *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, sobre adultos de picudo rayado de la caña (Coleoptera: Curculionidae), determinar el nivel de micosis causado por dos dosis de cepas nativas *Beauveria sp*, *Metarhizium sp* y cepas comerciales *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, sobre adultos de picudo rayado de la caña (Coleoptera: Curculionidae) y comparar la eficacia de los hongos entomopatógenos en estudio, sobre la mortalidad de adultos de picudo rayado de la caña (Coleoptera: Curculionidae).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Equipos, insumos y materiales de laboratorio

2.1.1. Equipos

- ✓ Incubadoras
- ✓ Estufas
- ✓ Autoclaves
- ✓ Agitador vórtex
- ✓ Cámara de flujo laminar
- ✓ Cámara de Neubauer
- ✓ Microscopio
- ✓ Cocinas eléctricas
- ✓ Balanza gramera
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Termo higrómetro

2.1.2. Materiales

- ✓ Placas Petri
- ✓ Vasos Baker de 50 ml
- ✓ Pizeta
- ✓ Espátula
- ✓ Asa de siembra en aro
- ✓ Lámina Porta objeto
- ✓ Lámina Cubre objeto
- ✓ Cinta adhesiva
- ✓ Papel toalla
- ✓ Matraz Erlenmeyer de 500 ml.
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradillas
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Guantes

- ✓ Mascarillas
- ✓ Algodón
- ✓ Plumón indeleble azul
- ✓ Saca bocado de 5 mm
- ✓ Bisturí
- ✓ Probeta de 1000 ml de vidrio
- ✓ Probeta de 25 ml de plástico
- ✓ Mechero
- ✓ Bandejas de plástico
- ✓ Recipientes de plástico

2.1.3. Material Biológico

- ✓ Cepas nativas de *Beauveria sp.*
- ✓ Cepa nativa de *Metarhizium sp.*
- ✓ Cepa comercial de *Beauveria bassiana.*
- ✓ Cepa comercial de *Metarhizium anisopliae.*
- ✓ Adultos de *Metamasius sp.*

2.1.4. Insumos

- ✓ Lejía al 0.5%
- ✓ Alcohol al 96%
- ✓ Agua destilada
- ✓ Agua destilada estéril
- ✓ Agar papa dextrosa
- ✓ Tween
- ✓ Arroz

2.2. Lugar de ejecución

El proceso de la evaluación del potencial de biocontrol de cepas nativas *Beauveria sp*, *Metarhizium sp* y cepas comerciales de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* sobre el picudo rayado de la caña de azúcar (*Metamasius sp*), se llevó a cabo durante los meses de diciembre del 2018 a mayo del 2019, en los ambientes del área de entomología del Laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal (LABISAV) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas - Ciudad Universitaria Chachapoyas.

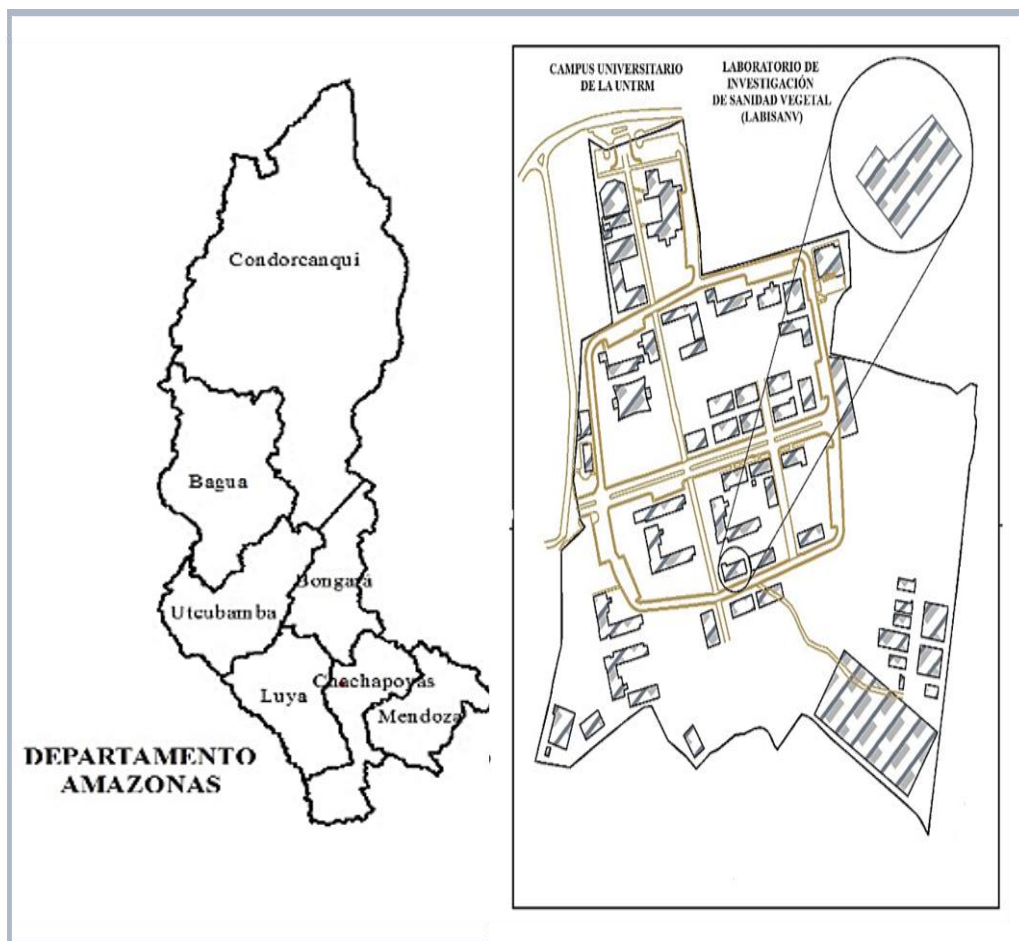


Figura N° 01: Mapa de ubicación del Laboratorio de Investigación en Sanidad Vegetal (LABISAV) – UNTRM.

Fuente (Ramirez , 2018).

2.3. Diseño de la investigación

Se trabajó con un diseño completamente al azar (DCA), con un arreglo factorial de 2a x 4b, instalándose 9 tratamientos (8 vinculados a la confrontación de los hongos nativos (*Beauveria sp*, *Metarhizium sp*) y hongos comerciales de (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* con *Metamasius sp*) más 1 tratamiento testigo absoluto) con 4 repeticiones cada uno, estuvieron conformados por 10 adultos de picudo rayado de la caña haciendo un total de 36 unidades experimentales (cada unidad experimental fue representado por 01 recipiente de plástico que representó además a cada tratamiento en evaluación).

2.4. Población, muestra y muestreo

2.4.1. Población

La población a estudiar estuvo conformada por todos los individuos adultos de picudo rayado de la caña de azúcar (720 individuos en total) colectados de los cultivos de caña de azúcar del Distrito de Santa Rosa de la Provincia de Rodríguez de Mendoza.

2.4.2. Muestra

La muestra representó el total de la población (720 adultos) picudo rayado de la caña de azúcar, dividido en 2 etapas experimentales, en la que cada etapa experimental estuvo conformada por 360 individuos.

2.4.3. Muestreo

El tipo de muestreo que se utilizó en la presente investigación es de tipo probabilístico.

2.5. Técnicas de recolección de datos

La técnica que se utilizó en esta investigación para la recolección de datos en campo fue la observación directa de los insectos encontrados sobre las hojas, dentro del tallo y al pie de la planta.

2.6. Instrumentos de recolección de datos

Los datos obtenidos fueron escritos en fichas de evaluación.

2.7. Procedimiento

2.7.1. Fase de campo

a) Recolección de los adultos de *Metamasius sp*

La captura de los adultos de picudo rayado de la caña de azúcar se realizó en plantaciones de caña de azúcar del Distrito de Santa Rosa de la provincia de Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas, esta zona es representativa en la producción de caña para la elaboración de panela granulada, en la región, los adultos del picudo rayado de caña fueron recolectados manualmente a partir de la observación directa encontrados sobre las hojas, tallos (dentro y fuera de éste), los individuos adultos recolectados fueron depositados en contenedores de plástico de 1 kg. de capacidad, previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 0.5% y que adicionalmente contenía trozos de caña de azúcar que sirvió como alimento, siguiendo la metodología de (Rivera y Pinto, 1999) y como indicó (Ortíz *et al.*, 1997). Las muestras contenidas en los recipientes plásticos fueron transportadas al laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNTRM, para su posterior tratamiento e inicio de la fase experimental.

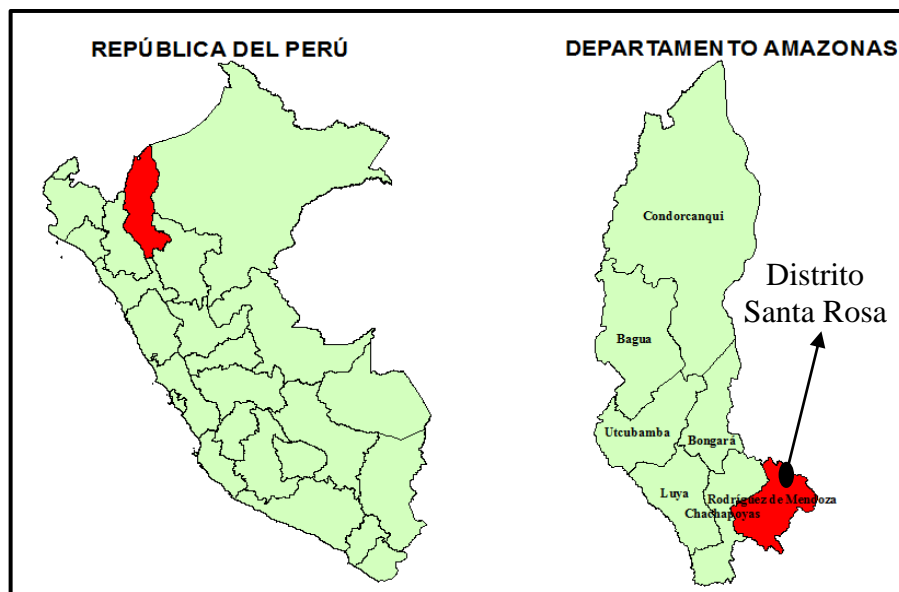


Figura N° 02: Mapa de ubicación del Distrito de Santa Rosa Provincia de Rodríguez de Mendoza.

2.7.2. Fase de Laboratorio

a) Características del experimento

Tabla N° 01: Características generales del experimento.

Diseño completamente al azar con arreglo factorial	
Repeticiones	4
Tratamientos	9
N° de unidades experimentales	36
Recipiente de plástico	1 kg.

b) Descripción de los tratamientos

Los tratamientos en evaluación fueron un total de 9 de los cuales 8 fueron producto de la interacción de los hongos entomopatógenos sobre adultos de *Metamasius sp* más un adicional que correspondió al testigo absoluto.

Los tratamientos se identificaron con las siguientes abreviaturas:

C= Número de cepas

D₁ = Dosis 1x10¹⁰ conidios /mL

D₂ = Dosis 1x10⁹ conidios/mL

Tabla N° 02: Tratamientos en evaluación de hongos entomopatógenos.

Tratamientos	Descripción	Códigos
T1	<i>Beauveria sp</i> N vs. <i>M. sp.</i>	C ₁ D ₁
T2	<i>Beauveria sp</i> N vs. <i>M. sp</i>	C ₁ D ₂
T3	<i>B. bassiana.C</i> vs <i>M. sp</i>	C ₂ D ₁
T4	<i>B. bassiana.C</i> vs <i>M. sp</i>	C ₂ D ₂
T5	<i>Metarhizium sp</i> .N vs <i>M. sp</i>	C ₃ D ₁
T6	<i>Metarhizium sp</i> .N vs <i>M. sp</i>	C ₃ D ₂
T7	<i>M. anisopliae</i> .C. vs <i>M. sp</i>	C ₄ D ₁
T8	<i>M. anisopliae</i> .C. vs <i>M. sp</i>	C ₄ D ₂
T9	Testigo absoluto (<i>Metamasius sp.</i>).	T ₀

c) Tratamiento control (testigo absoluto)

En cuanto al testigo absoluto no se le aplicó ningún tipo de confrontación y estuvo distribuido en las 4 repeticiones. Este sirvió para determinar si existe algún efecto o cambios entre los tratamientos y cuál de ellos es el mejor.

d) Croquis de la distribución de los tratamientos

OBSERVACIONES	O I	T1	T6	T8	T4	T3	T7	T2	T5	T9
	O II	T8	T5	T7	T1	T2	T9	T4	T3	T6
	O III	T2	T9	T6	T5	T8	T3	T1	T7	T4
	O IV	T4	T8	T1	T7	T9	T5	T2	T6	T3

Figura N° 03: Croquis de la distribución de los tratamientos en laboratorio.

e) Desinfección de adultos vivos de picudo rayado de la caña

En un área de trabajo limpio y libre de agentes contaminantes se realizó la desinfección de los insectos, sumergiéndolos en un recipiente de plástico con hipoclorito de sodio al 0.5% de concentración, por un tiempo de 3 minutos. Afín de facilitar la manipulación de los insectos se hizo uso de una malla fina previamente esterilizada para evitar el escape de los insectos (Suárez, 2009).



