

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**



Efecto de dos concentraciones de *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff en el control de *Dione juno* Cramer

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AGRÓNOMO

AUTOR: Bach. Fernández Arcela, Daniel Junior

ASESOR: Dr. Vargas Linares, Pedro Antonio

Código ORCID: 0000-0002-7823-4371

NUEVO CHIMBOTE – PERU

2023

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONOMA**



**DE CONFORMIDAD DEL ASESOR**

La presente tesis para título ha sido revisada y desarrollada en cumplimiento del objetivo propuesto y reúne las condiciones formales y metodológicas, estando encuadrado dentro de las áreas y líneas de la investigación conforme al reglamento general para obtener el Título Profesional en la Universidad Nacional del Santa (R.D: N° 492-2017-CU-R-UNS) de acuerdo a la denominación siguiente:

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO**

**EFFECTO DE DOS CONCENTRACIONES DE *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff EN EL CONTROL DE *Dione juno* Cramer**

**AUTOR:** Bach. Fernández Arcela Daniel Junior

**Dr. Vargas Linares, Pedro Antonio**

**DNI.19192531**

**Código ORCID: 0000-0002-7823-4371**

**ASESOR**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**  
**FACULTAD DE INGENIERIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONOMA**



**HOJA DE AVAL DEL JURADO EVALUADOR**

El presente trabajo de tesis titulado: “**EFECTO DE DOS CONCENTRACIONES DE *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff EN EL CONTROL DE *Dione juno* Cramer**”, para obtener el título profesional de Ingeniero Agrónomo, presentado por: DANIEL JUNIOR FERNANDEZ ARCELA, que tiene como asesor al DR. PEDRO ANTONIO VARGAS LINARES designado por resolución R.D. N° 477-2018-UNS-CFI. Ha sido revisado y aprobado el día 16 de febrero del 2023, por el siguiente jurado evaluador designado mediante resolución N° 553-2022-UNS-CFI.

**Ms. Pérez Cotrina, José Ismael**  
**PRESIDENTE**

**DNI: 27540418**

**Código ORCID: 0000-0002-3426-5360**

**Ms. Aquino Minchan, Wilmer**  
**SECRETARIO**

**DNI: 27540418**

**Código ORCID: 0000-0002-2624-1174**

**Ms. Perez Poemape, Juan Francisco**  
**ACCESITARIO**

**DNI: 32982336**

**Código ORCID: 0000-0003-0455-1232**



### ACTA DE SUSTENTACIÓN INFORME FINAL DE TESIS

A los dieciséis días del mes de febrero del año dos mil veintitres, siendo las 6:00 p.m. en la Sala de Docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma-FL-UNS, se instaló el Jurado Evaluador designado mediante Resolución N° 553-2022-UNS-CFI, integrado por los docentes: Ms. José Ismael Pérez Cotrina (Presidente), Ms. Wilmer Aquino Minchán (Secretario), Dr. Pedro Antonio Varga Linares (Integrante); quien encontrándose delicado de salud lo asumirá el Accesitario Ms. Juan Francisco Pérez Poémape y de expedito según Resolución Decanal N° 088-2023-UNS-FL, para la sustentación de la Tesis titulada: **"EFECTO DE DOS CONCENTRACIONES DE *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff EN EL CONTROL DE *Dione juno* Cramer"**, perteneciente al bachiller: **FERNÁNDEZ ARCELA DANIEL JUNIOR, con código de matrícula N° 0201215044**, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma, quien es asesorado por el docente: **Dr. Pedro Antonio Vargas Linares**, según R.D. N° 477-2018-UNS-FL.

El Jurado Evaluador, después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Reglamento General de Grados y Títulos, vigente, declaran aprobar:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
FERNÁNDEZ ARCELA DANIEL JUNIOR	16	REGUIAR

Siendo las 6:30 p.m del mismo día, se dio por terminado el acto de sustentación, firmando la presente acta en señal de conformidad.

Nuevo Chimbote, febrero 16 de 2023

  
Ms. José Ismael Pérez Cotrina  
PRESIDENTE

  
Ms. Wilmer Aquino Minchán  
SECRETARIO

  
Ms. Juan Francisco Pérez Poémape  
INTEGRANTE

## **DEDICATORIA**

Dedico mi trabajo de Tesis a mis padres Daniel y Luisa:

Por ser mis mejores amigos y consejeros, y Sembrar en mi, el deseo de superación. Por su inmenso amor, esfuerzo y sacrificio, por su fe en Dios.

**Daniel Junior**

## **AGRADECIMIENTO**

A DIOS TODOPODEROSO: El  
agradecimiento eterno porque su luz me guía  
por caminos seguros, ilumina mis  
pensamientos, me da fuerzas para vencer los  
obstáculos y salir triunfante; y así lograr uno de  
mis anhelos.

Mi profundo agradecimiento a mi asesor, Dr.  
Antonio Vargas Linares y Dr. Daniel  
Sánchez Vaca por su constante apoyo en la  
ejecución y elaboración de este trabajo de  
Tesis.

Daniel Junior

## INDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Formulación del problema .....	2
1.2. Objetivos.....	3
1.3. Formulación de la Hipótesis.....	4
1.4. Justificación.....	4
1.5. Limitaciones del Trabajo .....	4
II. MARCO TEÓRICO .....	6
2.1. ANTECEDENTES.....	6
2.2. MARCO CONCEPTUAL .....	10
2.2.1. Control biológico de plagas.....	10
2.2.2. Los Hongos Entomopatógenos (HE).....	13
2.2.3. Cultivo del Maracuyá <i>Passiflora edulis</i> fv. <i>Flavicarpa</i> .....	25
2.2.4. <i>Dione juno</i> Cramer .....	27
III. MATERIALES Y MÉTODO .....	30
3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	30
3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO Y TRATAMIENTOS ESTUDIADOS. ....	31
3.4. VARIABLES ESTUDIADAS.....	33
3.4.1. Variable Independiente.....	33
3.4.2. Variable Independiente.....	33
3.4.4. Unidad Experimental.....	34
3.5. MÉTODO .....	34
3.5.1. Colecta de Larvas a Nivel de Campo.....	34
3.5.2. Manejo de Larvas a Nivel de Laboratorio. ....	35
3.5.3. Obtención de los Entomopatógenos. ....	35
3.5.4. Preparación de los Tratamientos Para el Experimento .....	36
3.5.5. Aplicación de los Tratamientos .....	37
3.5.6. Técnicas de Evaluación de las Variables. ....	38
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1. RESULTADOS.....	39
4.2. DISCUSIÓN .....	44
4.2.1. Efecto de los Entomopatógenos en la Mortandad de Larvas de <i>Dione juno</i> .....	44
4.2.2. Efecto de los Entomopatógenos en el Control de <i>Dione juno</i> , por Día. ....	46

4.2.3. Determinación de la Mejor Dosis de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y la Mezcla de <i>B. bassiana</i> + <i>M. anisopliae</i> en el Control de <i>D. juno</i> .	48
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
5.1. CONCLUSIONES	50
5.2. RECOMENDACIONES	52
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS Y VIRTUALES	53
ANEXOS	57

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1	32
Tabla 2	39
Tabla 3	39
Tabla 4	41
Tabla 5	42
Tabla 6	42

## INICE DE FIGURAS

Figura 1. Fuentes de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> utilizados en el experimento.	31
Figura 2. Detalle de la distribución de tratamientos utilizados en el experimento.	32
Figura 3. Coleta de larvas de <i>Dione juno</i> Cramer a nivel de campo.	34
Figura 4. Detalles de las jaulas de crianza y tratamiento de las larvas de <i>D. juno</i> .	35
Figura 5. Proceso de pesado de entomopatógenos para la preparación de las mezclas.	36
Figura 6. Titulación de la mezcla de entomopatógenos según dosis estudiada.	37
Figura 7. Entomopatógenos estudiados, contenidos, según dosis, en aspersores de 50 ml.	37
Figura 8. Comparativo del nivel de control de <i>Beauveria Bassiana</i> sobre de <i>D. juno</i> para ambas dosis.	40
Figura 9. Comparativo de los niveles de control de <i>M. anisopliae</i> sobre <i>D. juno</i> , para ambas dosis.	40
Figura 10. Comparativo de los niveles de control de la mezcla <i>B. bassiana</i> + <i>M. anisopliae</i> en el control de <i>D. juno</i> en ambas dosis.	41
Figura 11. Gráfico del análisis de efectos simples del factor entomopatógeno.	43
Figura 12. Gráfico de la interacción de efecto simples del factor dosis.	43



## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 .....	57
Anexo 2 .....	57
Anexo 3 .....	58
Anexo 4 .....	58
Anexo 5 .....	58

## RESUMEN

Esta investigación se realizó en el laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional del Santa, tuvo como objetivo determinar la eficacia de *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Mesthnikoff, y la mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae* a dos dosis en el control de *Dione juno*. Se estudiaron dos dosis: 2 kg y 4 Kg de entomopatogenos / 200 litros de agua, haciendo un total de seis tratamientos. Se empleó el diseño estadístico completo al azar (DCA), bajo arreglo factorial (3x2)., con cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental estuvo constituida por jaulas de vidrio de 25 cm x 10 cm x 15, conteniendo 10 larvas de *Dione juno* Cramer, colectadas de campos de maracuyá. Se evaluó la variable control, con los parámetros % de mortandad de larvas y eficacia, determinándose, asimismo la dosis más adecuada para el control de *Dione juno*. Resaltó en nivel de control de *Beauveria Bassiana*, el cual causó el 82.5% de mortandad de larvas *Dione juno*, siendo la mejor dosis 4 Kg de *B.bassiana* / 200 litros de agua, se encontró que la mortandad de larvas concentró entre los 6 a 8 días después de la aplicación, con 47.5% del total de larvas muertas; asimismo, este entomopatogeno obtuvo performance aceptable con la dosis de 2 Kg de *B. assiana* / 200 litros de agua, el cual causó el 70% de mortandad de larvas de *D. juno*. Con la mezcla de *B. basiana* + *M. anisopliae*, se alcanzó una mortandad del 75%, siendo la mejor dosis 2 Kg de *B. bassiana* +*M. anisopliae*, mezcla que concentro el 82 % del total de mortandad de larvas de *D. juno*, entre los 7 y 14 días después de la aplicación. No se obtuvieron resultados satisfactorios con *M. anisoliae*.

**Palabra clave:** *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, dosis de aplicación.

## ABSTRACT

This research was carried out in the Laboratory of Analytical Chemistry of the Universidad Nacional del Santa, its objective was to determine the efficacy of *Beauveria bassiana* Bálamo and *Metarhizium anisopliae* Mesthnikoff, and the mixture of *B. bassiana* + *M. anisopliae* at two doses in the control of *Dione juno*. Two doses were studied: 2 kg and 4 kg of entomopathogens / 200 liters of water, making a total of six treatments. The complete random statistical design (DCA) was used, under factorial arrangement (3x2), with four repetitions per treatment. The experimental unit consisted of glass cages of 25 cm x 10 cm x 15, containing 10 larvae of *Dione juno* Cramer, collected from passion fruit fields. The control variable was evaluated, with the parameters % mortality of larvae and efficacy, determining, observing the most adequate dose for the control of *Dione juno*. The level of control of *Beauveria Bassiana* stood out, which caused 82.5% mortality of *Dione juno* larvae, the best dose being 4 kg of *B.bassiana* / 200 liters of water, it was found that the mortality of larvae was concentrated between 6 8 days after application, with 47.5% of the total number of dead larvae; Given that this entomopathogen obtained an acceptable yield with a dose of 2 kg of *B. bassiana* / 200 liters of water, which caused 70% mortality of the *D. juno* larvae. With the mixture of *B. basiana* + *M. anisopliae*, a mortality rate of 75% was achieved, the best dose being 2 Kg of *B. bassiana* +*M. anisopliae*, a mixture that concentrated 82% of the total mortality of *D. juno* larvae, between 7 and 14 days after application. Satisfactory results were not obtained with *M. anisoliae*.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, application rate

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo del maracuyá *Passiflora edulis* es un cultivo importante en el Perú; según Sierra y Selva Exportadora (2021) “en el año 2020 se tenía 7,062 hectáreas, con una producción exportable del 80,219 TM”. El valle del Santa es uno de los valles con alto potencial productivo y buena rentabilidad. Sin embargo, la presencia de plagas y su control son retos que deben asumir los productores de maracuyá.

