

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE HONGOS  
ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE GORGOJO DE LA ALFALFA  
(*Medicago sativa* L.) EN EL DISTRITO DE JESÚS – CAJAMARCA**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADA POR EL BACHILLER EN AGRONOMÍA  
ALEX EUDALDO BRAVO VILLAVICENCIO**

**Asesores:**

**Ing. Agr. Mg. Sc. Alonso Vela Ahumada**

**Ing. Agr. Ronald Llique Morales**

**CAJAMARCA – PERÚ**

**-2017-**

## **DEDICATORIA**

*A mi madre Lucinda, que desde el cielo  
ha estado cuidándome y guiando mi camino,  
para ella esta obra como muestra de mi enorme gratitud.*

*A mi padre Alejandro por su apoyo incansable  
en cada circunstancia de mi vida; brindándome amor,  
comprensión, aliento incondicional y desinteresado.*

**EL AUTOR**

## **AGRADECIMIENTO**

A los ingenieros Alonso Vela Ahumada y Ronald Llique Morales, asesores del presente trabajo de investigación, por su ayuda constante y desinteresada.

A mis familiares y amigos que contribuyeron para que la presente investigación sea culminada.

A la Municipalidad Distrital de Jesús, por su apoyo en la realización del presente trabajo.

**EL AUTOR**

## ÍNDICE GENERAL

	Pag.
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>ii</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
Objetivo general .....	2
Objetivos específicos .....	2
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1. Generalidades del cultivo de alfalfa .....	3
2.2.1. Taxonomía .....	3
2.2.2. Origen .....	3
2.2.3. Morfología .....	3
2.2.4. Requerimientos ecológicos, edáficos e hídricos .....	4
2.2.5. Importancia forrajera de la alfalfa. ....	5
2.2. Generalidades de gorgojos de la alfalfa (Familia: <i>Curculionadae</i> ).....	5
2.2.1. Taxonomía .....	5
2.2.2. Biología .....	6
2.2.3. Daños ocasionados por gorgojos de la alfalfa. ....	6
2.2.4. Métodos de control para gorgojos de la alfalfa.....	7
2.3. Hongos entomopatógenos en el control de plagas. ....	7
2.3.1. <i>Beauveria bassiana</i> . ....	8
2.3.2. <i>Beauveria brongniartii</i> . ....	9
2.3.3. <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	10
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación.....	11
3.2. Materiales. ....	11
3.3. Metodología .....	12
3.4. Aplicaciones y evaluaciones realizadas. ....	15

<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>28</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>29</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>33</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Lugares de recolección de insectos.....	12
Tabla 2. Tratamientos en estudio. ....	15
Tabla 3. Análisis de varianza para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 7 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos.....	18
Tabla 4. Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de eficacia alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 7 días después de la inoculación. ....	19
Tabla 5. Análisis de varianza para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 10 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno). ....	20
Tabla 6. Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de eficacia alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 10 días después de la inoculación. ....	21
Tabla 7. Análisis de varianza para el grado de esporulación inicial causado por entomopatógenos a los 10 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno). ....	22
Tabla 8. Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación inicial alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 10 días después de la inoculación.....	22
Tabla 9. Análisis de varianzaa para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 14 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno). ....	23
Tabla 10. Análisis de varianza para el grado de esporulación inicial causado por entomopatógenos a los 14 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno). ....	23
Tabla 11. Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación inicial alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 14 días después de la inoculación.....	24

Tabla 12.	Análisis de varianza para el grado de esporulación plena de entomopatógenos a los 17 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno). .....	25
Tabla 13.	Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación plena alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 17 días después de la inoculación.....	26
Tabla 14.	Resumen de la eficacia alcanzada por los diferentes tratamientos, sobre el gorgojo de la alfalfa. ....	26
Tabla 15.	Características de las fuentes de entomopatógenos. ....	40
Tabla 16.	Registro de evaluaciones realizadas. ....	40
Tabla 17.	Transformación de datos (Evaluación a los 7 días después de la inoculación).	41
Tabla 18.	Transformación de datos (Evaluación a los 10 días después de la inoculación). ....	42
Tabla 19.	Transformación de datos (Evaluación a los 14 días después de la inoculación). ....	43
Tabla 20.	Transformación de datos (Evaluación a los 17 días después de la inoculación). ....	44