Figura N° 04: Desinfección de los adultos del picudo rayado de la caña.

f) Lavado con agua destilada estéril

Los adultos del picudo rayado de la caña fueron lavados tres veces con agua destilada estéril para obtener un buen resultado, para ello se colocó agua destilada estéril en tres recipientes de plástico y se realizó el lavado de los insectos para eliminar los residuos de cloro, para facilitar la manipulación fueron colocados los insectos en una malla fina para evitar la pérdida de estos durante el lavado (Mafla *et al.*, 2004).



Figura N° 05: Lavado con agua destilada estéril a los adultos de picudo rayado de la caña.

g) Preparación del medio de cultivo (PDA)

Siguiendo la metodología de Párraga y Zambrano (2012), en una probeta se depositó 1 litro de agua destilada luego se vertió a un vaso precipitado, pesando 39 gramos de medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA) en una balanza analítica. Seguidamente se usó la cocina eléctrica para disolver los gránulos del medio de cultivo con una espátula. Una vez disuelta se depositó 350 mL de PDA en 1 matraz Erlenmeyer, se pasó a tapar con un papel aluminio luego fue llevado a esterilizar en la autoclave a 15 PSI, por 15 minutos a 121 °C, pasado ese tiempo se dejó enfriar a 48 °C. Posteriormente se pasó las placas petri a la cámara de flujo laminar para su esterilización con rayos ultravioleta por un tiempo de 30 minutos los rayos ultravioletas fueron apagados, se hizo llegar el matraz Erlenmeyer con 350 mL de medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA), se pasó el medio de cultivo a las placas, fue trabajado bajo un mechero prendido. Una vez llenas las placas se marcó indicando el medio de cultivo y la fecha, finalmente fueron llevadas a refrigerar a 8 °C, para ser utilizadas en la reactivación de los hongos entomopatógenos en la ejecución de esta investigación.

h) Reactivación de hongos entomopatógenos

Tabla N° 03: Procedencia de hongos entomopatógenos.

Entomopatógenos	Hospedero original	Lugar de procedencia	
		Distrito	Provincia
<i>Beauveria sp</i>	Plantas de café orgánico	Omía	Rodríguez de Mendoza
<i>Metarhizium sp.</i>	Suelo	La Jalca Grande	Chachapoyas

Los hongos entomopatógenos nativos utilizados en el presente trabajo, fueron caracterizados morfológica y molecularmente, en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNTRM, determinándose que corresponden a una especie del género *Beauveria* y *Metarhizium*. Datos no publicados. Los hongos comerciales se obtuvieron del cepario del laboratorio de Sanidad Vegetal de la UNTRM reactivados mediante el siguiente procedimiento.

Los hongos entomopatógenos fueron conservadas a 4 °C presentes en los tubos de ensayo. Con un asa de siembra en aro, se esterilizó en fuego 3 veces en mechero de alcohol, luego se extrajo una parte del micelio de cada hongo entomopatógeno, posteriormente fue sembrado en 4 placas petri en la parte central de cada una de ellas con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) seguidamente se tapó, todo este proceso se realizó en la cámara de flujo de aire laminar, metodología utilizada (Gordillo, 2017) con algunas modificaciones. Las placas petri fueron incubadas a 30 ± 1 °C por 10 días (Evans *et al.*, 2003).

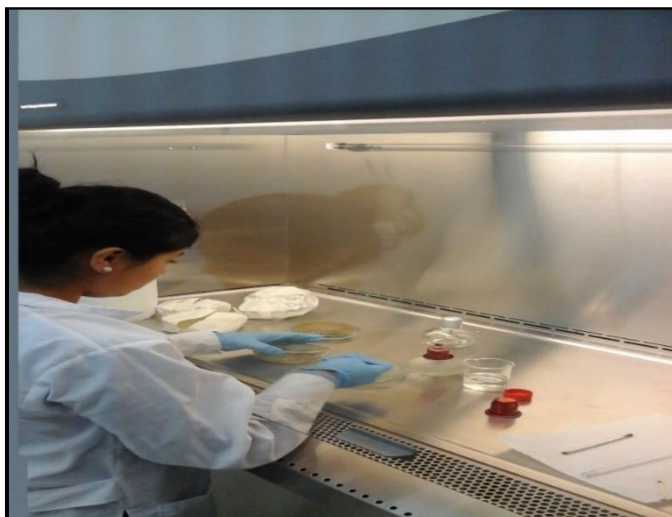


Figura N° 06: Reactivación de los hongos entomopatógenos en (PDA).

i) Preparado del sustrato de arroz para inoculación de hongos entomopatógenos

La preparación del sustrato de arroz y la inoculación se realizó siguiendo la metodología de SENASA (2014). Se pesaron 200 gramos de arroz en depósitos de plástico, a la que se agregó agua hervida por un lapso mayor a 2 horas a los recipientes que contenían arroz. Luego se coló el arroz con agua en mayas para reducir la húmeda del agua, posteriormente el arroz pre cocido fue colocado en bolsas, los cuales fueron esterilizados en la autoclave a 121 °C por 15 minutos, para este proceso de inoculación se trabajó en un ambiente aséptico y con materiales desinfectados, la inoculación se realizó en la cámara de flujo de aire laminar para evitar contaminación. Se agregó una parte del micelio que contenía la placa petri de cada hogo a unas bolsas, finalmente se roseo agua destilada estéril, se pasó a cerrar la bolsa para evitar contaminación, este proceso se repite para cada hongo entomopatógeno. Las bolsas inoculadas con las cepas fueron colocadas en la incubadora a 26 °C cada cuatro días de incubación, las bolsas fueron quebradas suavemente para favorecer la oxigenación de todo el sustrato y son dejadas por un tiempo de 15 días aproximadamente hasta completar la esporulación.

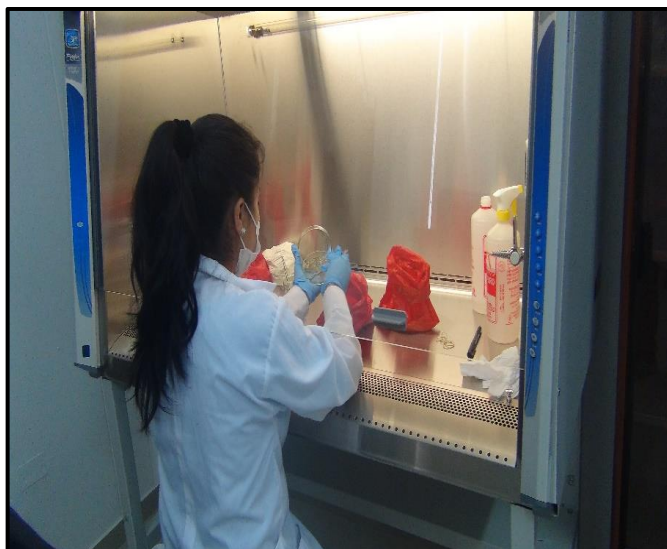


Figura N° 07: Inoculación de hongos entomopatógenos en cámara de flujo de aire laminar.



Figura N° 08: Incubación de hongos entomopatógenos en sustrato de arroz precocido.

j) Preparación de la suspensión de conidios

Siguiendo la metodología de SENASA (2004). La suspensión de conidios fue obtenida de la siguiente manera:

- ✓ Se pesó 1 gramo de arroz esporulado por cada hongo entomopatógeno. En una probeta se colocó 99 mL de agua destilada.
- ✓ Luego se vació el agua destilada y los hongos pesados a un Matraz Erlenmeyer al que se le adicionó 1 mL de Tween 20 (emulsión) con una pipeta Pasteur. Esta suspensión fue homogenizada en un Vórtex a 2000 rpm/min durante 45 segundos. Para favorecer el conteo de conidios en los cuadrantes, se realizó el método de las diluciones seriadas.
- ✓ Del Matraz Erlenmeyer se tomó 1 mL de la suspensión de conidios a un tubo de ensayo que contuvo 9 ml de agua destilada (suspensión madre). Se tomó 1 mL de la solución madre a un segundo tubo de ensayo que contuvo 9 mL de agua destilada, quedando preparado la dilución 10^{-1} .
- ✓ Posteriormente se repitió el mismo procedimiento hasta obtener una dilución de 10^{-3} para poder contar el número de conidios en la cámara de Neubauer
- ✓ Con una pipeta Pasteur se llenó la cámara de Neubauer con la suspensión de conidios de cada muestra luego se cubrió con el cubre objeto. Posteriormente se pasó al microscopio 10X y la contabilización se realizó en el cuadrante a 40X. La concentración de conidios se determinó con la siguiente formula:

$$C=(Cc) (4X10^6) (Fd/80) \text{ (Reyes } et al., 2016).$$

Donde:

C = Concentración (conidios. MI^{-1})

Cc = Promedio de conidios contados en la cámara de Neubauer

Fd = Factor de dilución

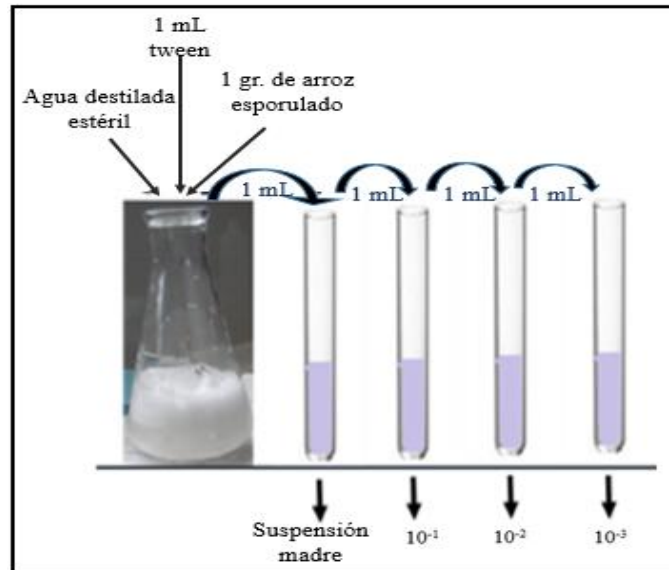


Figura N° 09: Preparación de la suspensión de conidios para cada hongo entomopatógeno.



Figura N° 10: Condicionando la cámara de Neubauer con suspensión de conidios.

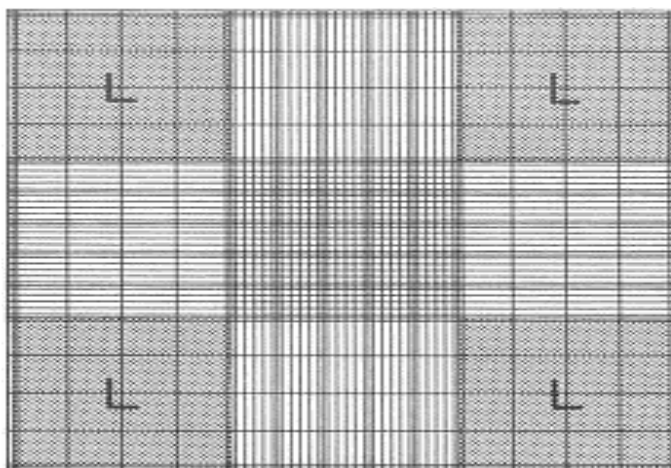


Figura N° 11: Cámara de Neubauer vista al microscopio (40X).