Dentro de las plagas resalta *Dione juno* Cramer, el cual en su estadio larval se alimenta de las hojas y botones florales, causando defoliación, se caracteriza por su hábito gregario, representando un gran riesgo para el cultivo (García, 2002)

El control de las plagas del maracuyá, específicamente de *Dione Juno* Cramer se basa fundamentalmente en el empleo de plaguicidas de síntesis. Estos productos químicos de amplio espectro generan un desequilibrio dentro del ecosistema e incluso puede afectar la calidad e inocuidad de los frutos y afectar la salud de las personas. Los riegos de los plaguicidas químicos por su peligrosidad pueden afectar la salud del ambiente y a las personas y, afectar la inocuidad del fruto, restándole calidad y nivel de competitividad en el mercado destino.

El control biológico de plagas es una alternativa viable para el control de las plagas del maracuyá, específicamente para el control de *Dione juno* Cramer. Dentro de los componentes del control biológico resalta los entomopatógenos, habiéndose probado desde hace mucho tiempo en el control de plagas a nivel mundial.

El uso de hongos entomopatógenos (HE) está muy difundido en el control de plagas, resaltando *Beauveria bassina* y *Metarhizium anisopliae* como los principales HE utilizados con mucho éxito en la supresión de plagas. Existen aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos, y alrededor de 100 géneros (Jiménez, 2009); sin

embargo, a nivel del valle del Santa su uso no está bien difundido, existiendo un alto porcentaje de desconocimiento sobre las bondades y eficacia de los entomopatógenos.

En el marco de la problemática, el presente trabajo de investigación se planteó el objetivo de evaluar la eficacia de los hongos entomopatógenos en el control de *Dione juno cramer* bajo condiciones de laboratorio para su futuro empleo en campo y a dosis efectivas que generen la mortandad de *Dione juno Cramer*.

### **1.1. Formulación del problema**

El cultivo del maracuyá es uno de los cultivos alternativos que se ha incrementado significativamente en el valle del Santa, sin embargo, la presencia de plagas insectiles es uno de los problemas que afronta los productores de este cultivo, resaltando, entre otras plagas, (el defoliador de la hoja) *Dione juno*. La presencia de esta plaga da lugar al empleo de insecticidas de síntesis química de alta toxicidad y residualidad, poniendo en riesgo la inocuidad del producto, afectando también la población benéfica, el ambiente y la salud de las personas involucradas.

El mercado nacional e internacional exige productos inocuos, libre de residuos de plaguicidas y otros contaminantes, por lo que frente a esta situación el manejo integrado de plagas (MIP), con énfasis en el control biológico se constituye como una alternativa para el control de la plaga *Dione juno Cramer*, sin embargo estos métodos de control son poco conocidos por los productores de maracuyá, debido a la falta de promoción y fundamentalmente por la escasa información existente sobre las bondades del control biológico. Se desconoce sobre la existencia de trabajos de investigación realizados para el control biológico de *Dione juno Cramer*, básicamente sobre investigaciones realizadas para el control de esta plaga con el uso de entomopatógenos.

El alto uso de insecticidas de alta toxicidad y el escaso a nulo conocimiento de productores sobre el uso de entomopatógenos, ha generado la necesidad de plantear este trabajo de investigación para obtener conocimientos sobre la eficacia y bondades de estos controladores en la calidad del producto y el respeto al ambiente y la salud de las personas.

Frente a esta realidad nos formulamos la siguiente pregunta:

¿Cuál será el efecto de *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff a dos concentraciones en el control de *Dionejuno* Cramer en condiciones de laboratorio?

## **1.2. Objetivos**

### ***a. Objetivo General***

Determinar la eficacia de los entomopatógenos *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff a dos concentraciones en el control del *Dionejuno* Cramer bajo condiciones de laboratorio.

### ***b. Objetivo Especifico***

- Determinar la mortandad de las larvas de *Dionejuno* Cramer con el uso de *Beauveria basiana* y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff a dos concentraciones.
- Evaluar la eficacia de la interacción de *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff en el control de *Dionejuno* Cramer a dos concentraciones
- Determinar la dosis que ejerce mayor mortandad de larvas de *Dionejuno* Cramer.

### **1.3. Formulación de la Hipótesis**

Existe diferente eficacia entre los entomopatógenos *Beauveria bassiana* Bálamo y *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff a concentraciones diferentes en el control de *Dione juno* Cramer.

### **1.4. Justificación**

El presente proyecto de investigación se justifica porque va a generar conocimiento sobre alternativas de control de *Dione juno* basado en el uso de entomopatógenos como estrategia de control biológico de plagas. Asimismo, porque contribuirá indirectamente a reducir el uso de plaguicidas altamente tóxicos que afectan a la inocuidad de los alimentos, ambiente y la salud de las personas que están en contacto con el uso de los plaguicidas y la que consumen los alimentos tratados con plaguicidas.

Este trabajo de investigación, basa su justificación porque los conocimientos que se generaran beneficiaran directamente a todos los productores dedicados al cultivo de la maracuyá (hospedante principal de *Dione juno*) asimismo a técnicos y profesionales dedicados a la orientación del manejo integrado del cultivo de maracuyá; también servirá como antecedente a la población científica para emprender otras investigaciones relacionadas al presente tema de investigación.

### **1.5. Limitaciones del Trabajo**

Las principales limitaciones que se afrontó durante la investigación fue la escasa disponibilidad de información científica relacionada al control de *Dione juno*; sin

embargo, se ha suplido con la amplia información existentes sobre los entomopatogenos; asimismo una de las limitantes fue la disponibilidad de un laboratorio específico para la ejecución de este trabajo de investigación.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

Tirira, (2022) en su investigación intitulada:

*Beauveria* sp. como agente de control biológico del gusano defoliador *Dione juno andicola* (Bates) en *Passiflora ligularis* (Juss.) a nivel de laboratorio encontró que *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, fue patogénica para larvas en el tercer estadio de vida, alcanzando una mortalidad del 91,97% con una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/ml, ya que a las 72 horas de su aplicación presento capacidad de infección.

Así mismo, Malpartida, Narrea & Dale (2013) estudiaron:

La patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio, en el cual probaron aplicaciones directas de suspensiones de  $10^6$ ,  $10^7$  y  $10^8$  conidios/ml, registrando una mortalidad de larvas de *D. juno* entre 20 y 84% al cuarto día después de la aplicación.

Gil (2017) en su estudio:

Evaluación de dos cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) y una cepa de *Metarhizium anisopliae* (Metsch). En el control de adultos del gorgojo del banano, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera, Curculionidae) bajo condiciones de laboratorio al estudiar encontró que la cepa de *Beauveria bassiana* 26 la que más destaco causando la más alta mortalidad con 82,72% y fue la que más rápido alcanzo el tiempo letal medio con 9.74 días entre los tratamientos. Le

siguió la cepa de *Metarhizium anisopliae*, que tuvo una mortalidad de 58.02% y un tiempo letal medio de 18.45 días.

Llique (2020) en su investigación titulado:

Ensayo de patogenicidad de *Beauveria bassiana* en insectos Scarabaeidae que afectan el arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en Cajamarca, encontró en sus resultados que al tercer día se inicia la mortalidad de larvas, pero sin mostrar diferencias importantes entre tratamientos. A partir del día 18 existe diferencias importantes entre tratamientos.

Chavarry (2015) su investigación titulada:

Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Heliothis virescens*, en condiciones de laboratorio al realizar su estudio encontró que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* tiene efecto entomopatógeno sobre las larvas de *Heliothis virescens*, en condiciones de laboratorio teniendo que *Beauveria bassiana* presenta mayor efecto entomopatógeno sobre las larvas de *Heliothis virescens* al presentar menor porcentaje de supervivencia de larvas inoculadas a la misma concentración de conidias y factores ambientales.

Farias, (2007) en su estudio intitulado:

Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre el gusano defoliador del maracuyá, *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae). Al estudiar encontró que *B. bassiana* y *M. anisopliae* tienen acción patógena sobre la plaga del maracuyá. *M. anisopliae* fue más eficiente en la tasa de mortalidad de las orugas de *Dione*

*juno juno* en relación al tiempo, considerando que *B. bassina* también fue eficiente, pudiendo ser usados en programas de control biológico.

Asimismo, Lloclla, Arellano, Garcia, Maxe, & Vasquez. (2017) en su trabajo de investigación titulado:

Patogenicidad de *Beauveria bassina* (bals) vuill, sobre el gusano barrenador del *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae) en laboratorio. Encontró que la aplicación directa de suspensiones  $10^6$  y  $10^{10}$  conidias /ml registro una mortalidad en las larvas de *Diaphania hyalinata*, entre 19 y 68% al cuarto día. Concluyendo que *Beauveria bassiana* presenta un gran potencial en el control microbiano de *Diaphania hyalinata*.

Bustamante (2019) en su Tesis titulada:

Evaluación de *Beauveria bassiana* en el control biológico de larvas de la polilla *Oidaematophorus espeletiae*, evaluó el grado de virulencia de *Beauveria bassiana* sobre larvas de cuarto instar de la polilla *Oidaematophorus espeletiae*, en condiciones de laboratorio; evaluó tres tratamientos de las concentraciones  $10^6$ ,  $10^7$  y  $10^8$  conidios/ml; los resultados mostraron que el aislamiento de *B. bassiana* fue medianamente virulento a las concentraciones  $10^7$  y  $10^8$  conidios/ml, las cuales no presentaron diferencias significativas entre sí, exhibiendo mortalidades del 60 y 50 % con un TL50 de 6,84 y 9,16 días.

Doberski (1981) (como se cita en Motta y Murcia, 2011), realizó ensayos para determinar el efecto de la humedad y temperatura de hongos entomopatógenos, encontró, que:

*Paecilomyces farinosus* y *Beauveria bassiana* infestaron a temperatura de 2 °C contrario a *Metarhizium anisopliae* que no tiene efectividad por debajo de los 10 °C, concluyendo, asimismo, que los hongos actúan de manera significativa a temperaturas de 15 a 20 °C pero la óptima es de 25 °C, hallando similitud con los resultados de otros investigadores como, Hallsworth y Magan (1999), quienes afirman que los rangos de temperatura para el crecimiento óptimo de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces farinosus* son de 25, 30 y 20 °C, respectivamente.

De igual manera Doberski (1981), (como se cita en Motta y Murcia, 2011), evaluó humedades relativas que variaron desde el 51 al 100%, hallando que “*Paecilomyces farinosus* no tiene efecto en bajas humedades. Los rangos de mayor mortalidad para todos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* fueron observados con las humedades relativas más altas”.

Kaaya (1989), (como se cita en Motta Murcia, 2011), en su investigación, evaluó la efectividad de cuatro hongos entomopatógenos, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces fimosoroseus* y *P. farinosus*, hallando que: “la patogenicidad de los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* generó mortalidad en adultos de *Glossina morsitans morsitans* del 100%, de igual manera halló que los machos son más susceptibles que las hembras a la infestación de los hongos”.

De igual manera Kaaya y Munyinyi (1995) (como se cita en Motta y Murcia, 2011), evaluaron la efectividad de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, en el control de larvas de *Glossina morsitans morsitans* en campo y encontraron que:

Mezclas del hongo en elevadas concentraciones de esporas generan mayor mortalidad larval entre los días 2 a 10 pos infección; *B. bassiana* a una

concentración de  $1,4 \times 10^6$  generó el 97% de mortalidad, mientras que *M. anisopliae* a una concentración de  $2,3 \times 10^6$  ocasionó el 80% de mortalidad.

## **2.2. MARCO CONCEPTUAL**

### **2.2.1. Control biológico de plagas**

Las plagas agrícolas siempre han constituido serios problemas para la producción mundial de alimentos; en este sentido, existen muchos conceptos sobre el término plaga, al respecto Jimenez (2009) lo conceptualiza como: “toda aquella población de insectos que ataca a los cultivos establecidos por los seres humanos y cuyo nivel poblacional sube hasta producir una reducción o anulación del rendimiento del cultivo y pérdidas económicas”.