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Coleóptero: Curculionidae presente en la alfalfa en estado adulto. ....	6
<b>Figura 2.</b> Grado de eficacia (%) a los 7 días después de la inoculación. ....	19
<b>Figura 3.</b> Grado de eficacia (%) a los 10 días después de la inoculación. ....	211
<b>Figura 4.</b> Grado de eficacia (%) a los 14 días después de la inoculación. ....	23
<b>Figura 5.</b> Grado de esporulación inicial (%) a los 14 días después de la inoculación. ....	24
<b>Figura 6.</b> Grado de esporulación plena (%) a los 17 días después de la inoculación. ....	26
<b>Figura 7.</b> Comparativo del grado de eficacia alcanzado por los entomopatógenos a través del tiempo, en el control de gorgojo de la alfalfa. ....	27
<b>Figura 8.</b> Zonas de muestreo en el distrito de Jesús. ....	33
<b>Figura 9.</b> Recolección de Insectos (Familia: Curculionidae). ....	33
<b>Figura 10.</b> Acondicionamiento de tratamientos (tapers) en laboratorio. ....	34
<b>Figura 11.</b> Preparación de caldo entomopatógeno: Preparación material. ....	34
<b>Figura 12.</b> Preparación de caldo entomopatógeno: Pesado del hongo entomopatógeno. ....	35
<b>Figura 13.</b> Evaluación del tratamiento <i>Beauveria bassiana</i> a los 10 días después de la inoculación. Observación de esporulación de <i>Beauveria bassiana</i> en estereoscopio a 25 X. ....	37
<b>Figura 14.</b> Evaluación del tratamiento <i>Beauveria bassiana</i> a los 14 días después de la inoculación. Observación de esporulación de <i>Beauveria bassiana</i> en estereoscopio a 25 X. ....	36
<b>Figura 15.</b> Evaluación del tratamiento <i>Beauveria bassiana</i> a los 14 días después de la inoculación. Observación de esporulación de <i>Beauveria bassiana</i> en estereoscopio a 25 X. ....	38

## RESUMEN

Se determinó en laboratorio la eficacia de entomopatógenos, para el control de gorgojo de la alfalfa (Familia: *Curculionidae*). El diseño estadístico empleado fue Completamente Randomizado (DCR), con seis tratamientos, incluido un testigo y tres repeticiones. Las evaluaciones se realizaron a 7, 10, 14 y 17 días después de la inoculación de los entomopatógenos. En los resultados obtenidos, los entomopatógenos que tienen mejor efecto a los 7 días después de inoculación son *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii*, con una eficacia de 86.67 % y 70.00 % respectivamente. A los 10 días después de la inoculación *Beauveria bassiana* alcanza una eficacia de 100 % mientras que *Beauveria brongniartii* alcanza 80.00 %, en este punto también se observa que *Metarhizium anisopliae*, tan solo logra una eficacia de 30.00 %. A los 14 días después de la inoculación de observa que todos los tratamientos alcanzan el 100.00 % de eficacia. El tratamiento que mostró esporulación inicial en menor tiempo fue *Beauveria bassiana* a los 10 días después de la inoculación con un porcentaje de 70.00 %. La esporulación plena está en directa proporción con el grado de eficacia alcanzado y también con el grado de esporulación inicial, tal manera que *Beauveria bassiana* muestra un 73.33 % de gorgojos muertos con esporulación a los 17 días después de la inoculación.

**Palabras Clave:** *Medicago sativa*, gorgojos, Entomopatógenos, eficacia.

## ABSTRACT

The efficacy of entomopathogens was determined in the laboratory for control of alfalfa weevil (Family: Curculionidae). The statistical design employed was Fully Randomized (DCR), with six treatments, including one control and three replicates. Evaluations were performed at 7, 10, 14 and 17 days after inoculation of the entomopathogens. In the obtained results, the entomopatógenos that have better effect to the 7 days after inoculation are *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, with an efficiency of 86.67% and 70.00% respectively. At 10 days after inoculation *Beauveria bassiana* reaches an efficiency of 100% while *Beauveria brongniartii* reaches 80.00%, at this point it is also observed that *Metarhizium anisopliae*, only achieves an efficiency of 30.00%. At 14 days after inoculation he observed that all treatments reached 100.00% efficacy. The treatment that showed initial sporulation in less time was *Beauveria bassiana* at 10 days after inoculation with a percentage of 70.00%. Full sporulation is directly proportional to the degree of efficiency achieved and also to the degree of initial sporulation, such that *Beauveria bassiana* shows 73.33% of dead weevils with sporulation at 17 days after inoculation.