Fuente: (SENASA, 2014)

k) Aplicación de hongos entomopatógenos comerciales y nativos

Siguiendo la metodología de Campos y Velásquez (2016). Una vez desinfectados y lavados los adultos del picudo rayado de la caña de azúcar, fueron inoculados mediante el método de inmersión, sumergidos 40 individuos por un tiempo de 3 minutos dentro de recipientes de plástico utilizando 100 mL de cada una de la solución conidial de los hongos comerciales (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*) y hongos nativos (*Beauveria sp*, *Metarhizium sp*). A una dosis de 1×10^9 y 1×10^{10} , conidios /mL. Para eliminar el exceso de humedad se colocó sobre papel toalla estéril y con ayuda de una pinza, los individuos inoculados fueron distribuidos en recipientes de plástico a razón de 10 adultos de picudo rayado de la caña por cada recipiente, se le adicione trozos de caña de azúcar para su alimentación, por cada tratamiento se repitió 4 veces. Durante todo el experimento se trabajó con una temperatura media de 19 °C y una humedad relativa de 70%.

Los insectos muertos fueron colocados en placas petri que contenían papel toalla humedecido, así determinar la causa de su mortalidad. Cada placa petri fueron identificados por tratamiento y repetición para los conteos posteriores y colocados en un ambiente de incubación a 24 °C por 7 días. Todos los días, con un atomizador se roció el papel filtro con agua destilada para mantenerle la humedad sin saturar de agua (Vásquez, 2015).



Figura N° 12: Inoculación de *Metamasius sp* sobre *Beauveria bassiana*.



Figura N° 13: Inoculación de *Metamasius sp* sobre *Metarhizium anisopliae*.

l) Mortalidad de los adultos de picudo rayado de la caña de azúcar

Los recipientes de plásticos fueron revisados a los 5, 10, 15 y 20 días para notar el número de adultos muertos de picudo rayado de caña de azúcar, después de la aplicación de los hongos entomopatógenos durante 20 días de evaluación, en cada uno de los tratamientos se utilizó la fórmula de Abbott según (SENASA, 2014).

$$\%Mortalidad = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

P_i = Población inicial

P_f = Población final

m) Eficacia de hongos entomopatógenos sobre adultos del picudo rayado de la caña de azúcar

Para la eficacia del hongo entomopatógeno sobre la mortalidad de los adultos del picudo rayado de la caña de azúcar se utilizó la fórmula de Schneider- Orelli (Campos y Velásquez, 2016).

$$\%Eficacia = \frac{A - B}{100 - B} \times 100$$

Donde:

A = Mortalidad en el tratamiento

B = Mortalidad en el testigo absoluto

n) Grado de micosis de hongos entomopatógenos sobre adultos de picudo rayado de la caña de azúcar

Para ello los insectos muertos fueron colocados a la incubadora a 24 °C durante 7 días, utilizando placas petri con círculos de papel toalla húmedo, la escala que se utilizó para clasificar a los hongos según el grado de infección fue visual colocando intervalos o rangos como se describe a continuación (Zárate, 2016).

- **Grado 1:** Cuando el hongo logró cubrir al cuerpo del insecto en un porcentaje entre 1% a 25%.
- **Grado 2:** Cuando el hongo logró cubrir al cuerpo del insecto en un porcentaje entre 25% a 50%.
- **Grado 3:** Cuando el hongo logró cubrir al cuerpo del insecto en un porcentaje entre 50% a 75%.
- **Grado 4:** Cuando el hongo logró cubrir al cuerpo del insecto en un porcentaje entre 75% a 100%.

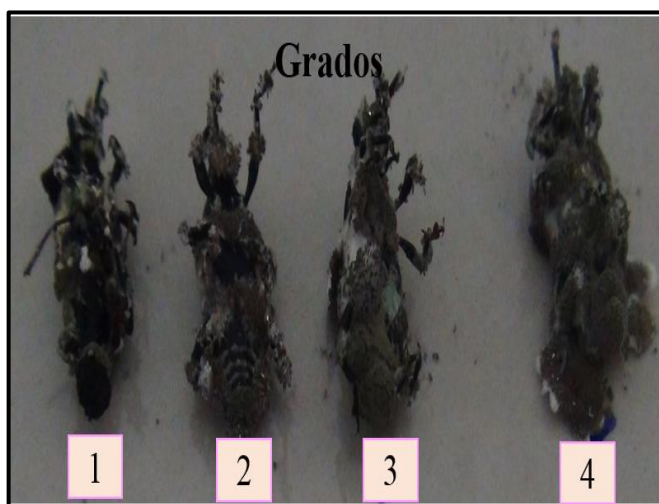


Figura N° 14: Clasificación del grado de micosis de *Metarhizium anisopliae*.

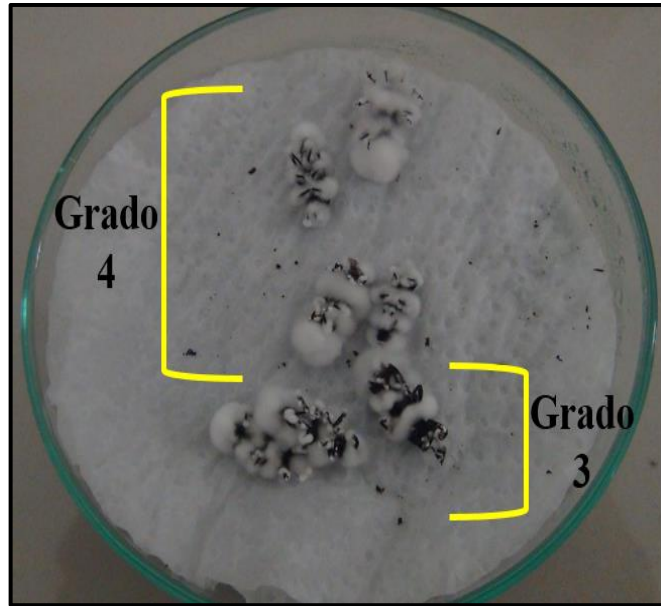


Figura N° 15: Clasificación del grado de micosis de *Beauveria bassiana*.

2.5. Análisis de datos

Los datos fueron significativos al 95% de confiabilidad, fueron sometidas a un análisis de comparaciones múltiples para tratamientos en la prueba de Tukey al 5% de significancia los datos fueron transformados usando la fórmula: $\arcsen \sqrt{x/100}$ (Steel y Torres, 1985) procesados en el programa infostat.

III. RESULTADOS

3.1. Porcentaje de mortalidad

Durante un periodo de 20 días, se realizó las evaluaciones en los recipientes de plástico observando en los adultos de *Metamasius sp*, pérdida del apetito, pérdida de orientación, parálisis, falta de movimiento y finalmente su muerte; por efecto de los hongos provocando una deficiencia de nutrientes, destruyendo los tejidos: tubo de Malpighi, mitocondrias, cuerpos grasos, hemocele y membrana nuclear ocasionando la muerte de los individuos. La figura 16 evidencia la prueba de Tukey ($p < 0,05$) mostrando diferencias estadísticas altamente significativas a nivel de los diferentes hongos entomopatógenos (nativos y comerciales), teniendo en *Metarhizium anisopliae* el entomopatógeno con mayor porcentaje de mortalidad, seguido por *Metarhizium sp*. Por otro lado, se aprecia que el entomopatógeno comercial *Beauveria bassiana* y nativo *Beauveria sp* no presentaron diferencias estadísticas entre sí, no obstante, difieren de *Metarhizium anisopliae* comercial y *Metarhizium sp* nativo. Respecto al testigo, al no haber sido infectado con ningún hongo entomopatógeno, no presento porcentajes de mortalidad en todo el proceso experimental.

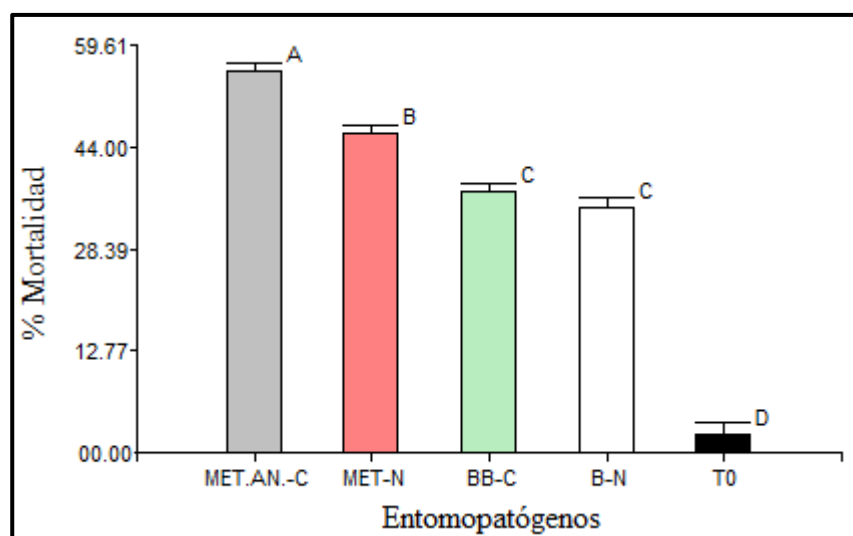


Figura N° 16: Porcentaje de mortalidad alcanzado por hongos entomopatógenos.

En la figura 17 se observa una alta significancia estadística para las diferentes dosis, obteniendo un mayor porcentaje de mortalidad a una dosis del 1×10^{10} conidios / mL y un menor porcentaje de mortalidad a una dosis de 1×10^9 conidios / mL. Respecto al testigo absoluto no se aplicó ninguna dosis, no presento mortalidad en todo el experimento.

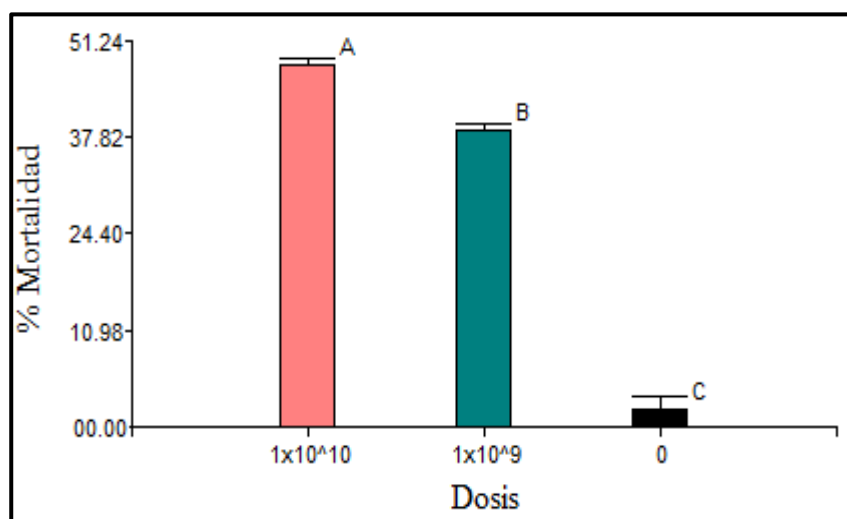


Figura N° 17: Dosis utilizadas en porcentaje de mortalidad.

La mortalidad de los adultos de *Metamasius sp*, se observó debido a la falta de movimiento de los individuos, por efecto de las dosis de los entomopatógenos utilizados; destruyendo todo el tejido de los individuos. En la figura 18 se aprecia que el T7 alcanzó el mejor nivel de mortalidad con un 60.91% en promedio, por otro lado, el tratamiento de menor porcentaje de mortalidad fue el T2 con un 29.71%. Las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples Tukey, indica que el T7 estadísticamente es superior a los demás tratamientos. Estos resultados son avalados para un análisis de varianza e indicando también el coeficiente de variación. (anexo N° 01- tabla N° 04).

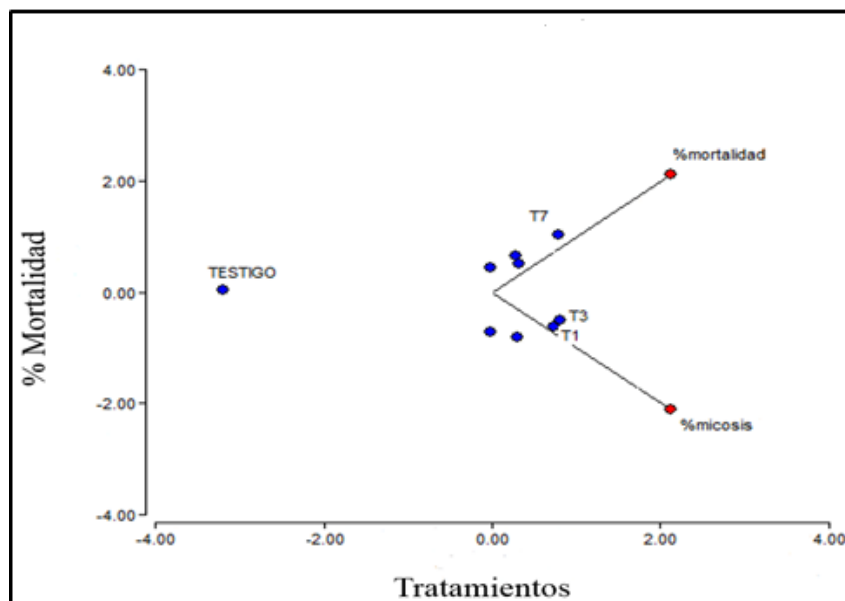


Figura N° 18: Porcentaje de mortalidad alcanzado por cada uno de los tratamientos.