Por otro lado la FAO a través de la Normas Internacionales de Medidas Fitosanitarias (NIMF) lo define como: “Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales” (CIPF, 2018); concepto aceptable y adoptada por todos los organismos fitosanitarios de todos los países del mundo.

El control de plagas se basa mayormente en el uso de plaguicidas químicos de uso agrícola, cuyas consecuencias ha generado mucha controversia porque afecta los sub sistemas agroecológicos y la salud de las personas y animales; sin embargo, existen métodos naturales de control de plagas, siendo importante el control biológico; en este sentido, Villacide y Corley (2012) indican que: “El control biológico es una práctica muy importante para el manejo de plagas, que consiste en la utilización de organismos vivos para reducir y mantener la abundancia poblacional de una plaga por debajo de los niveles de daño económico”.

“Todo control biológico involucra el uso, de alguna manera de poblaciones de enemigos naturales para reducir poblaciones de plagas a densidades menores, ya sea temporal o permanentemente” (Driesche, 2007).

Por su parte, Pal y Gardener (2006), (como se cita en Vinchira y Moreno, 2019) indican que:

El control biológico o biocontrol, hace referencia al uso de diferentes organismos (o los compuestos o extractos obtenidos de ellos) que solos o en combinación son capaces de disminuir los efectos deletéreos que causa una población patógena sobre el crecimiento y/o productividad de un cultivo.

Asimismo, indican que: “la estrategia de manejo de fitopatógenos con enemigos naturales depende en gran medida de las interacciones que ocurren entre la planta, el patógeno, el organismo biocontrolador y el ambiente en el cual se desarrolla tal interacción” (Vinchira y Moreno, 2019).

Por otra parte, Cisneros (1995) menciona que: “El control biológico es la represión de las plagas mediante sus enemigos naturales; es decir mediante la acción de sus predadores, parásitos y patógenos”.

“En el control biológico de plagas se utilizan insectos parasitoides, depredadores y microorganismos patógenos con la finalidad de disminuir las poblaciones de insectos plaga a un nivel en el que no ocasione daño económico” (Vázquez-Ramírez *et al.*, 2015, como se cita en Hernández, et al 2019).

### **a. Parasitismo.**

“En el proceso de parasitación, el insecto parásito, llamado también parasitoide, deposita sus huevos sobre o dentro del cuerpo del insecto hospedero” (Cisneros, 1995).

Gutierrez, Robles, Santillan, Ortiz y Cambero (2013), afirman que:

Los parasitoides son insectos que en su estado inmaduro son parásitos, generalmente monofagos y que se desarrollan sobre o dentro de un solo individuo huésped se alimentan de sus fluidos corporales, órganos y ocasionan la muerte. Sostienen, asimismo, que la mayoría de los parasitoides atacan a una determinada etapa del ciclo de vida (huevos, larvas, ninfas y adultos) de una o varias especies de hospederos, siendo que el ciclo de vida del parasitoide y hospedero generalmente coinciden, una vez que la larva del parasitoide ocasiona la muerte del hospedero, éste queda en estado momificado y de él emerge el parasitoide para pupar o bien el adulto.

Por otro lado la CIPF (2018), en su NIMF N° 5 de glosarios, define a al parasitoide como: “Un insecto que es parásito solamente durante sus etapas inmaduras, mata a su hospedante en el proceso de su desarrollo y vive libremente en su etapa adulta”

### **b. La Predacion.**

La predación es una interacción ecológica, donde intervienen dos individuos, uno llamado presa y el otro denominado predator; al respecto Gutierrez, Robles, Santillan, Ortiz y Cambero (2013) precisan que:

Los insectos depredadores típicamente son más grandes que los organismos que consumen, a los cuales se les denomina presas, requieren de matar y consumir varios organismos durante su ciclo de vida para realizar funciones esenciales, estos insectos buscan activamente su presa.

En función de la alimentación de los depredadores se pueden clasificar como: Polífagos, aquellos que consumen un amplio rango de especies presa; mientras que a los que se alimentan de un rango más estrecho se les llama Oligófagos; Por otra parte, aquellos que son altamente específicos en su alimentación se les llama Monófagos (Gutierrez, Robles, Santillan, Ortiz , & Cambero, 2013).

Nicholls (2008) (como se cita en Gutierrez, Robles, Santillan, Ortiz y Cambero, 2013), indican que:

Las características principales de los depredadores son: usualmente generalistas y no específicos; de mayor tamaño que su presa; se alimentan de un gran número de individuos; tanto individuos inmaduros como adultos pueden ser depredadores; atacan presas inmaduras y adultas; los depredadores requieren de polen y néctar como recurso alimenticio adicional.

### **2.2.2. Los Hongos Entomopatógenos (HE).**

Según Motta & Murcia (2011), indican que los hongos entomopatógenos son: “Un amplio grupo de microorganismos que proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos. Entre esos está la capacidad de regular las plagas para mantenerlas en niveles adecuados”.



Schrank y Henning (2010), afirman que:

Los hongos entomopatógenos son un sistema viable para el control de plagas de insectos en la agricultura; afirman, asimismo, que en los últimos diez años el uso actual de hongos, principalmente *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, está aumentando alcanzando escala comercial en países como Brasil, China y México entre otros.

Maurer et al., 1997 y Leger et al., 1997 (como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006), indican que:

Los hongos entomopatógenos son de gran importancia dentro de los agroecosistemas por su capacidad natural para regular las poblaciones de insectos, la cual depende de la susceptibilidad del hospedero o de la asociación patógeno-hospedero. Indican, asimismo, que, en este último caso, el insecto hospedero puede ejercer una presión de selección que favorezca a pocos genotipos del patógeno; es decir, hay una selección natural de estos microorganismos en términos de especialización con respecto al hospedero.

Asimismo, se afirma que “los hongos tienen un gran potencial para ser empleados como biocontroladores; entre los principales hongos que presentan estas características están: *Beauveria*, *Metarhizium* y *Paecilomyces*” (Cañedo, 2004).

Muchos autores afirman que los hongos entomopatógenos son los primeros agentes biológicos en ser utilizados para el control de plagas; en este sentido Asaff et al. (2002) (como se cita en Motta y Murcia, 2011), afirman que:

Los entomopatógenos son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos y, que estos microorganismos infectan a los artrópodos directamente, a través de la penetración de la cutícula y ejercen múltiples mecanismos de

acción, confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia.

Muchas de las especies de hongos entomopatógenos tienen un amplio rango de hospederos y son patogénicas de diferentes órdenes de insectos como ejemplos se pueden mencionar *Metarhizium anisopliae*, que ataca ortópteros y homópteros, en general, *Beauveria bassiana*, ataca a coleópteros, lepidópteros y dípteros; *Verticillium lecanii*, áfidos, moscas blancas y tisanópteros, *Paecilomyces spp.*, lepidópteros, coleópteros y ortópteros los cuales, junto con otros Deuteromycetos, tienen gran potencial como agentes de control biológico de plagas (Zimmermann, 1986; como se cita en Carrillo y Blanco, 2009).

Hajek (1997) (como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, & De la Torre (2006), afirma que:

Para que la manifestación epizootica de los hongos entomopatógenos tenga lugar, los factores bióticos y abióticos tienen una enorme influencia. Afirma, que entre los factores abióticos que afectan la viabilidad y la persistencia de los hongos entomopatógenos en el campo se encuentran los rayos ultravioletas, la temperatura, la humedad relativa y los funguicidas. Afirman, asimismo que la susceptibilidad y la relación con los hospederos se relacionan con los nutrientes presentes en los insectos, que son el medio para la propagación, dispersión y persistencia de los hongos.

Hajek (1997) (como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, & De la Torre (2006), afirma también que:

Las esporas de los entomopatógenos tienen requerimientos específicos de agua y temperatura, así como de otros factores ambientales que en conjunto funcionan como inductores para la activación de receptores presentes en el patógeno y que les permiten llevar a cabo el proceso infeccioso sobre el hospedero.

Los hongos entomopatógenos inician su proceso infeccioso en los insectos hospederos cuando las esporas viables son retenidas por contacto en la superficie del integumento, mientras encuentran un espacio propicio para establecer la asociación patógeno-hospedero y formar los túbulos germinales y a veces el apresorio, que facilitarán la invasión del hongo. (Jones, 1994; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006).

Por su parte Carreño (2003) (como se cita en Motta y Murcia, 2011) afirma que: “el mecanismo de acción se divide en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora a la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo; lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto”.

Muchos autores coinciden en afirmar que la facilidad de infestación de los entomopatógenos se debe a las características tanto físicas y químicas que tienen los insectos, compuesto por los carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares que permiten que la germinación mediada por mensajeros se acelere, así como la cubierta mucilaginosa que contribuye a la hidratación de la espora y que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas secretadas por el sistema inmune del insecto. (Motta & Murcia, 2011)

En este mismo sentido, autores como, Leger y Roberts (1997) y Khachatourians (1991), (como se cita en Motta y Murcia, 2011), destacan que:

Durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos; algunos de ellos son nutrimentos pero otros pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento. Sin embargo, los hongos desarrollan una serie de actividades que les permiten evitar este tipo de defensas, tales como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomodulatorias o toxinas fúngicas.

Por otro lado, autores como, Hegedus y Khachatourians, 1995; Khachatourians, 1996, (como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006), manifiestan que:

La germinación de la espora se inicia con el hinchamiento de la misma y que es favorecido por una humedad alta (70% durante 14h); indican, asimismo, que la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto. La hidratación de la espora es favorecida por la acción antidesecante de su cubierta mucilaginosa, que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, secretadas por sistema inmune del insecto.

*“Metarhizium anisopliae* presenta un alto contenido de aminopeptidasas e hidrofobina, las cuales favorecen la acción de enzimas extracelulares sobre la cutícula del insecto” (Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006).

Los cuerpos hifales de los entomopatógenos se encuentran con la capa epidérmica, con su respectiva membrana basal y se diseminan a través del hemocele; invaden diversas estructuras como tejidos musculares, cuerpos

grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico y membrana nuclear. (Deshpande, 1999; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006)

Existen publicaciones que coinciden que los hongos entomopatogenos presentan un sinnúmero de procesos enzimáticos y marcadores proteicos que le permiten causar la infección en los insectos; estas reacciones bioquímicas están gobernadas por enzimas hidrolíticas, como las proteasas, quitinasas, lipasas, quitobiosas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas, que van degradando los componentes cuticulares importantes y proporcionan nutrientes para una mayor proliferación del hongo dentro del insecto. (Leger et al., 1986b; Khan et al., 2003; Huang et al., 2004; Yang et al., 2007; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006); entre las enzimas proteolíticas, las serín proteasas son de un interés especial, debido a que se ha demostrado que se producen durante el primer paso de la infección (Tunlid y Jacksson, 1991; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, & De la Torre, 2006).

Las toxinas son otros grupos importantes para microorganismos parasíticos ya que facilitan la infección por debilitamiento del hospedero. Asimismo, algunas especies de HEP son capaces de producir ácidos orgánicos y algunos de ellos han sido implicados en el proceso infectivo. Se indica, asimismo que se ha reportado la producción de ácido oxálico por *Beauveria spp.*, *L. lecanii*, *P. fumosoroseus* y *M. anisopliae*. Este compuesto se ha sugerido como un elemento que coadyuva a la solubilización de la proteína cuticular (Pucheta-Díaz, 2006, como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez y De la Torre, 2006).

Otro metabolito aislado de *B. bassiana* y *L. lecanii*, conocido como basianólido, mostró tener una fuerte acción insecticida contra larvas de gusanos de seda *Bombix mori*. El HEP *M. anisopliae* produce toxinas llamadas destruxinas que pueden matar insectos. No resulta entonces sorprendente que la producción de destruxinas haya sido relacionada con patogenicidad de estos hongos (Kershaw et al., 1999, como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez y De la Torre, 2006).

En el mismo sentido, Pucheta (2006), (como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez y De la Torre, 2006), afirma que:

Las destruxinas son los compuestos mejor caracterizados, ya que su modo de acción también inhibe la síntesis de ADN, ARN y de proteínas en las células de los insectos. También se reporta que las destruxinas son capaces de inhibir la secreción de fluidos por el tubo de Malpighi en *Schistocerca gregaria* (langosta) y que las destruxinas A, B y E producidas por *M. anisopliae*, mostraron propiedades insecticidas al ser probadas en larvas de *Plutella xylostella*, así como en larvas y adultos de *Phaedon cochleariae*, produciendo un nivel de mortalidad alto en las poblaciones de insectos.