**Keywords:** *Medicago sativa*, weevils, entomopathogens, efficacy.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.), es una excelente pastura para alimentar toda clase de ganado, incluyendo bovinos, porcinos, cuyes y aves, tanto en forraje verde como a través de balanceados (Perrazo 1990). Esta forrajera es llamada “la reina de las forrajeras” debido a la calidad y cantidad de proteínas (aproximadamente 20% de su peso seco), vitaminas y minerales que ofrece y que son vitales en el metabolismo de los rumiantes y también por su gran palatabilidad (Albán 1992). Para producir una alfalfa óptima, hay que tener en cuenta las condiciones edáficas, condiciones climáticas y el manejo de plagas y enfermedades (CIAT 1982).

Específicamente en el distrito de Jesús, el Servicio de Sanidad Agraria (SENASA), ha reportado a gorgojos (Familia: *Curculionidae*), como una plaga nueva en el cultivo de alfalfa, realizando daños severos a nivel de la corona y eje radicular reduciendo notablemente la producción de forraje verde. Se han realizado numerosas investigaciones en diferentes cultivos sobre el control biológico, el cual es la represión de las plagas mediante sus enemigos naturales; es decir mediante la acción de predadores, parásitos y patógenos (Cisneros 1995).

En el caso de hongos entomopatógenos son aquellos que parasitan diferentes órdenes de artrópodos, desde arañas hasta casi todos los grupos de insectos. Existiendo aproximadamente 700 especies de hongos entomopatógenos en 100 géneros, entre ellos: *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* y *Metarhizium anisopliae*. Los cuales se propagan, formulan y comercializan, para ser usados para controlar plagas de diferentes cultivos (INBIO 2016).

## **Objetivo general**

Determinar el efecto de entomopatógenos en el control del “gorgojo de la alfalfa”.

## **Objetivos específicos**

- Realizar aplicaciones de entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* y *Metarhizium anisopliae*).
- Realizar evaluaciones del efecto de los entomopatógenos sobre el “gorgojo de la alfalfa”.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Generalidades del cultivo de alfalfa

##### 2.2.1. Taxonomía

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Fabales
Familia	:	Fabaceae
Subfamilia	:	Faboideae
Género	:	<i>Medicago</i>
Especie	:	<i>M. sativa</i> L.

##### 2.2.2. Origen

El origen de la alfalfa está en la zona del Cáucaso, Turquestán, pasando a la Mesopotamia (hoy Irán) y Siberia. En excavaciones arqueológicas se encontraron rastros que indicaban que hacía más de 3300 años ya se utilizaba como alimento para el ganado. Tras llegar a Grecia, la alfalfa fue llevada a Italia y luego difundida en varias regiones y valles italianos (como Lucerna de Italia), luego en Suiza (donde se la conoce como lucerne), España, Francia y posteriormente en el resto de Europa. La caída del Imperio Romano marcó una virtual desaparición del cultivo en Europa. Recién en el siglo XVI fue introducida nuevamente en Italia y desde allí se distribuyó al resto de Europa, Sudáfrica y Australia. La llegada de la alfalfa al continente americano se produce en el año 1519 a México, en 1525 Hernán Cortez trae más semillas a América y en 1530 Francisco Pizarro en su conquista al Perú, introduce la alfalfa para la alimentación de sus caballos (TodoAgro 2014).

##### 2.2.3. Morfología

Las semillas poseen generalmente forma arriñonada y color amarillento, pero también se pueden encontrar semillas angulares y de coloración que varía desde la verde oliva a distintas tonalidades de marrón. El tallo primario es cuadrado en su sección transversal y presenta estomas y pelos. No sólo tiene crecimiento primario, sino que también posee crecimiento secundario que da origen a un eje leñoso o porción perenne, que forma parte de la corona.

Las hojas se unen al tallo por el pecíolo y son usualmente trifolioladas, vale decir que se componen de tres folíolos peciolados. Los folíolos son normalmente oblongos u obovados, pero se puede encontrar formas desde redondeadas a obovado-oblongas e incluso lineales (Basigalup 2007).

La flor se desarrolla cuando el ápice del tallo pasa del estado de crecimiento vegetativo al reproductivo. Este cambio (transición), comienza con la aparición de una protuberancia en la axila del primordio foliar. De cada primordio se origina una inflorescencia en forma de racimo simple. El fruto es de tipo legumbre o vaina, monocarpelar, seco e indehisciente, generalmente alargado y comprimido, con las semillas aisladas en la hilera ventral. La vaina, por encorvamiento, desarrolla una espiral que generalmente posee una espira con autofecundación y 3 a 5 vueltas con fecundación cruzada. Cada fruto contiene un número variable de semillas de 2 - 3 con autofecundación y alrededor de 9 semillas con fecundación cruzada (Beltran 1999).