Los promedios de cada tratamiento son producto de dos experimentos.

N° = 40 individuos.

3.2. Nivel de eficacia de los hongos entomopatógenos

Después de la muerte de los individuos, se calculó el porcentaje de eficacia sobre la mortalidad de los adultos de *Metamasius sp.* Mostrando en la figura 19 la prueba de Tukey ($p < 0,05$) indicando diferencias estadísticas altamente significativas a nivel de los diferentes hongos entomopatógenos (nativos y comerciales), teniendo en *Metarhizium anisopliae* el entomopatógeno con mayor porcentaje de eficacia, seguido por *Metarhizium sp.* Por otro lado, se aprecia que el entomopatógeno comercial *Beauveria bassiana* y nativo *Beauveria sp* no presentaron diferencias estadísticas entre sí, no obstante, difieren de *Metarhizium anisopliae* comercial y *Metarhizium sp* nativo.

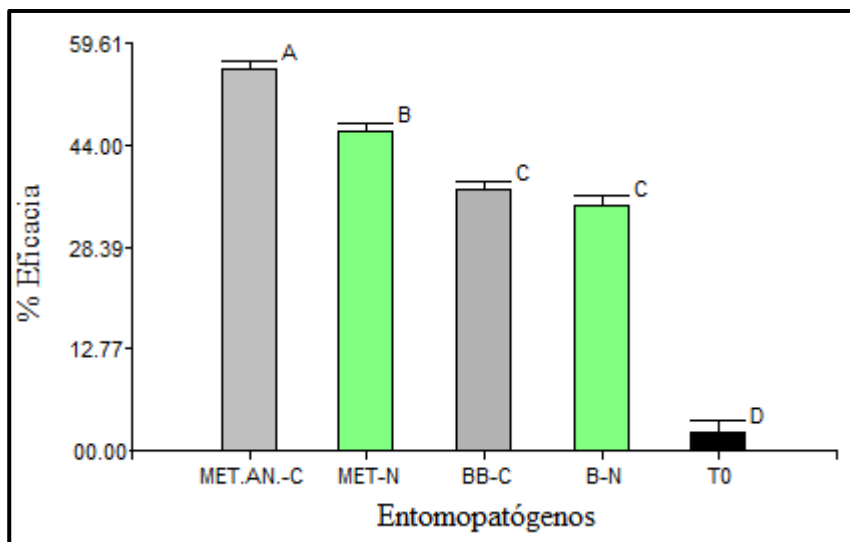


Figura N° 19: Porcentaje de eficacia alcanzado por hongos entomopatógenos.

Las dosis utilizadas influyeron positivamente en el porcentaje de eficacia, se puede apreciar en la figura 20 una alta significancia estadística para las diferentes dosis, obteniendo un mayor porcentaje de eficacia a una dosis del 1×10^{10} conidios / mL y un menor porcentaje de eficacia a una dosis de 1×10^9 conidios / mL.

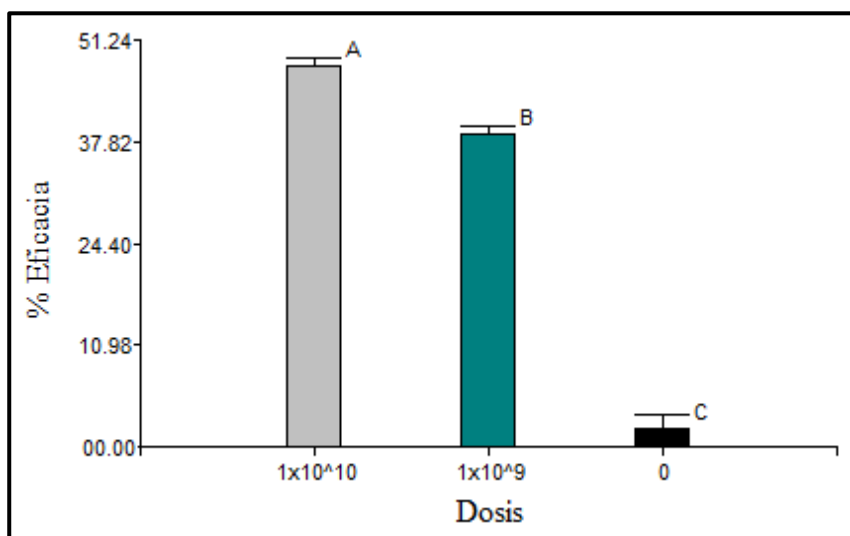


Figura N° 20: Dosis utilizadas en porcentaje de eficacia.

A partir de la mortalidad obtenida de los insectos en cada uno de los tratamientos y mediante una corrección con la mortalidad obtenida en el testigo, se determinó la eficacia de cada uno de los hongos entomopatógenos mediante la fórmula de Schneider Orelli. Se aprecia en la figura 21, que el T7 alcanzó el mejor nivel de eficacia a los 10 días con un 28.91 % y a los 15 días un 28.29% después de la inoculación, por otro lado. Las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples Tukey, indica que el T7 estadísticamente es superior a los demás tratamientos con un promedio acumulado de 60.91% de eficacia durante 20 días de evaluación. Estos resultados son avalados para un análisis de varianza e indicando también el coeficiente de variación. (anexo N° 01- tabla N° 04).

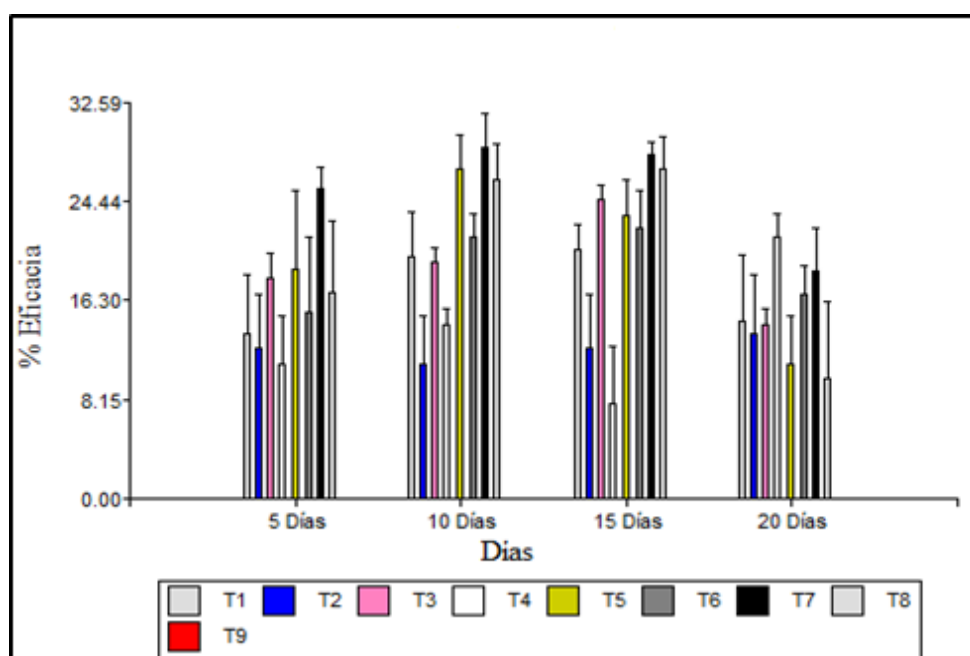


Figura N° 21: Porcentaje de eficacia alcanzado por cada uno de los tratamientos.

Los promedios de cada tratamiento son producto de dos experimentos.

N° = 40 individuos.

3.3. Porcentaje de micosis

Luego de presentar una mortalidad en adultos de *Metamasius sp*, fueron colocados a la incubadora en placas petri, durante 7 días a 24 °C, así se logró determinar la causa de la mortalidad, por acción del hongo entomopatógeno del género *Beauveria*, presentando un micelio color blanco-algodonoso cubriendo todo el cuerpo de los adultos de *Metamasius sp* y por acción del hongo entomopatógeno del género *Metarhizium* presentaron un micelio al principio color blanquecino luego se tornó de color verde oliva, logrando así cubrir todo el cuerpo de los insectos.

La figura 22 muestran la prueba de Tukey ($p < 0,05$) evidenciando porcentajes de micosis, se aprecia que entomopatógenos del mismo género no difieren significativamente respecto al parámetro evaluado, sin embargo, hongos del género *Beauveria* son estadísticamente superiores al género *Metarhizium*. El tratamiento testigo, al no haber sido infectado con ningún hongo entomopatógeno, presento 0% de micosis.

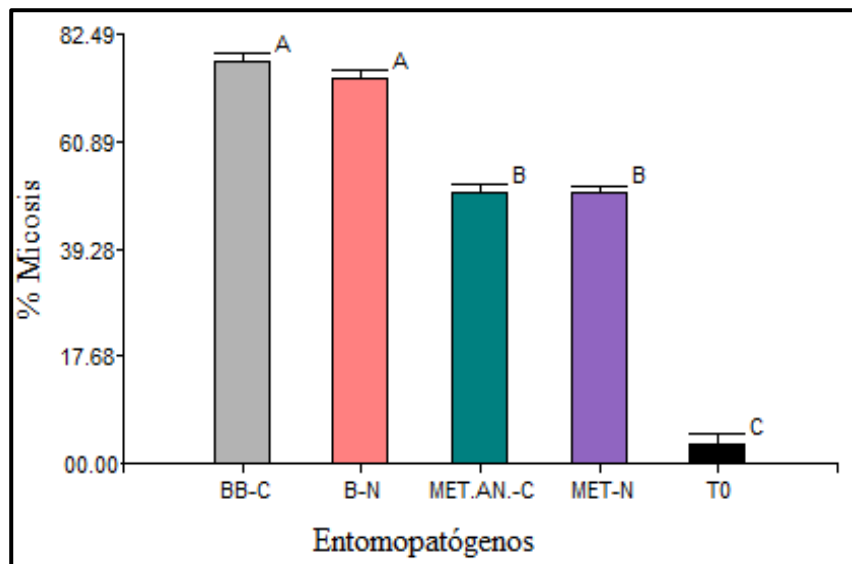


Figura N° 22: Porcentaje de micosis alcanzado por hongos entomopatógenos.

Las concentraciones de hongos entomopatógenos utilizadas en este trabajo de investigación influyeron positivamente en el porcentaje de micosis sobre adultos de *Metamasius sp.* se puede apreciar en la figura 23 una diferencia significativa para las diferentes dosis, alcanzado un mayor porcentaje de micosis a una dosis de 1×10^{10} conidios / mL y un menor porcentaje a una dosis de 1×10^9 conidios / mL, respecto al testigo absoluto no se aplicó ninguna dosis.

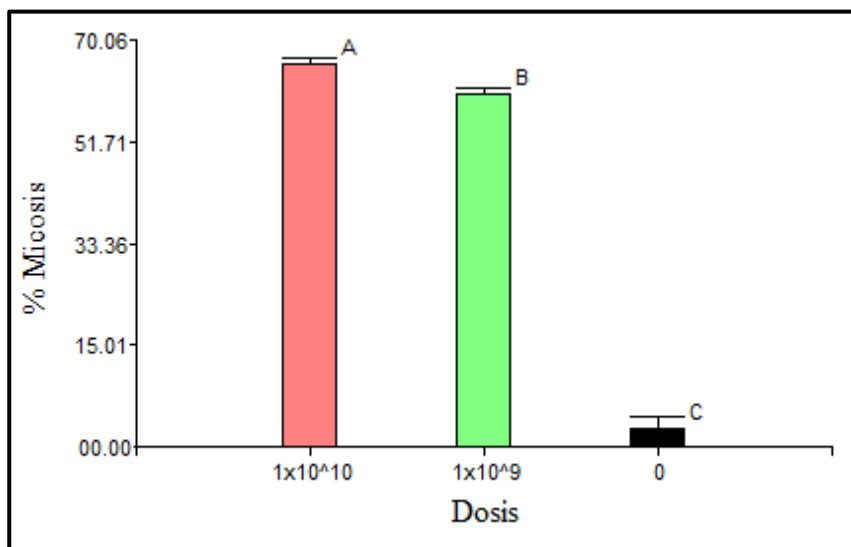


Figura N° 23. Dosis utilizadas en el porcentaje de micosis.