**a. *Beauveria bassiana* Bals vuill.**

Es un hongo deuteromicete que en medio de cultivo específico (PDA), crece formando una estructura algodonosa y polvosa de color blanco conocida como muscardina blanca. Cuando la colonia va envejeciendo se vuelve crema amarillenta. El revés es de color rojizo en el centro cuando está en crecimiento y amarillo alrededor. (Chiriboga, Gomez y Garces, 2015)

***Taxonomía de Beauveria bassiana.***

De acuerdo a Alexopoulos (citado por Acosta, 2016)

Phylum: Ascomycota

División: Deuteromycota

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Monialiaceae

Género: Beauveria

Especie: Bassiana

Nombre científico: *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

***Mecanismo de Acción de Beauveria bassiana.***

Se afirma que *Beauveria bassiana* es un patógeno natural de insectos.

Sus esporas reconocen la cubierta del insecto plaga penetrando en su interior, dentro del cual liberan sustancias que lo digieren y lo destruyen. Si las condiciones ambientales son adecuadas el hongo produce nuevas esporas en el exterior del insecto muerto. Aunque el hongo actúa desde el inicio del tratamiento, su efectividad se observa a partir del 4° día. Este hongo ha sido aislado de más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de cultivos de importancia económica (Alves, 1998, como se cita en Gomez, 2017).

Asimismo, Gómez (2014) menciona que:

Las conidias de *Beauveria bassiana* son las unidades infectivas, penetran al cuerpo del insecto, produciéndole disturbios a nivel digestivo, nervioso, muscular, respiratorio, excretorio, etc.; es decir el insecto se enferma, deja de alimentarse y posteriormente muere. La muerte puede ocurrir a los tres a cinco días, dependiendo de la virulencia del hongo y estadio del insecto.

Arboleda J., Fernando B., Valencia J. (2004), (como se cita en Peteira, et al, 2011), afirman que:

La acción *B. bassiana* sobre el insecto es facilitada principalmente por una gran variedad de metabolitos secundarios producidos a lo largo del proceso de infección. El proceso patogénico se inicia en la cutícula del insecto, con la germinación de los conidios y la producción de hifas invasoras, las cuales penetran los tejidos a través de los intersticios y partes blandas del insecto, dando inicio de esta forma a la actividad enzimática degradativa de la cutícula.

Asimismo, Arboleda J., Fernando B., Valencia J. (2004), (como se cita en Peteira, et al, 2011), afirman que:

Las hifas de *B. bassiana* se ramifican, colonizan y llegan hasta la cavidad hemocélica del insecto, donde se produce una masa micelial por el crecimiento del hongo. En muchos casos, el insecto puede ser colonizado totalmente por el hongo. Además, se liberan toxinas, las cuales están implicadas en el bloqueo del desarrollo fisiológico y pueden causar la muerte del insecto.



Muchos autores señalan que:

Varias especies de hongos entomopatógenos entre ellos *B. bassiana* son capaces de producir ácidos orgánicos y ácido oxálico. Este compuesto ha sido descrito como un factor de virulencia en hongos fito patógenos y, se ha sugerido que puede ser un elemento que coadyuve a la solubilización de la proteína cuticular. (Bidochka y Khachatourians, 1991; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez y De la Torre, 2006).

Asimismo, se indica que:

El primer compuesto de esta naturaleza en ser caracterizado fue la beauvericina, extraída del micelio de *Beauveria bassiana*, la acción insecticida de estos depsipéptidos es específica para ciertos grupos de insectos y su toxicidad se debe a la acción sinérgica de un complejo de compuestos, entre los que se incluye la beauvericina. Otro metabolito aislado de *B. bassiana*, conocido como basianólido, mostró una fuerte acción insecticida tanto por ingestión como por inyección contra larvas de gusanos de seda *Bombix mori*. (Kanaoka et al., 1978; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, & De la Torre, 2006)

Fan et al. (2007) (como se cita en Tellez, Cruz, Mercado, Asaff y Arana, 2009), indican que: “la sobreexpresión del gen que codifica para la quitinasa de *Beauveria bassiana* acelera el proceso de muerte en los insectos en un 23%. De esta manera, se demuestra la importancia de la secreción de estas enzimas hidrolíticas en la virulencia de los hongos entomopatógenos, lo cual pudiera ser una herramienta para la selección de mejores cepas para la formulación de insecticidas biológicos.

***b. Metarhizium anisopliae Meschnikof.***

“Este patógeno ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos órdenes” (Monzon, 2001).

Asimismo, Faria & Wraight, (citado por Acuña, Garcia, Rosas, Lopez, & Sainz, 2015) refiere que:

*Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin como uno de los primeros entornopatógenos empleado como bioinsecticida. Indica, asimismo, que el hongo tiene, un amplio rango de insectos hospederos de distintas órdenes, entre los que figura lepidópteros de importancia agrícola.

Asimismo, Hajek & Leger (citado por Castillo, 2006) menciona que “*Metarhizium anisopliae* está en la naturaleza, en restos de cultivos, estiércol, en el suelo, las plantas, etc., logra buen desarrollo en lugares frescos, húmedos y con poca luminosidad”.

***Taxonomía de Metarhizium anisopliae:*** De acuerdo a Alexopoulos (citado por Acosta, 2016, clasifica:

Phylum: Ascomycota

División: Deuteromycota

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Monaliaceae

Género: *Metarhizium*

Especie: Anisopliae

Nombre científico: *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok.

**Mecanismo de Acción de *Metarhizium anisopliae*.**

Se afirma que:

*Metarhizium anisopliae* presenta un alto contenido de aminopeptidasas e hidrofobina, las cuales favorecen la acción de enzimas extracelulares sobre la cutícula del insecto. Paralelamente, el hongo excreta una gran cantidad de enzimas entre las que se incluyen proteasas, quitinasas, quitobiasas, lipasas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas, que van degradando la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo. (Monzón, 2001, citado por Diaz, Flores, Rodríguez y De la Torre, 2006)

Asimismo, se afirma que:

El proceso de adhesión de la espora a la cutícula del insecto, está mediado por la presencia de moléculas sintetizadas por el hongo denominadas adhesinas.

En el entomopatógeno *Metharizium anisopliae* se ha descrito un tipo de adhesina denominada MAP1 la cual se localiza en la superficie de los conidios

Monzón (2001) (como se cita en Tellez, Cruz, Mercado, Asaff y Arana, 2009), afirma que:

La penetración del hongo entomopatógeno, es posible a la acción combinada de dos mecanismos uno físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por una estructura fúngica denominada haustorio, la cual deforma

primeramente la capa cuticular rompiendo luego las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula; asimismo, indica que el mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo

Leger et al. (1996) (como se cita en Tellez, Cruz, Mercado, Asaff y Arana, 2009), afirman que:

La proteasa Pr1 es considerada un importante factor de virulencia en *Metharizium anisopliae*, la sobreexpresión de esta enzima en el mismo hongo reduce en un 25% el tiempo de muerte en *Manduca sexta*, en comparación con aquellos que fueron infectados con el genotipo silvestre.

### **2.2.3. Cultivo del Maracuyá *Passiflora edulis* fv. Flavicarpa**

García (2010) afirma que:

Brasil es considerado el país de origen específicamente en la región Amazonas. En este país se originan alrededor de 150 y 200 especies de las 465 existentes de *Passiflora*. La especie *Passiflora edulis* (maracuyá morado), a través de una mutación dio origen a la *Passiflora edulis* forma flavicarpa, maracuyá amarillo.

### ***Plagas del Cultivo de Maracuyá***

Según Valarezo, Valarezo, Mendoza, Alvarez y Vasquez (2014) refieren que el cultivo del maracuyá presenta las siguientes plagas:

*Agraulius sp.* Ataca individualmente, afecta plantaciones jóvenes y brotaciones posteriores a la poda, adicionalmente ataca flores y ramas. Su voracidad es mayor en instares avanzados y en épocas secas, dejando las hojas en nervadura.

*Leptoglossus spp* (Chinche patón). Este insecto ataca en estado ninfal como en estado adulto; las ninfas prefieren botones florales y frutos jóvenes mientras que los adultos prefieren hojas, ramas y frutos de cualquier edad.

*Neosilva pendula* (Mosca del botón floral). Las larvas se alimentan en la base interna de las flores, destruyendo órganos reproductivos y provocando la caída de las mismas. Su ocurrencia se incrementa en periodos secos.

*Polyphagotarsonemus latus* (Acaro blanco). Estos ácaros ataca a los brotes, deformaciones de las hojas y nervaduras, terminando las hojas con un bronceado característico, principalmente en el envés, no hay desarrollo del área foliar se reduce el vigor de las plantas y en el número de flores.

*Tetranychus sp* (Acaro rojo). En el envés de las hojas donde desarrollan sus colonias se observa una tela y manchas bronceadas o plateadas, que luego se secan y caen, disminuyendo el área foliar.

**Trips sp.**- son insectos muy pequeños, localizados en preferencia en las yemas terminales, atrofiando el desarrollo normal de la planta.

*Phyllophaga spp.* (Gallina ciega). Las larvas de *Phyllophaga spp* también se alimentan de raíces de maracuyá, siendo mayor su voracidad en el tercer instar, donde pueden eliminar parcial o totalmente la planta.

*Nematodo* (*Meloidogyne* sp.). Poseen en su cavidad bucal un estilete, el cual utilizan para perforar las células de las plantas para su alimentación.

*Dione juno* Cramer. En su estado larval ataca las hojas causando defoliación, incluso ataca botones florales y debido a su hábito gregario (en grupos numerosos) representa un gran riesgo para el cultivo.

#### **2.2.4. *Dione juno* Cramer**

Gallo et al., (2002) refiere que:

*Dione juno* Cramer es una mariposa anaranjada de 60 mm de envergadura teniendo los márgenes exteriores de alas negras. Estas mariposas colocan gran número de huevos (70 a 150) reunidos de color amarillo-rojizo de donde salen las orugas de color negro y con el cuerpo recubierto de espinas y se agrupan; alcanzan 30 mm cuando la larva está bien desarrollada.

García (2002) afirma también que: “El insecto en su estadio larval come las hojas causando defoliación incluido botones florales y debido a su hábito gregario es una plaga clave para el cultivo del maracuyá”.

**a. *Ubicación taxonómica.*** Según Alcantara y Ferrel (2018):

Orden: Lepidóptera

Sub orden: Glossata

Familia: Nymphalidae

Subfamilia: Heliconiinae

Género: *Dione*

Especie: *Dione juno juno* Cramer, 1779.

### ***b. Ciclo Biológico de Dione juno Cramer***

“El periodo de incubación es de 7 días, la fase de mariposa dura 26 días, y el de pupa 12 días, dando un ciclo de aproximadamente 45 días en invierno” (Gallo et al., 2002).

Huevo. - son colocados en forma de hilera o en pequeños grupos, recién ovipositados son de color amarillo brillante, de forma algo semiesférica y en medida que avanza la incubación cambia de hacia una tonalidad café rojiza y café oscuro cuando está próxima a la eclosión. Tiene una duración entre 6 y 7 días (Menace, Belezaca y Lara , 2019).

Larvas. - “En esta etapa el insecto pasa por 5 instares y en todos ellos tiene un comportamiento gregario. Cada estadio dura en un promedio de 4 días, por lo tanto, completa su desarrollo larval entre 19 a 27 días” (Menace et al., 2019)

Pupa. - “En esta fase su duración es de 12 días” (Gallo et al., 2002).

Adulto. – “la fase de adulto mariposa tiene una duración de 26 días (Gallo et al., 2002). Es importante mencionar que luego de tres días de haber salido de la pupa alcanza su madurez sexual e inician el apareamiento” (Menace et al., 2019).

### ***c. Daño de Dione juno Cramer***

“El insecto en sus estadios larvales devora las hojas causando gran defoliación del cultivo, incluido botones florales y debido a su hábito colectivo es una plaga clave representado inseguridad para el cultivo de maracuyá” (García, 2002).