#### **2.2.4. Requerimientos ecológicos, edáficos e hídricos**

La alfalfa es una especie de gran plasticidad pudiendo prosperar en regiones semiáridas, subhúmedas y húmedas, requiere de suelos bien aireados y profundos y está morfológica y fisiológicamente adaptada para resistir deficiencias hídricas prolongadas y además está dotada de una raíz que le permite penetrar en profundidad en el perfil del suelo y continuar produciendo hasta un 35% del agua útil del mismo. Es por ello que tolera las sequías, pero paralelamente es muy sensible a la falta de oxigenación que ocurre con el anegamiento del suelo. Dependiendo la magnitud del daño producido, del estado de desarrollo de la planta, temperatura y duración del período de anegamiento. Además, se ha calculado que, en una planta adulta, 8 días de suelos saturados de agua disminuye la fotosíntesis en un 30% (Agrobit 2014).

Los requerimientos nutricionales varían según el nivel de producción y el manejo al que es sometido el cultivo. Bajo cualquier sistema de aprovechamiento hay una demanda continua de nutrientes durante todo el ciclo de producción, pero la intensidad de esa demanda cambia en función de las condiciones ambientales y el estado de desarrollo de la planta. La alfalfa requiere altas necesidades de Nitrógeno, que es aportado mayoritariamente por la acción de los Rhizobium, que lo fijan a partir del existente en el medio ambiente. Es un elemento esencial para las gramíneas que suelen acompañar a la alfalfa. El Fósforo es determinante para un establecimiento exitoso y buen desarrollo radicular. El Potasio es esencial para

mantener altos rendimientos, aumentar la tolerancia al frío, lograr mayor resistencia a ciertas enfermedades e incrementar la persistencia. El Calcio, Magnesio, Azufre y la mayoría de los micronutrientes son igualmente necesarios para un normal crecimiento de la planta de alfalfa (Rossagino 1999).

### **2.2.5. Importancia forrajera de la alfalfa.**

Para Andia y Argote (2006) la alfalfa tiene importancia forrajera debido a los siguientes aspectos:

- Alto contenido proteico, carbohidratos, minerales y vitaminas.
- muy apetecida por el ganado.
- No es tóxica, tiene alto rendimiento y larga vida (10 años).
- Proporciona nitrógeno a las gramíneas asociadas como *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, etc., por tanto, incrementa el rendimiento por hectárea y la calidad de la pastura.
- Tiene la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico por medio de sus nódulos radiculares y posteriormente lo incorpora al suelo como abono.
- La alfalfa contribuye como cultivo de cobertura y perenne reduciendo los problemas de erosión del suelo.

## **2.2. Generalidades de gorgojos de la alfalfa (Familia: Curculionadae)**

El complejo de gorgojos de la alfalfa (Coleóptera: *Curculionidae*) tiene una muy amplia difusión en los alfalfares, aunque las mayores poblaciones ocurren en las zonas subhúmeda y semiárida. El complejo incluye más de 20 especies, en su mayoría pertenecientes a los géneros *Pantomorus* (*P. leucoloma* Boh.; *P. auripes* Hust.; *P. verecundus* Hust.; *P. viridisquamosus* Boh; etc.) y *Naupactus* (*N. cinereidorsum* Hust.), a los que se agregan *Priocyphus bosqui* Hust. y *Trychonaupactus densius* Hust. (Aragón e Imwinkelried 2007).

### **2.2.1. Taxonomía**

Según la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Vegetal del SENASA el gorgojo de la alfalfa está catalogado taxonómicamente de la siguiente manera:

Clase	: Insecta
Orden	: Coleoptera
Familia	: Curculionidae
<b>Nombre común</b>	: Gorgojo de la alfalfa.