A los 7 días de evaluación se observó el porcentaje de micosis de los hongos entomopatógenos a una dosis de 1×10^{10} conidios /mL y 1×10^9 conidios /mL sobre el cuerpo de los adultos de *Metamasius sp.* Los hongos al desarrollarse dentro del cuerpo del insecto destruyen todo el tejido, emergen al exterior a través de la cutícula esporulando sobre el cuerpo, formando micelio en la superficie del cuerpo. La figura 22 muestra promedios alcanzado por el porcentaje de micosis, se observa que el T1 alcanzo los mejores valores de micosis con un 79.45%. seguido el T3 con un 78.74%. Por otro lado, el T6 fue el menor porcentaje de micosis con un 48.28%. Las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples Tukey, indica que el T1 y T3 estadísticamente es superior a los demás tratamientos. Estos resultados son avalados para un análisis de varianza e indicando también el coeficiente de variación (anexo N° 01- tabla N° 05).

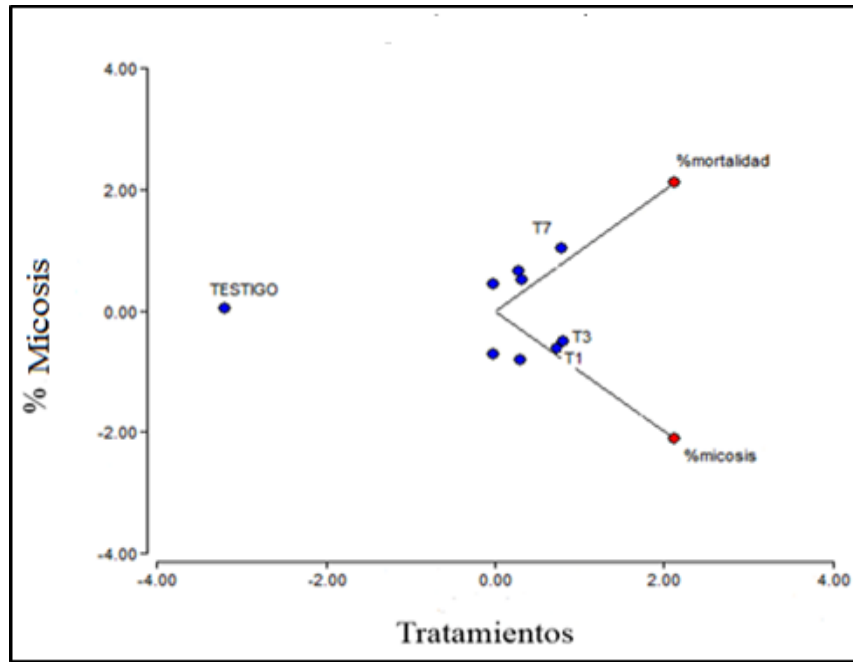


Figura N° 24: Porcentaje de micosis alcanzado por cada tratamiento.

Los promedios de cada tratamiento son producto de dos experimentos.

N° = 40 individuos.

IV. DISCUSIÓN

Los hongos entomopatógenos son un grupo importante en el control biológico de insectos plaga de importancia agrícola, encontrándose presentes en forma natural en el medio ambiente, en el suelo, en restos de cultivos, sobre los cadáveres de insectos, obteniendo su nutrición de otros organismos o de materia orgánica (SENASA, 2014).

La mortalidad ocurre con la muerte de los adultos de *Metamasisu sp*, presentados inmóviles, antes de que el hongo colonice totalmente el hemocele del insecto, debido en gran parte a la acción de las toxinas, degradando los tejidos, provocando así una deficiencia de nutrientes. Las toxinas producidas, son secretadas en cantidades significativas tanto en el cuerpo del insecto como en medios de cultivo (lipasas, glicogenasas, amilasas y quitinasas), cuya producción es una propiedad genética de los hongos, pudiendo ser afectada por diferentes factores como nutrientes, temperatura (Téllez *et al.*, 2009).

La micosis se produce después de muerto el insecto en condiciones ambientales favorables, el hongo emerge al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver cubriéndolo totalmente produciendo inóculo para infectar a otros insectos (Téllez *et al.*, 2009).

El hongo entomopatógeno de *Beauveria bassiana* se desarrolla con mayor velocidad entre temperaturas de 23 °C a 25 °C y humedad relativa superior a 80% (Acosta y Gutiérrez, 2008). Mientras que *Metarhizium anisopliae* se desarrolla con mayor velocidad entre temperaturas de 15 °C a 30 °C, liberando esporas y completando su ciclo bajo condiciones de poca humedad (Gil, 2017).

El uso de hongos entomopatógenos es una alternativa en los programas de manejo de plagas, utilizados exitosamente como controladores biológicos; es el grupo más importante de hongos entomopatógenos, con fines prácticos de manejo está constituido por *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Mendoza *et al.*, 2013).

Por lo tanto; el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* presentando mortalidad alta, siendo altamente patogénico y teniendo una mayor efectividad, para combatir esta plaga (*Metamasius sp*) en las zonas productoras de la región Amazonas.

Las cepas nativas presentaron una mortalidad inferior a lo encontrado por las cepas comerciales, la diferencia podría deberse a que la cepa nativa de *Beauveria sp* fue aislada de suelos de café orgánico y la cepa de *Metarhizium sp* aislada de adultos de *Premnotrypes spp*. Siendo hospedantes diferentes a *Metamasius sp*. Por otro lado, podría sustentarse que *Metarhizium anisopliae* comercial fuera aislado de adultos de *Metamasius sp*, siendo específico para el control de adultos de *Metamasius sp*, presentando un mayor porcentaje de mortalidad con un 60.91% alcanzando los mayores niveles de letalidad para la cepa comercial, siendo altamente patogénico sobre adultos de *Metamasius sp*, además, se evidencio a menor dosis 1×10^9 conidios / mL menor porcentaje de mortalidad, los valores fueron visiblemente inferiores a los resultados alcanzados por los tratamientos con la dosis 1×10^{10} conidios / mL.

Estos valores alcanzados en el presente trabajo de investigación son superiores a los resultados reportados por (Agüero *et al.*, 2009), donde obtuvieron un 51.7% de mortalidad de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Cosmopolites sordidus*, siendo inferiores a los resultados reportado por (Campos y Velásquez, 2016) , donde evaluaron la actividad biológica de dos cepas de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Rhynchophorus palmarum* en la cepa de Mt008 presentando mortalidad de 100% a concentraciones de 1×10^8 conidios/mL en la cepa Mt040 90% a concentraciones de 1×10^8 conidios / mL .

De igual manera (Mendoza *et al.*, 2013), reportaron resultados de *Metarhizium anisopliae* aislada de *Mahanarva Andigena* alcanzando una mortalidad de 91.7%. *Metarhizium anisopliae* aislada de *Perkinsiella Saccharicida* con un 90% de mortalidad, a una concentración de 1×10^8 conidios / mL sobre adultos de *Metamasius hemipterus*, lograron una mortalidad similar a lo encontrado por (Campos y Velásquez, 2016). Estas diferencias podría deberse a la resistencia propia presentada por cada individuo, por causa de las edades de los adultos utilizados para

inoculación y por las condiciones ambientales. En otros estudios trabajaron con una humedad relativa superior a 70% y una temperatura superior a 27 °C, siendo factores ambientales mayores a este trabajo, cuya temperatura media fue de 19 °C y 70% de humedad relativa, lo que explicaría las diferencias encontradas. Podría sustentarse también que estas especies con las que trabajaron estos autores fue distinta del presente estudio, los hongos utilizados por estos autores presentaron más virulencia que las utilizadas en el presente trabajo .

Con los datos obtenidos de mortalidad se determinó la eficacia de los hongos entomopatógenos y sus concentraciones, influyendo en la mortalidad de los insectos, en donde se tomó en cuenta al hongo y concentración que causó el mayor número de insectos muertos dentro del periodo de evaluación. Siendo el entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, quien logró un mayor nivel de eficacia con un promedio acumulado de 60.91% para la cepa comercial, a una concentración de 1×10^{10} conidios / mL, siendo el más eficaz sobre adultos de *Metamasius sp.*

De igual manera los resultados de mortalidad y eficacia reportados por (Campos y Velásquez, 2016) en su trabajo realizado en la Universidad Nacional Abierta y a Distancia en Colombia donde evaluaron en laboratorio la actividad biológica de dos cepas de, *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Rhynchophorus palmarum* en la cepa de Mt008 presentando mortalidad de 100% a concentraciones de 1×10^8 conidios / mL en la cepa Mt040 90% a concentraciones de 1×10^8 conidios / mL . Indicando en el presente trabajo el nivel de eficacia los mismos valores obtenidos en el porcentaje de mortalidad, debido a que no se reportaron individuos muertos en el tratamiento testigos durante la duración del ensayo.

Beauveria sp alcanzó mayor signo de micosis con valores promedios de 79.45%, seguidamente *Beauveria bassiana* con 78,74% estos valores alcanzados en el presente trabajo de investigación son inferiores a los resultados reportados por (Gil, 2017) en *Cosmopolites sordidus*, cepa *Beauveria bassiana* 27 donde logró un mayor porcentaje de micosis con un 93.45%; *Beauveria bassiana* 26 alcanzó un porcentaje de 82.93%.

Por otro lado (Agüero *et al .*, 2009), reportó altos signos micóticos de 98.1%, sobre adultos de *Cosmopolites sordidus* con la combinación de *Metarhizium anisopliae* + *Beauveria bassiana*, se podría sustentar que los hongos entomopatógenos utilizados por estos autores tienen una alta capacidad de multiplicación y reproducción en condiciones ambientales favorables.

Por otro lado, *Metarhizium sp* con un número promedio 52.67%, seguido *Metarhizium anisopliae* con promedio 51.61%, presentaron bajos signos de infección micótica, similar a los resultados reportados por (Ríos, 2007), quien realizó control del gorgojo *Cosmopolites sordidus* alcanzando un 50.2%, de esporulación en *Metarhizium anisopliae*.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo al presente trabajado de investigación se concluye lo siguiente:

Entomopatógenos y la aplicación de dosis e interacción influyeron positivamente en el porcentaje de mortalidad, siendo el T7 quien mostró mejores resultados con valores de 60.91% a una concentración de 1×10^{10} conidios / mL, Siendo el más patogénico mostrando un alto nivel de eficacia.

Entomopatógenos y la aplicación de dosis e interacción influyeron positivamente en el porcentaje de eficacia, teniendo al T7 con una concentración de 1×10^{10} conidios / mL, quien presento el mayor porcentaje de eficacia con un valora acumulado de 60.91% hacia la mortalidad de *Metamasius sp.*

Entomopatógenos y la aplicación de dosis e interacción influyeron positivamente en el porcentaje de micosis sobre adultos de *Metamasius sp*, Siendo el T1 con un promedio de 79.45% quien reporto mayor signo de micosis, seguido por el T3 con un promedio de 78.74% a una concentración de 1×10^{10} conidios / mL.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, H. M., y Gutiérrez, M. (2008). Patogenicidad de dos cepas de *Beauveria bassiana* en salivita (*Aeneolamia sp.*). En el Laboratorio del Campus Agropecuario UNAN – León. Nicaragua.
- Agüero, J. G., y Escoto, J. N. (2009). Evaluación de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* para el manejo de *Cosmopolites sordidus*. Campus Agropecuario 1 y 2 de la UNAN León.
- Alpizar, D., Fallas, M., Allan, O., Gonzales, L., Chinchilla, C., y Bulgarelli, J. (2012). Pheromone Mass Trapping del gorgojo de la caña de azúcar de las Indias Occidentales y el gorgojo americano (Coleoptera: Curculionidae) en Palmito. Entomólogo de Florida, 38 (3), 245–252.
- Campos, J. C., y Velásquez, H. A. (2016). Actividad biológica de dos cepas de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) sobre *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleóptera: Curculionidae) en condiciones de laboratorio. Tesis de grado, Bongara.
- Evans, H. C., Holmes, K. A., y Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. Mycological Progress, 2(2), 149-160.
- Gil, J. C. (2017). Evaluación de dos cepas de *Beauveria bassiana* y una cepa de *Metarhizium anisopliae*. En el control de adultos del gorgojo del banano, *Cosmopolites sordidus*, bajo condiciones de Laboratorio. Trujillo-Perú.
- Gordillo, A. I. (2017). Efectividad de aislados nativos de *Trichoderma spp.*, en el control biológico del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (kofoid y white) chitwood de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum*). Tesis de pregrado, Loja-Ecuador.