**d. Control de *Dione juno* Cramer**

Gallo et al. (2002) menciona algunas recomendaciones para su control:

**Control Cultural.** En cultivos pequeños recomienda la recolección manual de huevos y orugas, ya que están agrupadas.

**Control Biológico.** Puede ser utilizado *Bacillus thuringensis* y *Baculovirus* (NPV) específico aplicándose en este caso, 80 orugas/Ha, en la pulverización.

**Control Químico.** En cultivos extensivos recomienda aplicación de insecticidas fosforados, carbamatos, piretroides o reguladores de crecimiento, de acción de contacto y potencia residual corta.



### III. MATERIALES Y MÉTODO

#### 3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.

El experimento se realizó en los ambientes del Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional del Santa; ubicado en el Campus I, distrito de Nuevo Chimbote, provincia del Santa –Ancash.

#### 3.2. MATERIALES

##### *a. Material Biológico*

- Larvas de *Dione juno* Cramer 2do estadio (280)
- Hojas de maracuyá.
- YURAK (*Beauveria bassiana*)  $1.5 \times 10^9$  conidios/g
- METARIZO (*Metarizhium anisopliae*)  $1.5 \times 10^9$  conidios/g
- Extravon adherente humectante
- Agua destilada 1L

##### *b. Equipos*

- Matraz
- Vasos de Precipitado
- Pinceta
- Pipetas
- Micropipetas
- Balanza electrónica
- Placas Petri (28)

- Pulverizador de 50ml
- Libreta de apuntes
- Envases de plástico de 250cc (28)
- Jaula de vidrio



Figura 1. Fuentes de *B. bassiana* y *M. anisopliae* utilizados en el experimento.

### 3.3. DISEÑO ESTADÍSTICO Y TRATAMIENTOS ESTUDIADOS.

Para el desarrollo del experimento se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial 3 x 2, con cuatro repeticiones.

Se estudiaron seis (6) tratamientos más un testigo. Cada tratamiento se distribuyó en forma al azar en el DCA. Se estudiaron el efecto de dos entomopatógenos aplicados a dos dosis.

T1R1	T2R1	T3R1	T4R1	T5R1	T6R1	Testigo
T2R2	T1R2	T4R2	T3R2	Testigo	T5R2	T6R2
Testigo	T5R3	T6R3	T1R3	T4R3	T3R3	T2R3
T3R4	Testigo	T1R4	T5R4	T6R4	T2R4	T4R4

Figura 2. Detalle de la distribución de tratamientos utilizados en el experimento.

Tabla 1

Detalle de los tratamientos estudiados en la investigación.

Tratamiento	Clave	Descripción
Testigo	Testigo	Blanco
T1	e1d1	<i>Beauveria bassiana</i> a 2kg/200L
T2	e1d2	<i>Beauveria bassiana</i> a 4kg/200L
T3	e2d1	<i>Metarhizium anisopliae</i> a 2kg/200L
T4	e2d2	<i>Metarhizium anisopliae</i> a 4kg/200L
T5	e3d1	<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i> a 2kg/200L
T6	e3d2	<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i> a 4kg/200L

### 3.4. VARIABLES ESTUDIADAS

#### 3.4.1. Variable Independiente

Entomopatógenos (E) con tres factores.

- *Beauveria bassiana* (e1)
- *Metarhizium anisopliae* (e2)
- *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* (e3)

Dosis (D), con dos factores

- Dosis 1 (d1): 2 Kg / 200 litros de agua
- Dosis 2 (d2): 4 kg / 200 litros de agua

#### 3.4.2. Variable Independiente

Control:

- % de mortandad
- Eficacia

#### 3.4.3. Población y Muestra

**Población:**

- Población: Larvas de *Dione juno* Cramer, de plantaciones de maracuyá.

**Muestra:**

- 280 larvas de *Dione juno* Cramer.

### 3.4.4. Unidad Experimental

La unidad experimental estuvo constituida por una jaula de vidrio de 25 X 10X15 cm, conteniendo 10 larvas de *Dione juno* Cramer.

## 3.5. MÉTODO

### 3.5.1. Colecta de Larvas a Nivel de Campo

Antes del experimento se colectaron larvas del segundo estadio de *Dione juno* Cramer.

La colección se realizó del cultivo de maracuyá del sector Pampa La Carbonera, Nuevo Chimbote, irrigación CHINECAS. Las larvas se colectaron haciendo uso de una pinza entomológica, las cuales fueron depositadas en tapers de plástico de 250ml donde se mantuvieron hasta completar la cantidad de 280 individuos, necesarios para la realización del experimento.



Figura 3. Colecta de larvas de *Dione juno* Cramer a nivel de campo.

*A: Larvas de Dione juno Cramer en hojas de maracuyá; B larvas de colocadas en taper.*

### 3.5.2. Manejo de Larvas a Nivel de Laboratorio.

Las larvas colectadas en campo fueron evaluadas previamente, para observar posible parasitismo o larvas con posible enfermedad. Todas las larvas mostraron gran actividad y vivacidad.

Las larvas se ubicaron, en número de 10, en jaulas de vidrio de 25 cm de largo x 10 cm de ancho x 15 cm de alto; estas jaulas se taparon con una malla antiafida. Las larvas fueron alimentadas con hojas frescas de maracuyá, lavadas con agua y secadas previamente. La alimentación se suministró hasta el 13<sup>avo</sup> día después del enjaulado.



*Figura 4. Detalles de las jaulas de crianza y tratamiento de las larvas de D. juno.*

#### **Obtención de los Entomopatogenos.**

Para el tratamiento con *Beauveria bassiana* se utilizó el producto comercial YURAK PM, con  $1.5 \times 10^9$  conidios / gramo.

El hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* se obtuvo del producto comercial METARIZO PM, con  $1.5 \times 10^9$  conidios /gramo.

### 3.5.3. Preparación de los Tratamientos Para el Experimento

La preparación de los entomopatógenos utilizados en el experimento se realizó en el laboratorio de Química Analítica de la UNS; el pesado y la elaboración de la mezcla se realizó en la cámara de flujo del laboratorio, para lo cual se utilizó un fiola de 500 ml y una balanza analítica debidamente desinfectada, e incluso se desinfectó el espacio con alcohol al 90%. Las muestras se pesaron de acuerdo a la dosis propuesta para el experimento, luego por separado y de acuerdo a las dosis respectivas, se adicionaron en un matraz aforado a 100ml de agua destilada, aplicó el adherente y se agitó hasta hacer una mezcla homogénea .



*A: Pesado de los entomopatógenos en balanza analítica; B: mezcla de los entomopatógenos y titulación con agua destilada.*

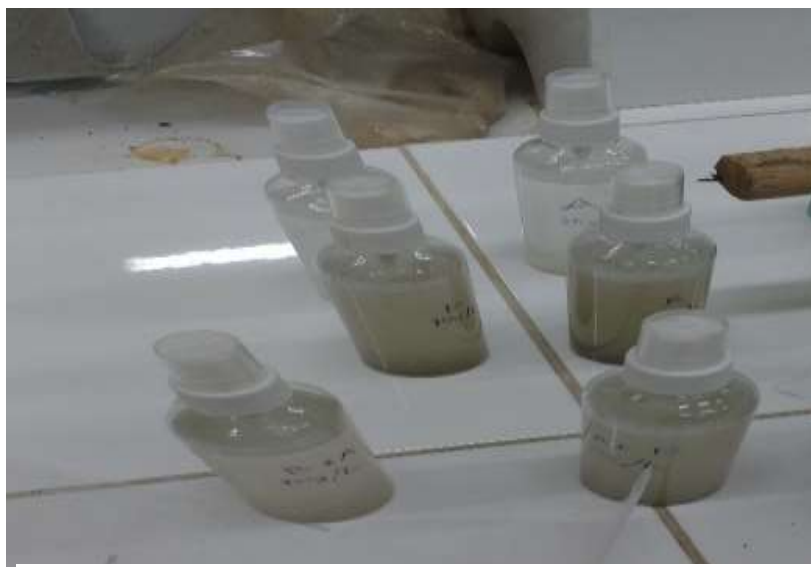


*Figura 6. Titulación de la mezcla de entomopatogenos según dosis estudiada.*

A: Ubicación de entomopatogenos en fiola 500 ml. B: Empleo de micropipeta

#### **3.5.4. Aplicación de los Tratamientos**

La aplicación de los tratamientos se realizó una sola vez, a la dosis establecida para cada tratamiento; las aplicaciones se realizaron con aspersores de mano, de 50 ml de capacidad (Figura 7).



*Figura 7. Entomopatogenos estudiados, contenidos, según dosis, en aspersores de 50 ml.*



### **3.5.5. Manejo de larvas muertas.**

Las larvas de *D. juno* muertas en las jaulas fueron sometidas a cámara húmeda, para ello se lavaron previamente con una solución de hipoclorito de sodio al 5%, para posteriormente lavarlas con agua destilada, secadas y puestas en cámara húmeda para estimular la esporulación de los entomopatógenos, que sirvió para confirmar la mortandad de larvas de *D. juno* por efecto de los entomopatógenos.

### **3.5.6. Técnicas de Evaluación de las Variables.**

Los datos obtenidos fueron ordenados haciendo uso del programa Excel, para ser procesados, posteriormente, en el programa informático IBM SPSS Statistics, versión 25.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

En este acápite se presentan los resultados obtenidos después del experimento; asimismo se presenta el resultado del análisis de varianza y las pruebas múltiples respectivos.

Tabla 2.

*Resultados finales de mortandad de larvas de Dione juno Cramer por tratamiento*

Factor entomopatógeno	e1		e2		e3		Testigo
Factor Dosis	d1	d2	d1	d2	d1	d2	d1
1	8	9	3	7	8	7	0
2	7	8	4	7	8	7	0
3	7	8	4	6	7	6	0
4	6	8	3	6	7	6	0
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>33</b>	<b>14</b>	<b>26</b>	<b>30</b>	<b>26</b>	<b>0</b>

Tabla 3

*Eficacia de control por tratamiento (%).*

Factor entomopatógeno	e1		e2		e3		Testigo (T)
Factor Dosis	d1	d2	d1	d2	d1	d2	
1	80	90	30	70	80	70	0
2	70	80	40	70	80	70	0
3	70	80	40	60	70	60	0
4	60	80	30	60	70	60	0
<b>Promedio</b>	<b>70</b>	<b>82.5</b>	<b>35</b>	<b>65</b>	<b>75</b>	<b>65</b>	<b>0</b>

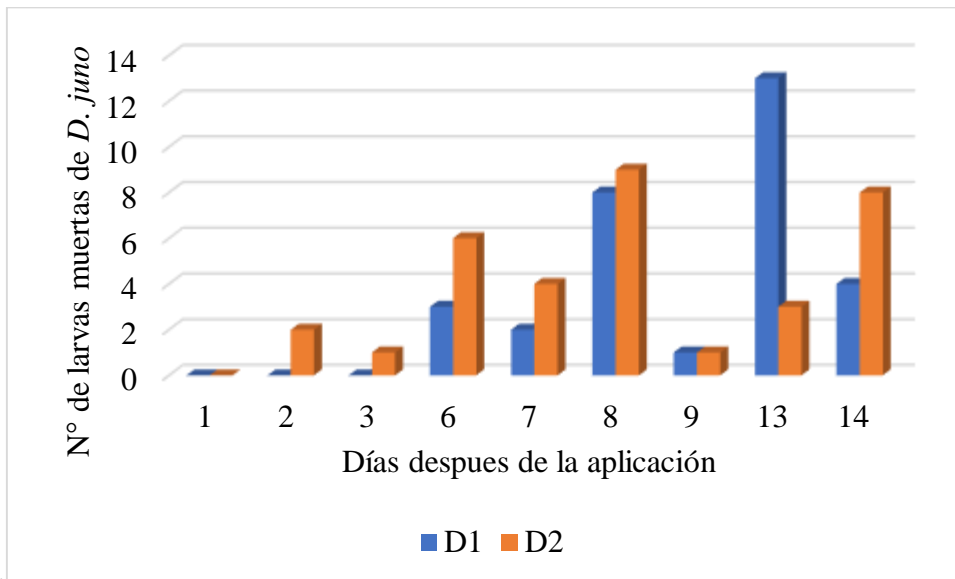


Figura 8. Comparativo del nivel de control de *Beauveria Bassiana* sobre de *D. juno* para ambas dosis.