### 2.2.2. Biología

La ovoposición de los huevos lo realizan en la corona de la planta de la alfalfa para luego ser eclosionados, de los cuales nacen las larvas de forma curculioniformes de color amarillo verdoso con las cabezas de color negro, estas larvas se comportan barrenando las estructuras de la planta o el suelo. Las pupas son endobióticas debido a que viven dentro de la raíz, para luego transformarse en adulto. Los gorgojos adultos son alrededor de un cuarto de pulgada (5 - 7 mm) de largo y de color negro en todo el cuerpo y en los élitros y a nivel de todo el cuerpo presentan puntos hendidos. Tienen un pico estrecho distintivo o rostrum que se extiende hacia delante de su cabeza. Sus partes bucales se encuentran en la punta de este rostrum (Consulta personal al Ing. Ronald Llique Morales, Especialista Sanidad Agraria - SENASA CAJAMARCA)



Figura 1. Coleóptero: *Curculionidae* presente en la alfalfa en estado adulto.

### 2.2.3. Daños ocasionados por gorgojos de la alfalfa.

El daño que estos insectos provocan a las raíces de la alfalfa disminuye la productividad y la persistencia del cultivo. La mayor acción destructiva se debe a las larvas, que provocan galerías y perforaciones en las raíces, tanto en la principal como en las secundarias. (Imwinkelried *et al.* 1992).

Las larvas también se alimentan de la punta de las hojas superiores, y más adelante se alimenta del follaje inferior. Si la infestación es masiva, este insecto consumirá la mayoría de hojas dejando solamente las ramas y el tallo. El campo tomará un color blanquecino. Casi todo el daño ocurre durante el primer corte, pero en algunas áreas el segundo corte también puede ser afectado. También es importante hacer notar que, si la larva o los adultos jóvenes son numerosos durante la época de corte, el rebrote del segundo corte se retrasará en forma considerable y la población de alfalfa será más baja (Shubat 1990).

Pueden encontrarse larvas de varios estadios de desarrollo durante el año, que provocan severos daños a las raíces de alfalfa de las cuales se alimentan. Esto disminuye la productividad y la persistencia del cultivo (Imwinkelried *et al.* 1992) y en algunos casos llega a causar la muerte indirecta de plantas al facilitar la entrada de microorganismos patógenos (Aragón 1990). Las consecuencias pueden ser fatales en plántulas o plantas jóvenes, ya que las lesiones en la raíz principal pueden provocar la destrucción de ese sistema radical incipiente (Parodi 1964).

#### **2.2.4. Métodos de control para gorgojos de la alfalfa.**

El periodo crítico es el momento anterior al segundo corte de la alfalfa, donde los daños suelen ser mayores. El momento más adecuado para el control químico es después del corte, recomendándose productos piretroides: betaciflutrina, ciflutrina, cipermetrina, lambda-cihalotrina, deltametrina o zeta-cipermetrina. Las labores culturales también contribuyen a mantener bajas las poblaciones de gorgojos, recomendándose las siguientes prácticas: el recojo manual de gorgojos, rotación de cultivos, adelantar el corte de la alfalfa, utilizar un apero como puede ser la niveladora que va a destruir muchas larvas de insectos, lo que se traduce en un menor número de individuos a la siguiente campaña (Bermejo 2011).

#### **2.3. Hongos entomopatógenos en el control de plagas.**

Según Pucheta Diaz *et al.* (2006), los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos, infectándolos 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. Sin embargo, (Meyling y Eilenberg 2007), afirman que para su utilización como control biológico es necesario prácticas agrícolas en donde se manipule el ambiente para beneficiar las poblaciones de entomopatógenos, donde los conocimientos de los aspectos ecológicos del hongo son necesarios, tales como la humedad relativa, temperatura, patogenicidad, virulencia y hospederos a los que infecta activamente.

Lacey *et al.* (2001) afirma que entre los aspectos básicos se encuentran el aislamiento del hongo, cultivo, pruebas biológicas y predicción de los efectos sobre las poblaciones de plagas en el medio ambiente, así como un desempeño predecible sobre cambios de las condiciones medioambientales y una mayor eficiencia de producción. Para Butt *et al.* (2001), la producción de hongos para el control de plagas implica una amplia investigación donde

se involucran disciplinas como la patología, ecología, genética y fisiología, además de técnicas para la producción masiva, formulación y estrategias de aplicación.

Para López-Llorca y Hans-Börje (2001) entre los géneros más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, mientras que para la FAO (2003), los géneros de importancia son *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

### **2.3.1. *Beauveria bassiana*.**

Hongo deuteromiceto que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscardina. Actualmente es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número plagas entre ellas las que pertenecen a los órdenes coleóptera, lepidóptera, díptera y muchos otros órdenes y familias de insectos (Ecured 2016).