- INEI. (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. Lima: Instituto Nacional de Estadística e Informática.
- Mafla, A. M., Peña, L. A., y Bacca, T. (2004). Evaluación de la actividad biocontroladora de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Ancognatha scarabaeiodes* (Coleoptera: Scarabaeidae). CORPOICA, 5, 43.
- Mendoza, J., Gómez, P., y Gualle, D. (2013). Posibilidades del uso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control del picudo rayado, *Metamasius hemipterus*, en caña de azúcar. Entomólogo del CINCAE, 1-2.
- Mora, J., Ayura, A., y Gualle, D. (2004). Determinación de la importancia del picudo rayado, *Metamasius hemipterus* L., en caña de azúcar. Entomología del CINCAE.
- Ortíz, O., Alcázar, J., y Palacios, M. (1997). La Enseñanza del Manejo Integrado de Plagas en el cultivo de la papa: La experiencia del CIP en la Zona Andina del Perú. Latinoamericana de la Papa., 9/10:1-22.
- Párraga, j. R., y Zambrano, J. F. (2012). Capacidad antagónica de *Trichoderma spp*, a nivel in vitro frente a los hongos fitopatógenos *Crinipellis pernicioso* y *Moniliophthora roreri*. Tesis de pregrado, Calcetas.
- Raimerz, J. (2018). Potencial de biocontrol de cepas nativas de *Trichoderma spp* sobre la moniliasis (*Moniliophthora roreri*.) del cacao nativo fino de aroma, de la Provincia de Bagua, Amazonas - 2018. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Chachapoyas, Perú.
- Reyes, O., García, C., De la Cruz, M., Espinoza, L., y Ponce, G. (2016). *Trichoderma* species from the cacao agroecosystem with biocontrol potential of *Moniliophthora roreri*. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, vol. XXII, núm. 2, pp. 149-163.
- Ríos, R. (2007). Control del gorgojo *Cosmopolites sordidus* y *Metamasius hemipterus* del plátano con hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium spp*. 6: 28-38.

- Risco, B., y H, S. (1967). *Metamasius hemipterus* L. "gorgojo rayado de la caña de azúcar": Control del insecto en los ingenios "San Carlos"y "Valdez". Revista Peruana de Entomología, 10(1): 82-95.
- Rivera, G., y Pinto, L. (1999). Evaluación de patogenicidad de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos sobre el gusano blanco de la papa, *Premnotrypes vorax* (Hustache). Revista Colombiana de biotecnología VOL. III N°. 2, 53-65.
- Salazar, J. D., y Chávez, S. M. (2013). Estrategias modernas de manejo y control de plagas en el cultivo de la caña de azúcar.
- SENASA. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima.
- SENASA. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Lima -Perú: Laboratorio de Entomopatógenos SCB - SENASA.
- Steel, R., y Torres, J. (1985). Bioestadística: Principios y procedimientos 2ª. Edición. 190.
- Suárez, H. (2009). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sobre *Sitophilus zeamais motschulsky* (Coleoptera: Curculionidae) plaga de maíz almacenado. Intropica 47-53.
- Téllez, A., Guadalupe, M., y Mercado, Y. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos e insectos.
- Torres, E. A. (2013). Métodos estadísticos para la investigación experimental. Chachapoyas: Compugraf S.R.L.
- Vásquez, M. E. (2015). Efecto de *Beauveria bassiana* e *Isaria fumororosea* sobre, *Oligonychus punicae* en condiciones de laboratorio. Trujillo-Perú.
- Zárate, H. (2016). Adaptación de *Metarhizium sp* como entomopatógeno de garrapatas. México.

VII. ANEXOS

Anexo N° 01: Tablas de resultados

Tabla N° 04: Análisis de varianza sobre el promedio, respecto al porcentaje de mortalidad y eficacia en función a hongos entomopatógenos, dosis e interacción.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Entomopatógenos	2123.76	3	707.92	47.41	<0.0001
Dosis	645.39	1	645.39	43.22	<0.0001
Entomopatógenos *Dosis	42.7	3	14.23	0.95	0.4307
Error	358.39	24	14.93		
Total	3170.24	31			

CV = 8.91%

Tabla N° 05: Análisis de varianza sobre el promedio, respecto al porcentaje de micosis en función a hongos entomopatógenos, dosis e interacción.

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Entomopatógenos	4985.87	3	1661.96	82.82	<0.0001
Dosis	233.17	1	233.17	11.62	0.00023
Entomopatógenos *Dosis	102.17	3	34.06	1.7	0.1943
Error	481.63	24	20.07		
Total	5802.85	31			

CV = 7.11%

Tabla N° 06: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia.

ENTOMOPATÓGENOS	MEDIAS	N	E.E.			
MET.AN.-C	55.49	8	1.37	A		
MET-N	46.08	8	1.37		B	
BB-C	37.2	8	1.37		C	
B-N	34.81	8	1.737		C	
DOSIS	MEDIAS	N	E.E.			
1X10 ¹⁰	47.89	16	0.97	A		
1X10 ⁹	38.9	16	0.97		B	
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E.		
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	60.91	4	1.93	A	
MET.AN.-C	1X10 ⁹	50.06	4	1.93		B
MET-N	1X10 ¹⁰	48.6	4	1.93	B	C
MET-N	1X10 ⁹	43.57	4	1.93	B	C
BB-C	1X10 ¹⁰	42.12	4	1.93	B	C
B-N	1X10 ¹⁰	39.92	4	1.93		C D
BB.C	1X10 ⁹	32.28	4	1.93		D E
B-N	1X10 ⁹	29.71	4	1.93		E

Tabla N° 07: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis.

ENTOMOPATÓGENOS		MEDIAS	N	E.E.	
BB-C		77.07	8	1.58	A
B-N		73.71	8	1.58	A
MET.AN.-C		50.61	8	1.58	B
MET-N		50.47	8	1.58	B
DOSIS		MEDIAS	N	E.E.	
1X10 ¹⁰		65.66	16	1.12	A
1X10 ⁹		60.27	16	1.12	B
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E.	
B-N	1X10 ¹⁰	79.45	4	2.24	A
BB-C	1X10 ¹⁰	78.74	4	2.24	A
BB-C	1X10 ⁹	75.4	4	2.24	A B
B-N	1X10 ⁹	67.98	4	2.24	B
MET-N	1X10 ¹⁰	52.67	4	2.24	C
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	51.61	4	2.24	C
MET.AN.-C	1X10 ⁹	49.41	4	2.24	C
MET-N	1X10 ⁹	48.28	4	2.24	C

Tabla N° 08: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia (experimento 01).

ENTOMOPATÓGENOS		MEDIAS	N	E.E.	
MET.AN.-C		56.27	8	1.76	A
MET-N		46.44	8	1.76	B
BB-C		37.59	8	1.76	C
B-N		34.99	8	1.76	C
DOSIS		MEDIAS	N	E.E.	
1X10 ¹⁰		48.46	16	1.25	A
1X10 ⁹		39.19	16	1.25	B
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E.	
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	61.77	4	2.5	A
MET.AN.-C	1X10 ⁹	50.77	4	2.5	A B
MET-N	1X10 ¹⁰	49.33	4	2.5	B
MET-N	1X10 ⁹	43.56	4	2.5	B C
BB-C	1X10 ¹⁰	42.12	4	2.5	B C
B-N	1X10 ¹⁰	40.61	4	2.5	B C D
BB.C	1X10 ⁹	33.06	4	2.5	C D
B-N	1X10 ⁹	29.36	4	2.5	D

Tabla N° 09: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis (experimento 01).

ENTOMOPATÓGENOS		MEDIAS	N	E.E	
BB-C		77.52	8	1.69	A
B-N		74.31	8	1.69	A
MET-N		51.06	8	1.69	B
MET.AN.-C		50.47	8	1.69	B
DOSIS		MEDIAS	N	E.E	
1X10 ¹⁰		65.54	16	1.2	A
1X10 ⁹		61.14	16	1.2	B
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E	
B-N	1X10 ¹⁰	79.75	4	2.4	A
BB-C	1X10 ¹⁰	78.62	4	2.4	A
BB-C	1X10 ⁹	76.43	4	2.4	A
B-N	1X10 ⁹	68.88	4	2.4	A
MET-N	1X10 ¹⁰	52.77	4	2.4	B
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	51.02	4	2.4	B
MET.AN.-C	1X10 ⁹	49.93	4	2.4	B
MET-N	1X10 ⁹	49.35	4	2.4	B

Tabla N° 10: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función a mortalidad y eficacia (experimento 02).

ENTOMOPATÓGENOS		MEDIAS	N	E.E.	
MET.AN.-C		54.83	8	2.46	A
MET-N		45.69	8	2.46	A B
BB-C		36.72	8	2.46	B C
B-N		34.16	8	2.46	C
DOSIS		MEDIAS	N	E.E.	
1X10 ¹⁰		47.29	16	1.74	A
1X10 ⁹		38.41	16	1.74	B
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E.	
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	60.27	4	3.48	A
MET.AN.-C	1X10 ⁹	49.39	4	3.48	A B
MET-N	1X10 ¹⁰	47.89	4	3.48	A B
MET-N	1X10 ⁹	43.5	4	3.48	B C
BB-C	1X10 ¹⁰	42.05	4	3.48	B C
B-N	1X10 ¹⁰	38.95	4	3.48	B C
BB-C	1X10 ⁹	31.4	4	3.48	C
BB-N	1X10 ⁹	29.36	4	3.48	C

Tabla N° 11: Pruebas de comparaciones múltiples T de hongos entomopatógenos, dosis e interacción en función al porcentaje de micosis (experimento 02).

ENTOMOPATÓGENOS		MEDIAS	N	E.E.	
BB-C		77.39	8	1.95	A
B-N		73.41	8	1.95	A
MET.AN.-C		50.75	8	1.95	B
MET-N		49.92	8	1.95	B
DOSIS		MEDIAS	N	E.E.	
1X10 ¹⁰		66.13	16	1.38	A
1X10 ⁹		59.61	16	1.38	B
ENTOMOPATÓGENOS	DOSIS	MEDIAS	N	E.E.	
BB-C	1X10 ¹⁰	79.76	4	2.76	A
B-N	1X10 ¹⁰	79.54	4	2.76	A
BB-C	1X10 ⁹	75.02	4	2.76	A
B-N	1X10 ⁹	67.29	4	2.76	A
MET.AN.-C	1X10 ¹⁰	52.61	4	2.76	B
MET.N	1X10 ¹⁰	52.6	4	2.76	B
MET.AN.-C	1X10 ⁹	48.9	4	2.76	B
MET-N	1X10 ⁹	47.23	4	2.76	B

Anexo N° 02: Ficha de evaluación

Tabla N° 13: Ficha de evaluación del porcentaje de mortalidad de hongos entomopatógenos sobre adultos de *Metamasius sp* (etapa 01).