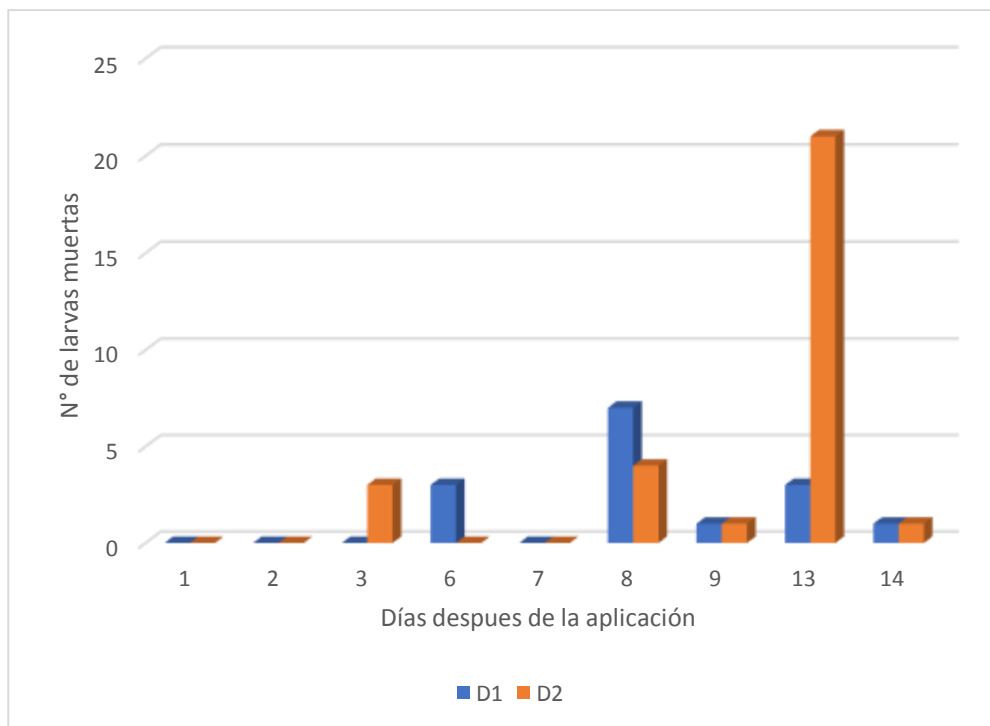


Figura 9. Comparativo de los niveles de control de *M. anisopliae* sobre *D. juno*, para ambas dosis.

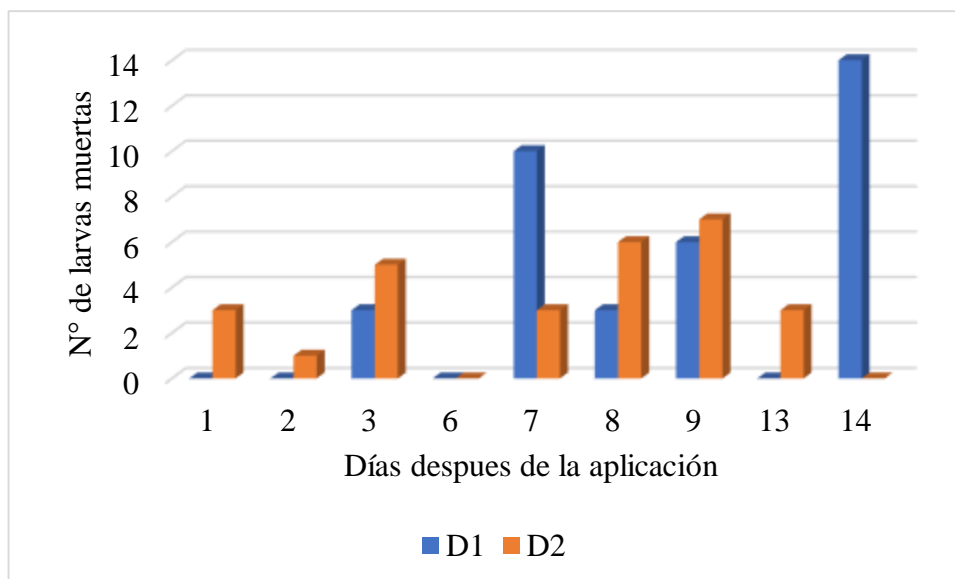


Figura 10. Comparativo de los niveles de control de la mezcla *B. bassiana* + *M. anisopliae* en el control de *D. juno* en ambas dosis.

Tabla 4

Análisis de varianza para los tratamientos y la interacción de los factores.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Control					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	1080,250 <sup>a</sup>	6	180,042	480,111	,000
Entomopat	30,083	2	15,042	40,111	,000
Dosis	7,042	1	7,042	18,778	,000
Entomopat * Dosis	16,083	2	8,042	21,444	,000
Error	6,750	18	,375		
Total	1087,000	24			

a. R al cuadrado = ,994 (R al cuadrado ajustada = ,992)

Tabla 5

Comparaciones múltiples entre tratamientos.

Variable dependiente: Control

HSD Tukey

(I) Entomopat	(J) Entomopat	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<i>Beauveria</i>	<i>Metarhiz</i>	2,6250*	,30619	,000	1,8436	3,4064
	<i>Beauv/Metarh yzium</i>	,6250	,30619	,131	-,1564	1,4064
<i>Metarhizium</i>	<i>Beauv</i>	-2,6250*	,30619	,000	-3,4064	-1,8436
	<i>Beauv/Metarh yzium</i>	-2,0000*	,30619	,000	-2,7814	-1,2186
<i>Beauveria/Metarhizium</i>	<i>Beauv</i>	-,6250	,30619	,131	-1,4064	,1564
	<i>Metarhiz</i>	2,0000*	,30619	,000	1,2186	2,7814

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Tabla 6

Prueba múltiple de Tukey.

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

	Subconjunto		
Entomopat	N	1	2
Metarhizium	8	5,00	
Beauv /Metarhizium	8		7,00
Beauveria	8		7,63
Sig.		1,00	,131

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

b. Alfa = .05.

Figura 12. Gráfico de la interacción de efecto simples del factor dosis.

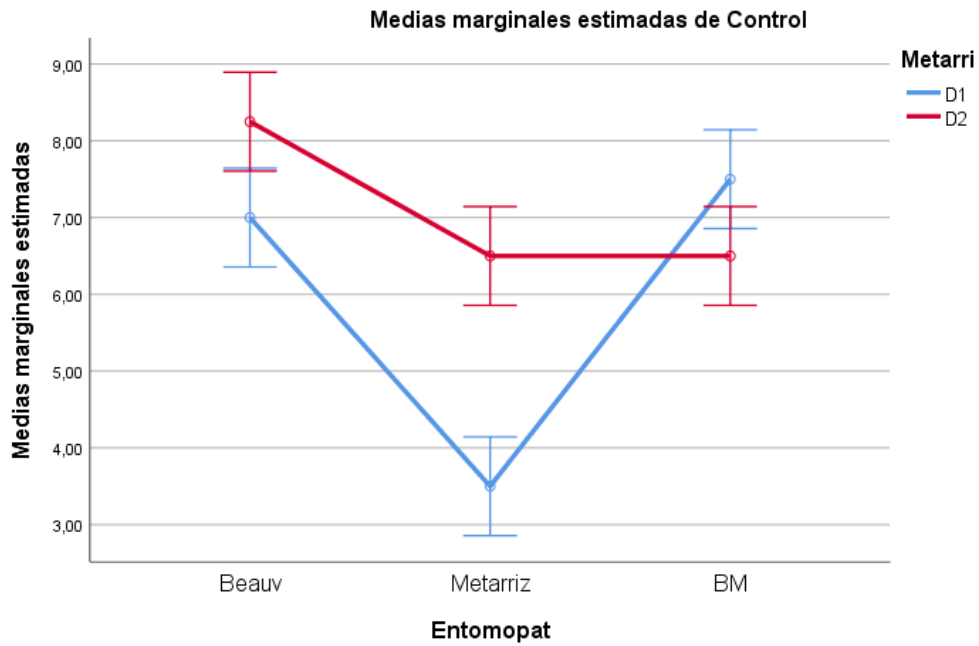
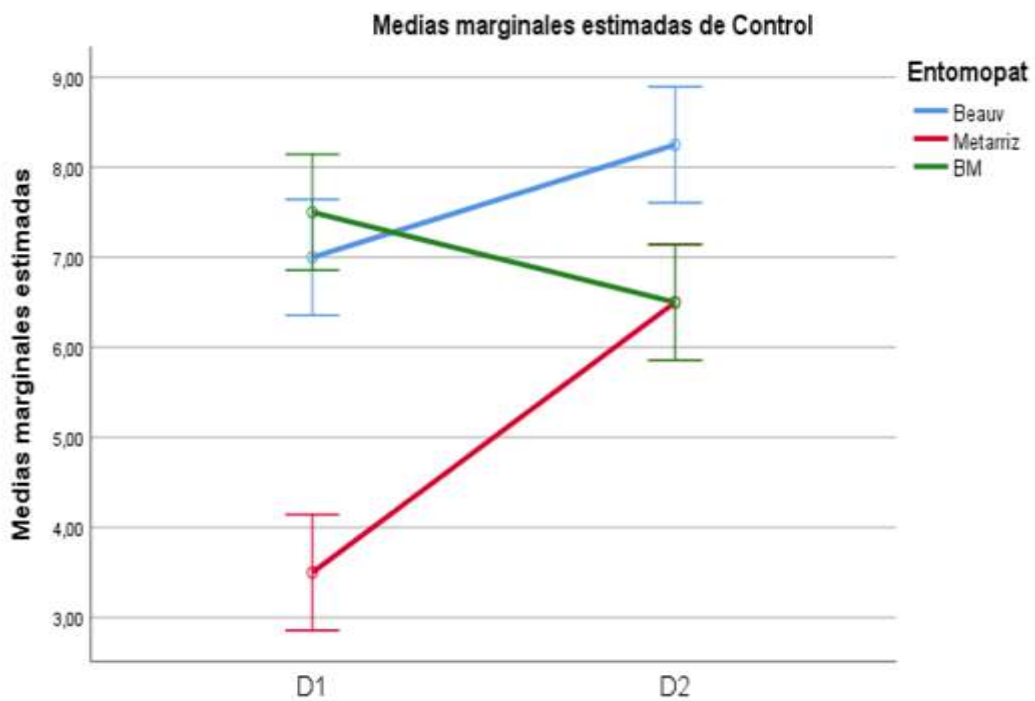


Figura 11. Gráfico del análisis de efectos simples del factor entomopatológico.



## 4.2. DISCUSIÓN

### 4.2.1. Efecto de los Entomopatogenos en la Mortandad de Larvas de *Dione juno*

En la Tabla 2 se presenta los resultados finales de la mortandad total por tratamientos, se observa que el tratamiento T2 (*Beuveria bassiana* a una dosis de 4 kg/200 litros de agua), presentó mejor respuesta al control de larvas de *Dione juno* Cramer, con un total de 33 larvas muertas, lo que equivale a un porcentaje promedio de 82.5% de eficacia en el control (Tabla 3), superando a todos los tratamientos; asimismo, se observa que el tratamiento T5 (*Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*, a una dosis de 2 Kg/200 litros de agua) se ubicó en el segundo lugar, con un total de 30 larvas muertas, lo que equivale al 75% de mortandad (Tabla 3).

Resultados que se asemejan a los de Tirira (2022) en la que reporta una mortalidad de 91,97%, mientras que Malpartida, Narrea y Dale (2013) obtuvieron un 84% de mortalidad del gusano defoliador del maracuyá.

De igual modo, en la Tabla 2, se observa que el tratamiento T1 (*Beauveria bassiana* a 2 Kg/200 litros de agua) alcanzó un resultado expectante, con un total 28 larvas muertas, lo que equivale al 70% de eficacia de control. Asimismo, se aprecia que con el tratamiento T3 (*M. anisopliae* /*B. bassiana* a 2 Kg/200 litros de agua), se alcanzó el menor número de larvas muertas, con 14 larvas muertas, equivale al 35% (Tabla 3).