#### **Morfología**

*Beauveria bassiana* se caracteriza por presentar células conidiógenas globosas a subglobosas (2-3 x 2.0-2.5  $\mu\text{m}$ ) con un cuello muy corto, las estructuras conidiógenas forman grandes grupos, conidióforos apiñados formando sinnemas o grupos de conidióforos muy juntos, las conidias son hialinas y lisas, raquis en zíg-zag y el desarrollo en medio de cultivo es levantado de color blanco, tomando coloraciones amarillentas en el reverso de la placa cuando tiene mucho tiempo (Castillo *et al.* 2011).

#### **Mecanismo de acción.**

El mecanismo de infección de *Beauveria bassiana* se inicia cuando el conidio se adhiere a la cutícula del insecto hospedante susceptible. El conidio germina en la superficie del cuerpo del insecto y de modo mecánico penetra el integumento a través del tubo germinativo. Durante este proceso intervienen enzimas extracelulares relacionadas con la patogénesis tales como: proteasas, lipasas, ureasas y quitinasas entre otras, que hidrolizan los componentes cuticulares. La presencia de enzimas hidrolíticas suele facilitar cada etapa de infección del hongo y adicionalmente puede ser importante en la invasión del hemocele del insecto (Zhang *et al.* 2008).

### **2.3.2. *Beauveria brongniartii*.**

Hongo deuteromiceto del orden Moniliales, *B. brongniartii* es una de las especies reconocidas del género *Beauveria*, en 1891 Brongniart colectó un hongo que parasitaba langostas migratorias, lo describió y no le puso nombre. Saccardo en 1892 lo nombró *Botrytis brongniartii* y Petch lo transfirió al género *Beauveria* en 1979 (Torres *et al.* 1993).

#### **Morfología.**

En condiciones de laboratorio, las colonias crecen pegadas al medio de cultivo y alcanza un diámetro aproximado de 3 cm, después de 15 días, su aspecto es aterciopelado o pulverulento, al comienzo el color es blanquecino, pero a medida que la colonia envejece se torna de color amarillo pálido, empezando por el reverso, aunque también pueden tomar otros colores como rojo o rosado. La esporulación es inversamente proporcional a la humedad de la placa. La fructificación está constituida por células conidiógenas que forman conidios sucesivos en un raquis en zigzag, esta fructificación puede ocurrir como synnema (conjunto) o células conidiógenas individuales o dicotómicas, estas células conidiógenas pueden ser globosas con cuello muy corto o pueden ser gruesas en la base y adelgazadas en el ápice en forma de botella (Torres *et al.* 1993).

#### **Mecanismo de acción.**

Vera *et al.* (1995) sostienen que el mecanismo de acción de *Beauveria brongniartii* inicia con el ingreso de la conidia a través de las cavidades intersegmentarias del insecto. La conidia germina y forma el tubo germinativo, en cuya parte apical se produce un abultamiento (apresorium) a partir del cual emerge el micelio infectivo, ramificándose en toda el área produciendo blastoporas y micelio en la hemolinfa, para luego ser transportado hacia todas las partes del cuerpo del insecto afectando y destruyendo los tejidos, sobre todo el sistema nervioso. Después de la muerte del insecto el hongo aflora en forma de micelio a través de los espacios intersegmentarios; en ocasiones cubre completamente a manera de algodón y con los días adquiere un aspecto harinoso por la presencia de conidias. El insecto infectado adquiere la apariencia momificada.

### **2.3.3. *Metarhizium anisopliae***

Hongo Deuteromyceto, del orden Moniliales, Familia Moniliaceae. Este patógeno ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos órdenes. Los insectos muertos por este hongo son cubiertos completamente por micelio, el cual inicialmente es de color blanco, pero se torna verde cuando el hongo esporula (Monzón 2001).

#### **Morfología.**

*M. anisopliae*, presenta una colonia pegada al medio (PDA), completamente redonda, de colores oliváceo, amarillento, verdoso, marrón oscuro, dependiendo del aislamiento, con un revés incoloro a marrón, a veces verdoso citrino. Los conidióforos nacen del micelio y son irregularmente ramificados con dos o tres ramas en cada septo, mide de 4 a 14  $\mu$  de longitud x 1.5 a 2.5 de diámetro. Las fiálides son cilíndricas en forma de clava, adelgazadas en el ápice, miden de 6 a 13  $\mu$  y de 2 a 4  $\mu$  de diámetro, las conidias son unicelulares, cilíndricas y truncadas formadas en cadenas muy largas, hialinas a verde oliváceo, miden de 3.5  $\mu$  de longitud x 1.5 a 3.5  $\mu$  de diámetro (Cañedo y Ames 2004).