ETAPA 01														
Tratamientos	Dosis	Unidades experimentales		Días de evaluación				Total de insectos muertos	5 días	10 días	15 días	20 días	% de mortalidad general	
				5 días	10 días	15 días	20 días							
		Repeticiones	N° de individuos por muestra	Ev.01	Ev. 02	Ev. 03	Ev. 04							
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	1	2	2	0	5	10	20	20	0	50
			RII	10	0	2	2	1	5	0	20	20	10	50
			RIII	10	0	1	1	1	3	0	10	10	10	30
			RIV	10	1	3	0	0	4	10	30	0	0	40
Total T1			40	2	8	5	2	17	5	20	12.5	5	42.5	
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	10	2	0	1	1	4	20	0	10	10	40
			RII	10	1	0	1	1	3	10	0	10	10	30
			RIII	10	0	1	0	0	1	0	10	0	0	10
			RIV	10	0	0	0	2	2	0	0	0	20	20
Total T2			40	3	1	2	4	10	7.5	2.5	5	10	25	
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	2	2	1	0	5	20	20	10	0	50
			RII	10	0	3	1	1	5	0	30	10	10	50
			RIII	10	1	0	2	1	4	10	0	20	10	40
			RIV	10	1	2	1	0	4	10	20	10	0	40
Total T3			40	4	7	5	2	18	10	17.5	12.5	5	45	
T4	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x 10 ⁹	RI	10	0	0	1	2	3	0	0	10	20	30
			RII	10	1	1	0	0	2	10	10	0	0	20
			RIII	10	0	1	1	2	4	0	10	10	20	40
			RIV	10	1	0	0	2	3	10	0	0	20	30
Total T4			40	2	2	2	6	12	5	5	5	15	30	
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	3	2	0	0	5	30	20	0	0	50
			RII	10	2	2	2	0	6	20	20	20	0	60
			RIII	10	2	3	1	0	6	20	30	10	0	60
			RIV	10	0	4	2	0	6	0	40	20	0	60
Total T5			40	7	11	5	0	23	17.5	27.5	12.5	0	57.5	

ETAPA 01														
Tratamientos	Dosis	Unidades experimentales		Días de evaluación				Total de insectos muertos	5 días	10 días	15 días	20 días	% de mortalidad general	
				5 días	10 días	15 días	20 días							
		Repeticiones	N° de individuos por muestra	Ev.01	Ev. 02	Ev. 03	Ev. 04							
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x 10 ⁹	RI	10	0	2	2	0	4	0	20	20	0	40
			RII	10	2	1	0	1	4	20	10	0	10	40
			RIII	10	0	2	1	3	6	0	20	10	30	60
			RIV	10	2	2	1	0	5	20	20	10	0	50
Total T6			40	4	7	4	4	19	10	17.5	10	10	47.5	
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	3	3	1	0	7	30	30	10	0	70
			RII	10	3	2	2	1	8	30	20	20	10	80
			RIII	10	2	2	2	2	8	20	20	20	20	80
			RIV	10	1	4	3	0	8	10	40	30	0	80
Total T7			40	9	11	8	3	31	22.5	27.5	20	7.5	77.5	
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x 10 ⁹	RI	10	0	2	3	1	6	0	20	30	10	60
			RII	10	3	2	1	0	6	30	20	10	0	60
			RIII	10	0	3	3	0	6	0	30	30	0	60
			RIV	10	2	3	1	0	6	20	30	10	0	60
Total T8			40	5	10	8	1	24	12.5	25	20	2.5	60	
T9	Testigo	n.a	RI	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			RII	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			RIII	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			RIV	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total T9			40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

n.a (ninguna aplicación)

Tabla N° 14: Ficha de evaluación del porcentaje de eficacia de hongos entomopatógenos sobre adultos de *Metamasius sp* (etapa 01).

Tratamientos	Dosis	Unidades Experimentales		Total de insectos muertos	% Mortalidad general	% Eficacia	
		Repeticiones	N° de individuos por muestra				
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	5	50	50
			RII	10	5	50	50
			RIII	10	3	30	30
			RIV	10	4	40	40
Total T1				40	17	42.5	42.5
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	10	4	40	40
			RII	10	3	30	30
			RIII	10	1	10	10
			RIV	10	2	20	20
Total T2				40	10	25	25
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	5	50	50
			RII	10	5	50	50
			RIII	10	4	40	40
			RIV	10	4	40	40
Total T3				40	18	45	45
T4	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ⁹	RI	10	3	30	30
			RII	10	2	20	20
			RIII	10	4	40	40
			RIV	10	3	30	30
Total T4				40	12	30	30
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	5	50	50
			RII	10	6	60	60
			RIII	10	6	60	60
			RIV	10	6	60	60
Total T5				40	23	57.5	57.5
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x 10 ⁹	RI	10	4	40	40
			RII	10	4	40	40
			RIII	10	6	60	60
			RIV	10	5	50	50
Total T6				40	19	47.5	47.5
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	7	70	70
			RII	10	8	80	80
			RIII	10	8	80	80
			RIV	10	8	80	80
Total T7				40	31	77.5	77.5
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ⁹	RI	10	6	60	60
			RII	10	6	60	60
			RIII	10	6	60	60
			RIV	10	6	60	60
Total T8				40	24	60	60
T9	Testigo	n.a	RI	10	0	0	
			RII	10	0	0	
			RIII	10	0	0	
			RIV	10	0	0	
Total T9				40	0	0	

Tabla N° 15: Ficha de evaluación del porcentaje de micosis de hongos entomopatógenos (etapa 01).

Tratamientos		Dosis	Unidades experimentales	
			Repeticiones	Promedio/ Micosis
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x 10 ¹⁰	RI	98.8
			RII	97.8
			RIII	95
			RIV	94.75
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	93.5
			RII	90
			RIII	80
			RIV	82.5
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	98.8
			RII	91
			RIII	99.5
			RIV	90.75
T4	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1 x 10 ⁹	RI	93
			RII	99.5
			RIII	92.25
			RIV	89.67
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	70
			RII	62.5
			RIII	58.33
			RIV	62.5
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1 x 10 ⁹	RI	48.75
			RII	51.3
			RIII	65.83
			RIV	64
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	67.14
			RII	55.63
			RIII	61.88
			RIV	56.88
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1 x 10 ⁹	RI	54.17
			RII	58.33
			RIII	61.67
			RIV	60

Tabla N° 16: Ficha de evaluación del porcentaje de mortalidad de hongos entomopatógenos sobre adultos de *Metamasius sp* (etapa 02).

ETAPA 02														
Tratamientos		Dosis	Unidades experimentales		Días de evaluación				Total de insectos muertos	5 días	10 días	15 días	20 días	% de mortalidad general
					5 días	10 días	15 días	20 días						
			Repeticiones	N° de individuos por muestra	Ev.01	Ev. 02	Ev. 03	Ev. 04						
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x 10 ¹⁰	RI	10	2	0	2	1	5	20	0	20	10	50
			RII	10	0	0	0	2	2	0	0	0	20	20
			RIII	10	1	0	1	2	4	10	0	10	20	40
			RIV	10	1	2	2	0	5	10	20	20	0	50
Total T1			40	4	2	5	5	16	10	5	12.5	12.5	40	
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	10	0	1	0	2	3	0	10	0	20	30
			RII	10	0	0	1	0	1	0	0	10	0	10
			RIII	10	2	0	0	0	2	20	0	0	0	20
			RIV	10	0	2	2	0	4	0	20	20	0	40
Total T2			40	2	3	3	2	10	5	7.5	7.5	5	25	
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	0	0	2	1	3	0	0	20	10	30
			RII	10	2	0	3	1	6	20	0	30	10	60
			RIII	10	0	2	2	0	4	0	20	20	0	40
			RIV	10	2	0	2	1	5	20	0	20	10	50
Total T3			40	4	2	9	3	18	10	5	22.5	7.5	45	
T4	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ⁹	RI	10	2	1	0	1	4	20	10	0	10	40
			RII	10	0	0	0	2	2	0	0	0	20	20
			RIII	10	0	0	1	2	3	0	0	10	20	30
			RIV	10	0	2	0	0	2	0	20	0	0	20
Total T4			40	2	3	1	5	11	5	7.5	2.5	12.5	27.5	
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	0	3	2	1	6	0	30	20	10	60
			RII	10	3	0	3	0	6	30	0	30	0	60
			RIII	10	1	2	1	1	5	10	20	10	10	50
			RIV	10	0	1	2	2	5	0	10	20	20	50
Total T5			40	4	6	8	4	22	10	15	20	10	55	

ETAPA 02															
Tratamientos		Dosis	Unidades experimentales		Días de evaluación				Total de insectos muertos	5 días	10 días	15 días	20 días	% de mortalidad general	
					5 días	10 días	15 días	20 días							
			Repeticiones	N° de individuos por muestra	Ev.01	Ev. 02	Ev. 03	Ev. 04							
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	10	1	1	2	2	6	10	10	20	20	60	
			RII	10	3	1	1	0	5	30	10	10	0	50	
			RIII	10	0	0	3	0	3	0	0	0	30	0	30
			RIV	10	0	2	2	1	5	0	20	20	10	50	
Total T6			40	4	4	8	3	19	10	10	20	7.5	47.5		
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	2	2	3	1	8	20	20	30	10	80	
			RII	10	1	1	3	3	8	10	10	30	30	80	
			RIII	10	1	2	2	1	6	10	20	20	10	60	
			RIV	10	2	3	2	1	8	20	30	20	10	80	
Total T7			40	6	8	10	6	30	15	20	25	15	75		
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ⁹	RI	10	0	0	3	3	6	0	0	30	30	60	
			RII	10	1	2	2	0	5	10	20	20	0	50	
			RIII	10	2	3	2	0	7	20	30	20	0	70	
			RIV	10	1	1	2	1	5	10	10	20	10	50	
Total T8			40	4	6	9	4	23	10	15	22.5	10	57.5		
T9	Testigo	n.a	RI	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			RII	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			RIII	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			RIV	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total T9			40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Tabla N° 17: Ficha de evaluación del porcentaje de eficacia de hongos entomopatógenos sobre adultos de *Metamasius sp* (etapa 02).

Tratamientos		Dosis	Unidades experimentales		Total de insectos muertos	% Mortalidad general	% eficacia
			Repeticiones	N° de individuos por muestra			
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	5	50	50
			RII	10	2	20	20
			RIII	10	4	40	40
			RIV	10	5	50	50
Total T1				40	16	40	40
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	10	3	30	30
			RII	10	1	10	10
			RIII	10	2	20	20
			RIV	10	4	40	40
Total T2				40	10	25	25
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	3	30	30
			RII	10	6	60	60
			RIII	10	4	40	40
			RIV	10	5	50	50
Total T3				40	18	45	45
T4	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ⁹	RI	10	4	40	40
			RII	10	2	20	20
			RIII	10	3	30	30
			RIV	10	2	20	20
Total T4				40	11	27.5	27.5
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	10	6	60	60
			RII	10	6	60	60
			RIII	10	5	50	50
			RIV	10	5	50	50
Total T5				40	22	55	55
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x 10 ⁹	RI	10	6	60	60
			RII	10	5	50	50
			RIII	10	3	30	30
			RIV	10	5	50	50
Total T6				40	19	47.5	47.5
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	10	8	80	80
			RII	10	8	80	80
			RIII	10	6	60	60
			RIV	10	8	80	80
Total T7				40	30	75	75
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x 10 ⁹	RI	10	6	60	60
			RII	10	5	50	50
			RIII	10	7	70	70
			RIV	10	5	50	50
Total T8				40	23	57.5	57.5
T9	Testigo	n.a	RI	10	0	0	
			RII	10	0	0	
			RIII	10	0	0	
			RIV	10	0	0	
Total T9				40	0	0	

Tabla N° 18: Ficha de evaluación del porcentaje de micosis de hongos entomopatógenos (etapa 02).

Tratamientos		Dosis	Unidades experimentales	
			Repeticiones	Promedio /Micosis
T1	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	95.8
			RII	99.5
			RIII	96
			RIV	93.8
T2	<i>Beauveria sp</i> (Nativo)	1x10 ⁹	RI	92
			RII	85
			RIII	70
			RIV	90
T3	<i>Beauveria bassiana</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	98
			RII	98
			RIII	96
			RIV	94.8
T4	<i>Beauveria</i> (Comercial)	1x 10 ⁹	RI	92.25
			RII	100
			RIII	81.67
			RIV	90
T5	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x10 ¹⁰	RI	60.83
			RII	67.5
			RIII	65
			RIV	59
T6	<i>Metarhizium sp.</i> (Nativo)	1x 10 ⁹	RI	48.33
			RII	50
			RIII	65
			RIV	52
T7	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x10 ¹⁰	RI	68.75
			RII	57.5
			RIII	61.67
			RIV	64.36
T8	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Comercial)	1x 10 ⁹	RI	56.67
			RII	56
			RIII	49.29
			RIV	65

Anexo N° 03: Panel fotográfico.