En la Tabla 2, se aprecia, asimismo, que los tratamientos T4 (*Metarhizium anisopliae* una dosis de 4 Kg/200 litros de agua) y el T6 (*B. bassina* + *M. anisopliae* a 4 Kg/200 litros de agua), ocupan el tercer lugar, con un total de 26 larvas muertas, por cada tratamiento, lo que equivale al 65% de mortandad de larvas respectivamente (Tabla 3).

En relación a los resultados de mayor mortandad y mejor eficacia obtenidos en el tratamiento T2 (*Beuveria bassiana* a una dosis de 4 kg/200 litros de agua), se puede explicar por la mayor concentración de esporas infectivas; explicándose, asimismo, por el mayor éxito en la solubilización de la cutícula e ingreso del entomopatógeno al hemocele del insecto, donde probablemente actuaron mayor concentración de enzimas proteolíticas y mayor ataque con las toxinas, siendo probablemente la beauvericina, por su acción virulenta, tal como lo indica Kanaoka et al., 1978; como se cita en Díaz, Flores, Rodríguez, y De la Torre, 2006.

Se realizó un análisis de varianza, con los resultados de mortandad obtenidos en cada uno de los tratamientos (Tabla 4), a un nivel de confianza de 5% ( $\alpha = 0.05$ ) se determinó la existencia de diferencias estadísticas a nivel de entomopatógenos, dosis y a nivel de la interacción entomopatógeno/dosis. Los resultados del ANOVA sugieren que existen diferencias entre los entomopatógenos estudiados (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* / *M. anisopliae*) el nivel de control de *Dione juno*.

Por otro lado, la significancia estadística encontrada para la interacción *B. bassiana* / *M. anisopliae*, sugiere que ambos entomopatógenos interactúan entre sí para el control de *Dione juno*; sin embargo, no nos indica cuál de ellos es el mejor para el control.

Los resultados de la prueba múltiple de Tukey (Tabla 5), nos sugiere la existencia de diferencias estadísticas en el nivel de control de larvas de *Dione juno*, entre *B. bassiana* y *M. anisopliae*; apreciándose, asimismo, que no existe diferencia estadística entre *B. bassiana* y la mezcla de *B. bassiana* / *M. anisopliae*; afirmaciones que se comprueban con la prueba de Tukey (Tabla 6), donde se aprecia que *B. bassiana* supera



estadísticamente a *M. anisopliae* en el control de larvas de *Dione juno*, pero presenta similares resultados estadísticos con la mezcla de *B. bassiana* / *M. anisopliae*.

En este mismo sentido, en la Tabla 5, se aprecia la existencia de diferencias estadística entre *M. anisopliae* y la mezcla de *B. bassiana* / *M. anisopliae* en el control de larvas de *D. juno*; resultado que se confirma con la prueba de Tukey de la Tabla 6, donde la mezcla de *B. bassiana* / *M. anisopliae* presentó mejor performance que *M. anisopliae* para el control de larvas de *D. juno*.

#### **4.2.2. Efecto de los Entomopatogenos en el Control de *Dione juno*, por Dia.**

En la Figura 8 se presenta la mortandad de larvas de *D. juno* con la aplicación de *B. bassiana*, para ambas dosis; se aprecia que con la dosis D2 (4 kg de *B. bassiana*/200 litros de agua), la mortandad de larvas empezó a los 2 días despues de la aplicación (DDA), con el 5% de larvas muertas, para luego subir el nivel de control a los 6 DDA, con un 15% de mortandad; alcanzando el mejor nivel de control a los 8 y 14 DDA, con 22.5% y 20 %, respectivamente; estos resultados sugiere que la mayor mortandad se concentra entre los días 6 a 8 DDA con un 47.5% de mortandad. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Malpartida, Narrea y Dale (2013) donde registraron una mortalidad en las larvas de *D. juno*, al cuarto día alcanzando entre 20% y 84%, estableciendo que *Beauveria bassiana* tiene un gran potencial como controlador biológico sobre el gusano defoliador de maracuyá.

En el mismo sentido, la dosis D1 (2kg *B. bassiana*/200 litros de agua), para el mismo entomopatogeno, empezó la mortandad a los 6 DDA, con 7.5% de mortandad de larvas, para luego incrementar el control de larvas a los 8 y 13 DDA, con 20% y 32.5% de

mortandad de larvas, respectivamente; siendo a los 13 días el mejor nivel de control de larvas de *D. juno*. Los resultados presentados en la Figura 1, para la dosis D1, sugiere que la mortandad de larvas se concentra entre los días 8 hasta el día 14 DDA, con el 65% de mortandad de larvas.

En la Figura 9 se presenta un comparativo de los niveles de control de larvas de *D. juno*, por *M. anisopliae*, para las dosis D1 y dosis D2, apreciándose que la dosis D2 presento mejor performance en el control de larvas de la plaga, empezando el control a los 3 DDA, con 7.5% de mortandad de larvas de *D. juno*; alcanzando el máximo nivel de control a los 13 DDA, con 52.5% de mortandad; asimismo, se aprecia que con la dosis D1, *M. anisopliae* empezó un nivel de control a los 6 DDA, con el 7.5% de mortandad de larvas; siendo su mejor nivel a los 8 DDA, con 17.5% de mortandad. Los resultados de la Figura 9 nos sugiere que *M. anisopliae*, presento mejor nivel de control con la dosis D2, sugiere, asimismo, que el mejor nivel de control de larvas de *D. juno* se obtiene a los 13 DDA, con 52.5% de mortandad. Semejante a los resultados obtenidos por Gil (2017) que tras los tratamientos con *Metarhizium anisopliae*, generó una mortalidad de 58.02% y un tiempo letal medio de 18.45 días.

Al realizar el comparativo del nivel de control de la mezcla *B. bassiana* + *M. anisopliae*, para las dosis D1 y D2 (Figura 10), se encontró que la mezcla de ambos entomopatogenos a la dosis D1 empezó la mortandad a los 3 DDA, con un 7.5 % de larvas muertas; alcanzando el mayor porcentaje de mortandad a los 7 y 14 DDA, con el 25% y 35 % respectivamente. Los resultados de la Figura 10 nos sugiere que a la dosis D1, la mortandad de larvas de *D. juno* se centra en el lapso de los 7 a los 14 DDA, donde suma un total de 82.5% de mortandad de larvas.

Del mismo modo, en la Figura 10 se aprecia que la mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae*, a la dosis D2, empezó la mortandad de larvas al día 1 DDA, con un 7.5 % de larvas muertas, seguido del día 2 y 3 DDA, alcanzando el 2.5% y 12.5% de mortandad, respectivamente. Con la dosis D2, mezcla de entomopatógenos, alcanzó su mejor nivel de control en el día 9 DDA, con 17.5% de mortandad. Los resultados de la Figura 10, sugieren, también que la mayor mortandad se centra entre los días 7 a 13 DDA, alcanzando un 47.5%. Los resultados sugieren que la mezcla de *B. bassiana* / *M. anisopliae*, tiene mejor respuesta a la dosis D1 (2 kg de *B. bassiana* + *M. anisopliae* / 200 L de agua).

#### **4.2.3. Determinación de la Mejor Dosis de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y la Mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae* en el Control de *D. juno*.**

El análisis de varianza (ANOVA), tuvo como resultado alta significancia estadística para los factores entomopatógeno y dosis; asimismo se encontró significancia estadística para la interacción entomopatógeno x dosis (Tabla 4).

Con los resultados del ANOVA, se realizó el análisis de los efectos simples, obteniéndose como resultado diferencias entre el factor entomopatógeno x dosis, lo que sugiere la existencia de diferencias en la respuesta de los entomopatógenos en el control de larvas de *D. juno* aplicados a dosis diferentes.

En la Figura 12 se aprecia que *B. bassiana*, responde mejor en el control de larvas de *D. juno* a la dosis de 4 kg/200 litros. de agua (D2), como se aprecia, asimismo en la Figura 11; al igual que *M. anisopliae*, que también tuvo mejor respuesta a la dosis D2, en relación a la dosis D1. En este mismo sentido, en la Figura 12 se aprecia también, que la mezcla *B. bassiana* + *M. anisopliae*, responde mejor a la dosis D1 (2 kg/200 L

de agua), como se observa también en la Figura 11, sugiriendo que esta mezcla de entomopatogenos causa mayor mortandad de larvas a esta dosis.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- Se encontró que la mejor dosis fue del entomopatógeno *Beuveria bassiana*, presentó mejor respuesta en control de larvas de *Dione juno* Cramer, con un promedio porcentual de 82.5% de eficacia, en la dosis 2 (4 kg/200 litros de agua), y 70 % con la dosis 1 (2 kg/200 litros de agua).
- La mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae*, alcanzó (T5), alcanzó el 75% de eficacia en el control de larvas de *Dione juno* Cramer en la dosis D1 (2 kg/200 litros de agua) y un 65% de eficacia a la dosis D2 (4 kg/200 litros de agua), por lo se concluye que los resultados aún son satisfactorios.
- No se encontraron resultados satisfactorios de *M. anisopliae* en el control de larvas de *Dione Juno* Cramer, por haber alcanzado tan solo entre 35% y 65% de eficacia en la mortandad de larvas de *Dione juno* Cramer para las dosis de 2 y 4 kilos/200 litros de agua, respectivamente.
- El mayor porcentaje de mortandad de larvas de *Dione juno* Cramer se alcanzó a los 8 días después de la aplicación de *Beauveria bassiana*, con 22.5% de mortandad; se encontró, asimismo, que el 47.5% de mortandad de larvas se logra entre los 6 a 8 días después de la aplicación.
- *M. anisopliae*, presentó mejor nivel de control de larvas de *D. juno* a los 13 DDA, con 52.5% de mortandad, con la dosis D2.
- La mezcla *B. bassiana* + *M. anisopliae*, aplicado a la dosis D1 (2 kg/200 litros de agua) alcanzó el mayor porcentaje de eficacia a los 14 días después de la aplicación; concentrando una alta eficacia entre los 7 a 14 DDA, con un total de 82.5% de mortandad de larvas.

- Se encontró que la mejor dosis fue de *B. bassiana*, tiene mayor eficacia en el control de larvas de *Dione juno* Cramer, en la dosis D2 (4 kg de *B. bassiana* / 200 litros de agua) al igual que *M. anisopliae* que también tuvo mejor eficacia a la dosis D2; pero los resultados de este último no son satisfactorios.
- Se encontró que la mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae*, tiene mejor eficacia en el control de larvas de *D. juno* Cramer, con la dosis D1 (2 kg de *B. bassiana* + *M. anisopliae*).

## 5.2. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda realizar la investigación a nivel de campo, utilizando *Beauveria bassiana* a la dosis de 2 y kg de *B. bassiana*/ 200 litros de agua respectivamente, por haberse encontrado mejores resultados a nivel de gabinete.
- Se recomienda, asimismo, realizar investigación a nivel de campo con la mezcla de *B. bassiana* + *M. anisopliae* a la dosis de 2 kg/ 200 litros de agua, por haberse encontrado mejores resultados a nivel de gabinete.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y VIRTUALES

- Acosta, J. (2016). *EVALUACION DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS COMO CONTROLADORES BIOLÓGICOS DE Scutigereella immaculata* . Bogota-Colombia.
- Acuña, M., Garcia, C., Rosas, N., Lopez, M., & Sainz, J. (2015). *Formulación de Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra Heliothis virescens (Fabricius)*. Sinaloa-Mexico.
- Alcantara, Y., & Ferrel, A. (2018). *Determinacion de los insectos plaga en el cultivo de Passiflora ligularis Juss, "granadilla", en Coina, Otuzco, La Libertad, Abril-Setiembre, 2018*. Trujillo-Peru.
- Bustamante, R. (2019). *Evaluación de Beauveria bassiana en el control biológico de arvas de la polilla Oidaematophorus espeletiae*. Bogotá: Universidad de Lasalle. Obtenido de <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1062&context=biologia>
- Cañedo, A. (2004). *MANUAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS*. Lima-Peru.
- Carrillo, M., & Blanco, A. (2009). Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. *Revista Acta Universitaria*, 19(2), 40-49. doi:<http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/1007>
- Castillo, S. (2006). *Uso de Metarhizium anisopliae para el control biológico del salivazo*. Turrialba - Costa Rica.
- Chavarry, M. (2015). *Efecto de Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae sobre larvas de Heliothis virescens, en condiciones de laboratorio*. Trujillo-Peru.
- Chiriboga, H., Gomez, G., & Garces, K. (2015). *BEAUVERIA BASSIANA, HONGO ENTOMOPATOGENO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE HORMIGAS CORTADORAS (YSAU)*. Asuncion-Paraguay.
- CIPF. (2018). *Normas Internacionales para Medidas Fitosanitaria*. Obtenido de [www.fao.org/publications/es](http://www.fao.org/publications/es):  
[https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2018/07/ISPM\\_05\\_2018\\_Es\\_2018-07-10\\_PostCPM13.pdf](https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2018/07/ISPM_05_2018_Es_2018-07-10_PostCPM13.pdf)
- Cisneros, F. (1995). *Control de Plagas Agrícolas*. Lima-Peru.