#### **Modo de acción.**

Este hongo es capaz de adherirse a la cutícula de los insectos y de entrar a su interior por las partes blandas o por vía oral. Una vez dentro del hospedero, las esporas germinan y el micelio produce toxinas que le producen la muerte al huésped en cuestión de 3 a 4 días. Los síntomas de la enfermedad en el insecto son la pérdida de sensibilidad, movimientos descoordinados y parálisis. Cuando el insecto muere queda momificado. Si las condiciones de humedad son óptimas, se inicia de nuevo el ciclo, el micelio cubre el insecto, se producen esporas, las cuales son arrastradas por el viento y las lluvias, pudiendo atacar nuevamente otro insecto (Productos Biológicos Perkins 2016).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación.

El presente trabajo de investigación se realizó en dos fases, la fase de campo se realizó en el distrito de Jesús, provincia y región Cajamarca, ubicado en las coordenadas 7°14'53"S y 78°23'04"O, a 2564 msnm. La fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) sede Cajamarca ubicado en las coordenadas 7° 9'50.85"S y 78°28'6.82"O, a 2665 msnm. Las condiciones climáticas del distrito de Jesús ambientales del lugar presentan temperatura promedio de 23° C y humedad relativa de 40%. En laboratorio se registró una temperatura promedio en el interior de 17.60 °C y exterior 20.70 °C, humedad relativa de 43%

#### 3.2. Materiales.

##### 3.1.1 Material biológico.

Cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.), Gorgojos de la alfalfa (familia: *Curculionidae*), Hongos entomopatógenos. (*Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* y *Metarhizium anisopliae*).

##### 3.1.2 Material de campo.

Bolsas de polietileno, bolsas de papel, cámara digital, GPS, libreta de campo, red entomológica, Envases herméticos (tapers), tablero de campo, libreta de apuntes, papel, lapiceros, linterna de mano.

##### 3.1.3 Material y equipo de laboratorio.

Placas Petri, pinzas, termómetro, termohigrometro, pH-metro, estufa, ablandadores de agua, aceite agrícola, papel toalla, mechero, alcohol, aceite agrícola, cuchillas, beakers, matraces, probetas, microscopio, estereoscopio, lámpara, balanza analítica, papel aluminio, lupa, equipo de aplicación (aspersor manual), agua, cámara fotográfica.

##### 3.2.4. Materiales de gabinete.

Equipo de cómputo, USB, papel, tablas estadísticas, impresora, entre otros.

### 3.3. Metodología

#### 3.1.4 Trabajo de campo

El trabajo en campo consistió en:

- Identificación de parcelas de alfalfa afectadas por el insecto plaga llamado “gorgojo de la alfalfa” (**Familia: Curculionidae**), en las cuales se presenta alta infestación.
- Identificación de los daños ocasionados en la planta, en la zona radicular en forma de perforaciones o galerías, estas son realizados por el insecto en estado larval, mientras que en estado adulto los daños son realizados a nivel de corona y follaje de la planta, con lo cual el rendimiento se ha visto reducido en un 20 %.
- Evaluación de la densidad de gorgojos adultos por planta, determinándose una infestación de hasta 2 gorgojos adultos por planta y hasta 5 larvas de gorgojo por planta.
- La recolección del insecto en estado adulto, se realizó manualmente en horas de la noche debido al comportamiento nocturno del insecto, observándose mayor población a partir de las 9pm – 1am, también se hallaron insectos en linderos de las parcelas y en áreas secas como paredes, pircas, troncos de árboles y acequias.
- La recolección del insecto se realizó una semana después de que han sido cortados los tallos de la alfalfa debido a que permitió una mayor facilidad y visibilidad para la captura.
- Traslado de los insectos recolectados a laboratorio, esta actividad se realizó en tapers herméticos, conteniendo alimentación para los insectos (trozos de raíces, tallos y hojas).