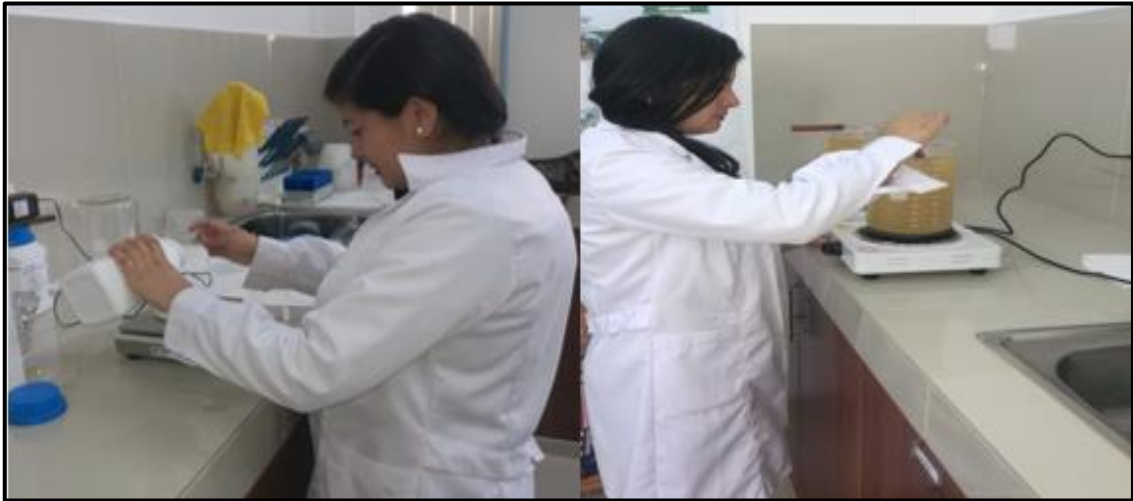


Imagen N° 01: Preparación de Potato Dextrosa Agar (PDA)

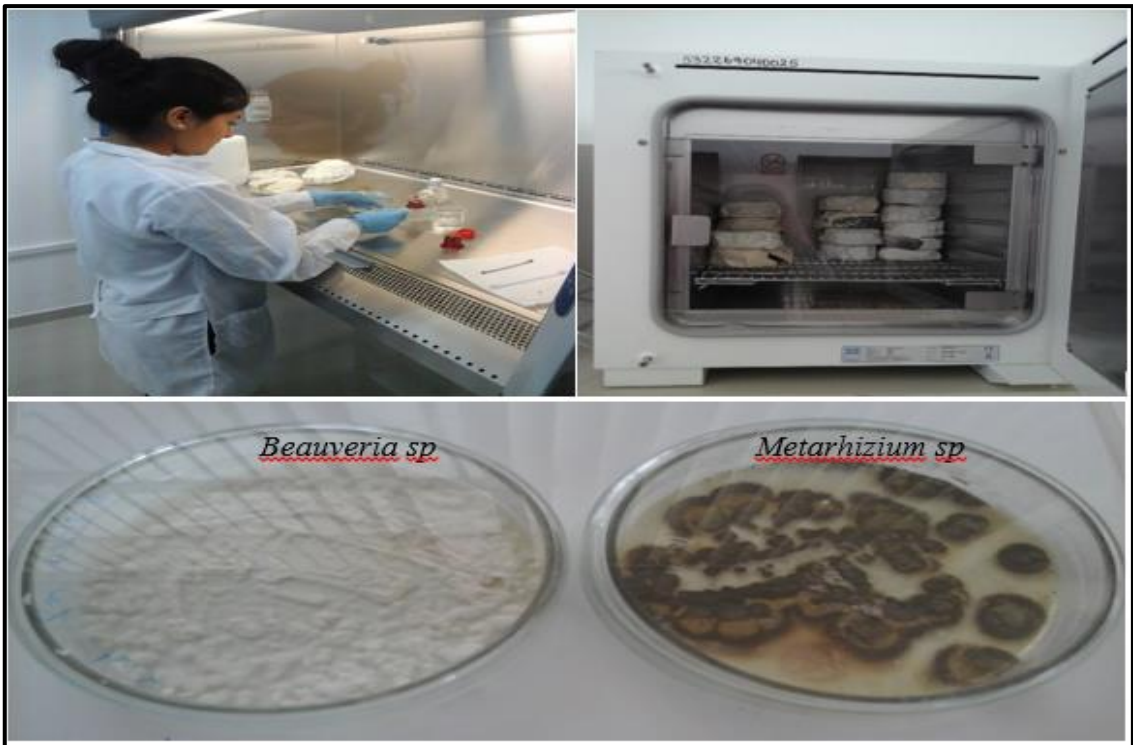


Imagen N° 02: Reactivación de hongos entomopatógenos en la cámara de flujo de aire laminar e incubación.



Imagen N° 03: Preparado del arroz pre cosido e inoculación de hongos entomopatógenos en el flujo de aire laminar.



Imagen N° 04: Lavado y desinfección de adultos de *Metamasius sp.*

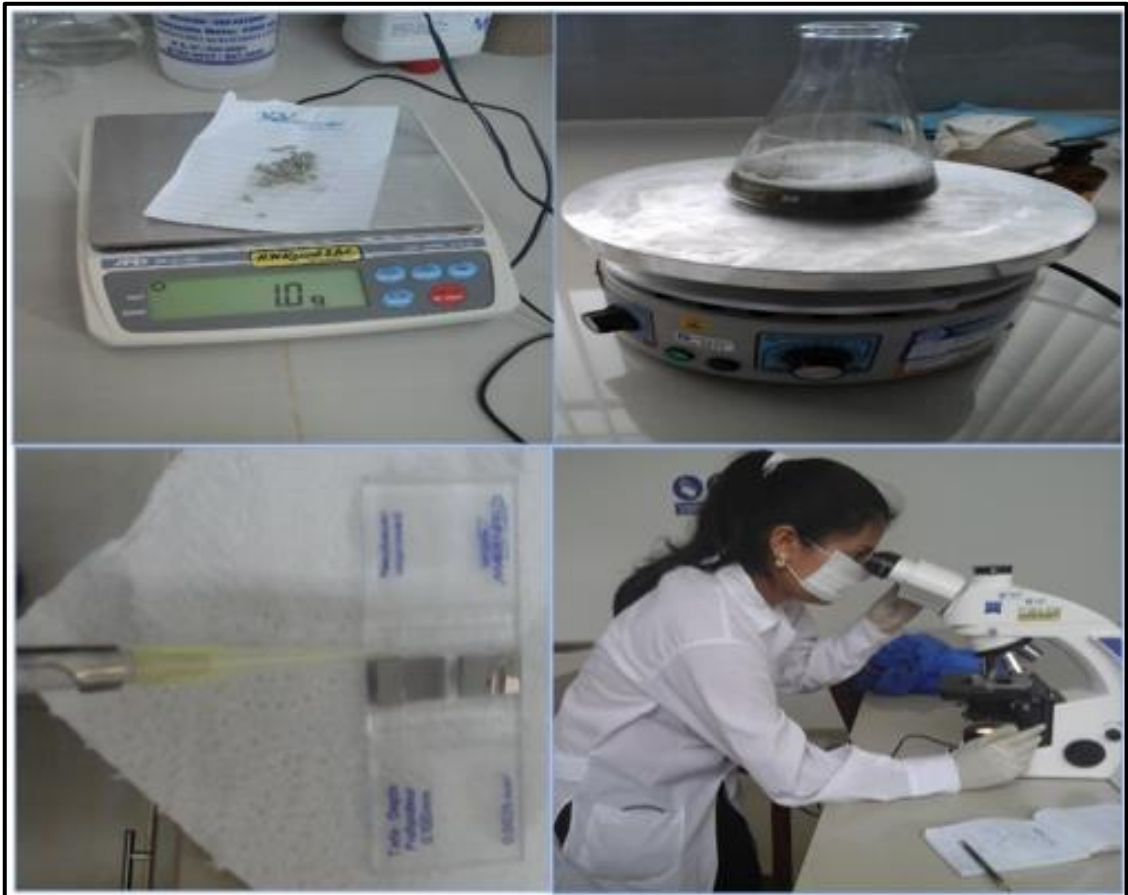


Imagen N° 05: Preparación de la suspensión de conidios de hongos entomopatógenos.



Imagen N° 06: Inoculación de adultos de *Metamasius sp* sobre hongos entomopatógenos



Imagen N° 07: Distribución de los tratamientos en estudio.



Imagen N° 08: Adultos de *Metamasius sp* sometidos a cámara húmeda.

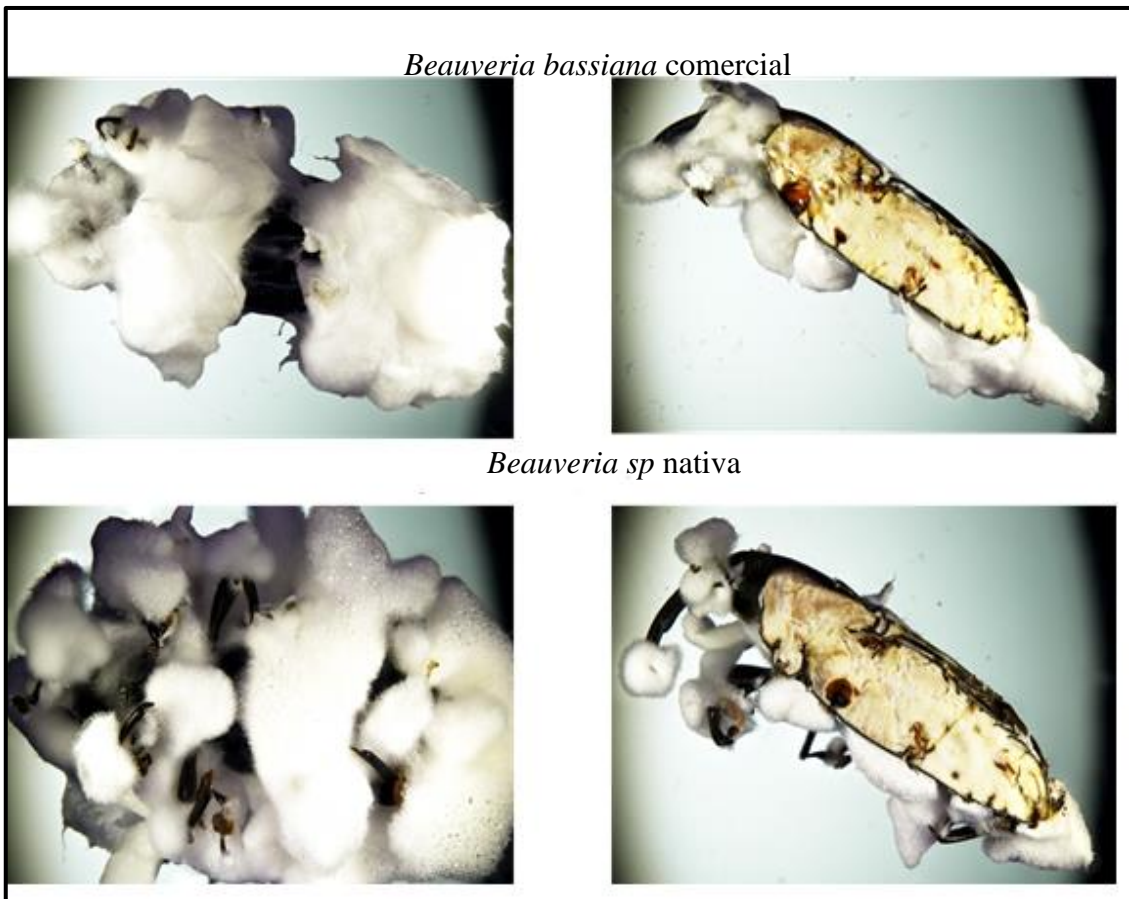


Imagen N° 09: Colonización de *Beauveria bassiana* y *Beauveria sp* sobre el cuerpo de adultos de *Metamasius sp*.

Metarhizium anisopliae comercial



Metarhizium sp nativa

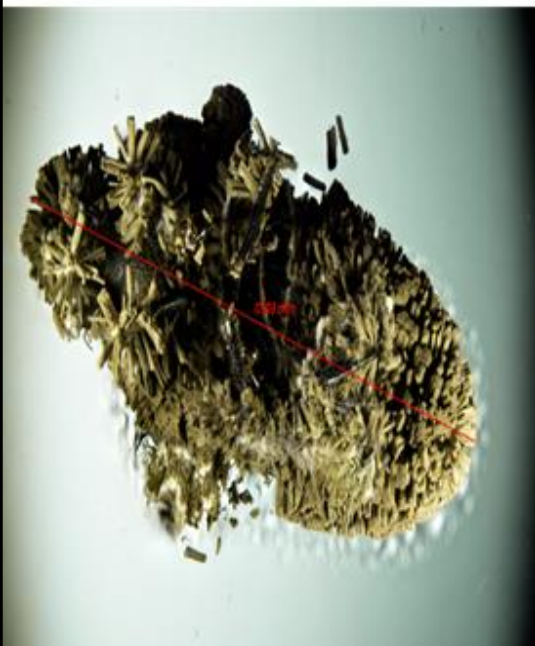


Imagen N° 10: Colonización de *Metarhizium anisopliae* y *Metarhizium sp* sobre el cuerpo de adultos de *Metamasius sp*.