- Díaz, M., Flores, A., Rodríguez, S., & De la Torre, M. (2006). Mecanismo de Acción de los Hongos Entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856-860.
- Driesche, R. (2007). *CONTROL DE PLAGAS Y MALEZAS POR ENEMIGOS NATURALES*. Massachusetts-USA.
- Farias, D. (2007). *PATOGENECIDAD DE Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. y Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin SOBRE EL GUSANO DEFOLIADOR DEL MARACUYA, Dione juno juno (Cramer) (LEPIDOPTERA: NYNPHALIDAE)*. Recife- Brasil.
- Gallo, D., Nakano, O., Silveira, S., Lima, R., Baptista, G., Berti, E., . . . Omoto, C. (2002). *ENTOMOLOGIA AGRICOLA*. Piracicaba-Brasil.
- García, M. (2010). *Guía técnica del cultivo de la maracuya*. El Salvador.
- García, M. (2002). *Guía Técnica CULTIVO DE Maracuya Amarillo*. Arce- El Salvador.
- Gil, J. (2017). *Evaluación de dos cepas de Beauveria bassiana (Bals.) y una cepa de Metarhizium anisopliae (Metsch.) en el control de adultos del gorgojo del banano, cosmopolites sordidus (Coleoptera, Curculionidae) bajo condiciones de laboratorio*. Trujillo- Peru.
- Gómez, H. (2014). *Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin Cepa CCB-LE265*. Lima-Peru.
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E., & Tenorio, M. (2014). *MANUAL DE PRODUCCIÓN Y USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS*. Lima-Peru.
- Gutiérrez, A., Robles, A., Santillán, C., Ortiz, M., & Cambero, J. (2013). Control Biológico como Herramienta Sustentable en el Manejo de Plagas y su Éxito en el Estado de Nayarit, México. *Biociencias*, 2(3), 102 - 112. Obtenido de <http://aramara.uan.mx:8080/bitstream/123456789/747/1/CONTROL%20BIOL%20COMO%20HERRAMIENTA%20SUSTENTABLE%20EN%20EL%20MANEJO%20DE%20PLAGAS%20Y%20SU%20USO%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20NAYARIT%20MEXICO.pdf>
- Hernández, A., Estrada, B., Rodríguez, R., Gracia, J., Patiño, S., & Osorio, E. (2019). Importancia del Control Biológico de Plagas en Maíz (*Zea mays* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4). doi:<https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1665>
- Jiménez, E. (2009). *Métodos de Control de Plagas*. Managua: Universidad Nacional Agraria. Obtenido de <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10J61me.pdf>
- Llique, R. (2020). *Ensayo de patogenicidad de Beauveria bassiana en insectos Scarabaeidae que afectan el arandano (Vaccinium corymbosum L.) en Cajamarca*. Cajamarca-Peru.

- Lloclla, H., Arellano, C., Garcia, J., Maxe, R., & Vasquez, J. (2017). *Patogenicidad de Beauveria bassiana (bals) vuill., sobre el gusano barrenador del loche Diaphania hyalinata (Lepidoptera: Pyralidae) en laboratorio.* Chiclayo-Peru.
- Malpartida, J., Narrea, M., & Dale, W. (2013). Patogenicidad de Beauveria bassiana (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá Dione juno (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(2), 75-81. Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162013000200002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162013000200002&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Menace, M., Belezaca, C., & Lara, M. (2019). *ANALISIS EN CONDICIONES SEMICONTROLADAS DE LA BIOLOGÍA DEL GUSANO DEFOLIADOR (DIONE JUNO JUNO) DE LA MARACUYÁ (PASSIFLORA EDULIS), EN EL LITORAL DEL ECUADOR.* Quevedo-Ecuador.
- Monzon, A. (2001). *Produccion, uso y control de calidad de hongos entomopatogenos en Nicaragua.* Nicaragua.
- Motta, P., & Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal*, 6(2), 77-90. doi:(<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.187>)
- Peteira, B., González, I., Arias, Y., Fernandez, A., Miranda, I., & Martinez, B. (2011). CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE SEIS AISLAMIENTOS DE SEIS AISLAMIENTOS DE Beauveria basiana (BALSAMO) VUILLEMIN. *Revista de Protección Vegetal*, 26(1), 16-22. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v26n1/rpv03111.pdf>
- Schrank, A., & Henning, M. (2010). Metarhizium anisopliae enzymes and toxins. *Toxicon*, 56(7), 1267-1274. doi:<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.03.008>
- Sierra y Selva Exportadora. (2021). TENDENCIAS DEL MERCADO DEL MARACUYÁ Y OPORTUNIDADES EN EL MERCADO INTERNACIONAL [Diapositiva PowerPoint]. <https://repositorio.sierraexportadora.gob.pe/bitstream/handle/SSE/288/Maracuy%C3%A1%20-%20Julio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tellez, A., Cruz, M., Mercado, Y., Asaff, A., & Arana, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología*, 30, 73-80.
- Tirira, P. (2022). *Beauveria SP. como agente de control biologico del gusano defoliador dione juno andicola (bates) en passiflora ligularis (juss.) a nivel de laboratorio .* Ibarra-Ecuador.

Valarezo, A., Valarezo, O., Mendoza, A., Alvarez, H., & Vasquez, W. (2014). *El cultivo de maracuyá: Manual técnico para su manejo en el Litoral ecuatoriano*. Quito-Ecuador.

Villacide, J., & Corley, J. (2012). *Manejo Integrado de Plagas Forestales*. Obtenido de dfischbein@bariloche.inta.gov.ar: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control\\_biologico\\_de\\_plagas.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control_biologico_de_plagas.pdf)

Vinchira, D., & Moreno, N. (2019). Control Biológico: Camino a la agricultura moderna. *Biotechnol.*, 23(1), 2 - 5. doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860

## ANEXOS



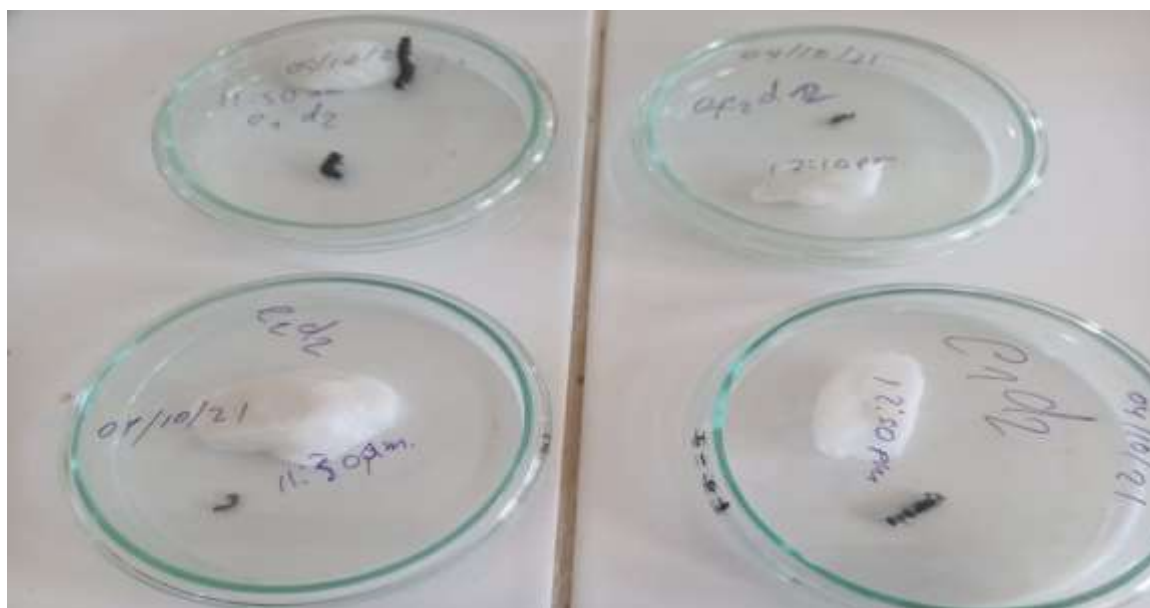
### Anexo 1

*Preparación de los entomopatogenos, pesado en balanza analítica.*



### Anexo 2

*Conducción del experimento, obsérvese jaulas de crianza y evaluación.*



**Anexo 3.**

*Larvas muertas de D. juno por entomopatogenos, colocadas en cámara húmeda para incentivar esporulación.*



**Anexo 4**

*Larva muerta de Dione juno mostrando esporulación de B. bassiana*



*Anexo 5*

*Seguimiento del asesor de tesis al trabajo experimental.*

Nuevo Chimbote – 2022



### DECLARACION JURADA DE AUTORÍA

Yo, *Daniel Junior Fernández Ancela*, Bach. de la E.P de Ingeniería Agrónoma

Facultad:	Ciencias		Educación		Ingeniería	<input checked="" type="checkbox"/>
-----------	----------	--	-----------	--	------------	-------------------------------------

Escuela Profesional: *Ingeniería Agrónoma*

Departamento: *Agroindustria y Agrónoma*

Escuela de Posgrado	Maestría		Doctorado	
---------------------	----------	--	-----------	--

Programa:

De la Universidad Nacional del Santa; Declaro que el trabajo de investigación intitulado:

*EFEECTO DE DOS CONCENTRACIONES DE Beauveria bassiana Bálamo y Metarhizium anisopliae Metschnikoff EN EL CONTROL DE Oïone juno Cramer*

presentado en folios, para la obtención del Grado académico: ( )

Título profesional: (  ) Investigación anual: ( )

- He citado todas las fuentes empleadas, no he utilizado otra fuente distinta a las declaradas en el presente trabajo.
- Este trabajo de investigación no ha sido presentado con anterioridad ni completa ni parcialmente para la obtención de grado académico o título profesional.
- Comprendo que el trabajo de investigación será público y por lo tanto sujeto a ser revisado electrónicamente para la detección de plagio por el VRIN.
- De encontrarse uso de material intelectual sin el reconocimiento de su fuente o autor, me someto a las sanciones que determinan el proceso disciplinario.

Nuevo Chimbote, *16 de febrero* de 2023

Firma: *Daniel Junior Fernández Ancela*

Nombres y Apellidos: *Daniel Junior Fernández Ancela*


DNI: *48302955*





## ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, *Pedro Antonio Vargas Linares*  
*asesor*

Facultad:	Ciencias		Educación		Ingeniería	X
Departamento Académico	<i>Agroindustria y Agroñoma</i>					
Escuela de Posgrado	Maestría:			Doctorado		
Programa:						
De la Universidad Nacional del Santa. Asesor / Unidad de Investigación revisora del trabajo de Investigación intitulado:						
<i>EFEECTO DE DOS CONCENTRACIONES DE Beauveria bassiana Bálamo y Metarhizium anisopliae Metschnikoff EN EL CONTROL DE Diome juno Cramer</i>						
Del estudiante: <i>Daniel Junior Fernández Arcela</i>						
De la escuela / departamento académico: <i>Ingeniería Agroñoma</i>						
Constato que la investigación presentada tiene un porcentaje de similitud del el cual se verifica con el reporte de originalidad de la aplicación Turnitin adjunto.						
Quién suscribe la presente, declaro el haber analizado dicho reporte y concluyo que las coincidencias detectadas no se conforman como plagio. A mi claro saber y entender, la investigación cumple con las normas de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional del Santa.						
				Nuevo Chimbote, <i>16 de febrero</i> de 2023		
Firma:						
Nombres y Apellidos del Asesor	<i>Pedro Antonio Vargas Linares</i>					
DNI:	<i>19 19 25 31</i>					