**Tabla 1.** Lugares de recolección de insectos.

Lugar	Coordenadas		Altitud (msnm)	H%	T°
	Latitud	Longitud			
Vivero Municipal de Jesús	7°14'48.92"S	78°22'39.62"O	2555	40	23
Liliana Pando Ordoñez	7°14'55.60"S	78°22'38.66"O	2560	40	23
Liliana Pando Ordoñez	7°14'51.84"S	78°22'39.12"O	2565	40	23
Abel Quispe Torres	7°15'9.87"S	78°22'46.31"O	2477	40	23

### 3.1.5 Trabajo de laboratorio

A nivel de laboratorio se realizó:

- Desinfección del material biológico (corona, raíces, tallos e insectos) de alfalfa sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% durante 30 segundos, logrando que el ensayo no se contamine.
- Flameado de la mesa de trabajo por 1 minutos.
- Distribución de los insectos en los tapers, conteniendo material biológico (corona, raíces, tallos y 10 insectos).
- Cálculo de la cantidad de agua y hongo entomopatógeno a usar por tratamiento.

#### Datos para cálculo.

- Las dosis por ha de cada entomopatógeno se muestran en anexos, tabla 16.
- Densidad de plantas en 01 ha de alfalfa: 1 200 000 plantas.
- Número de gorgojos adultos por planta: 02 gorgojos.
- Numero de gorgojos por tratamiento: 10 (05 plantas)

#### Cálculo de la cantidad de agua por tratamiento:

1 200 000 plantas ----- 200 lts de agua

05 plantas ----- X

**X = 0.00083 lts de agua = 0.83 ml de agua.**

Entonces: para 3 repeticiones será: 2.5 ml de agua.

#### Calculo de la cantidad de hongo (en sustrato de arroz) por tratamiento.

2400 gramos ----- 200 lts de agua

X ----- 0.00083 lts de agua.

**X = 0.010 gramos de hongo en sustrato de arroz.**

Entonces: para 3 repeticiones será: 0.3 gr. de hongo en sustrato de arroz.

Para el caso de los tratamientos combinados (*Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*) y (*Beauveria brongniartii* + *Metarhizium anisopliae*) se utilizó concentraciones de 50% de cada entomopatógeno.

- Preparación del caldo entomopatógeno.

**Procedimiento:**

- a. Se midió la dureza y acidez del agua, si los valores sobrepasaban a 150 ppm y pH 7 respectivamente, se utilizó ablandadores para disminuir la dureza y por consiguiente el pH. Si se emplea agua cuya dureza es menor a 150 ppm, entonces, usar un corrector de acidez
  - b. Se abrió la bolsa por un costado y se agregó 100 ml de aceite agrícola vegetal (carrier, natural oil) en cada una de las bolsas y agregó aproximadamente un litro de agua.
  - c. Se frotó con la mano para desprender las esporas del sustrato de arroz.
  - d. Luego se vertió el contenido de la bolsa en un recipiente (balde) con la ayuda de un colador.
  - e. Nuevamente se colocó medio litro de agua en la bolsa y se vertió otra vez.
  - f. Se repitió este proceso hasta separar por completo las esporas del sustrato de arroz. Aproximadamente con 2.5 litros de agua, se logra separar las esporas de sustrato de arroz. A esta solución podemos llamarle caldo de entomopatógenos para fines prácticos.
  - g. Se colocó el caldo de entomopatógenos en una botella o balde y dejarlo a temperatura ambiente, en un lugar sombreado por un periodo de 6 horas como mínimo hasta 16 horas, tiempo suficiente para hidratar las esporas secas de los hongos e iniciar la formación de conidias.
  - h. Se agitó la mezcla y se vertió en el depósito.
  - i. Seguidamente se llenó el equipo de aspersión y se siguió agitando cada vez que se repita esta acción.
- Instalación de los ensayos de enfrentamiento y aplicación de los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* y *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria brongniartii* + *Metarhizium anisopliae*), frente a los gorgojos de la alfalfa al estado adulto en un total de 10 gorgojos/taper. Los cuales constan de 6 tratamientos incluyendo un tratamiento testigo, cada tratamiento con tres repeticiones. Tal como se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2.** Tratamientos en estudio.

<b>Clave</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Entomopatígeno</b>
T1	Bb	<i>Beauveria bassiana</i>
T2	Bbr	<i>Beauveria brongniartii</i>
T3	Ma	<i>Metarhizium anisopliae</i>
T4	Bb+Ma	<i>Beauveria bassiana</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i>
T5	Bbr+Ma	<i>Beauveria brongniartii</i> + <i>Metarhizium anisopliae</i>
T6	Tes	Testigo

El presente trabajo de investigación se realizó mediante un Diseño Completamente al Randomizado (DCR), con seis (06) tratamientos, incluido un (01) testigo y tres (03) repeticiones. Para el análisis de varianza (ANVA) y para el procesamiento de los datos se utilizaron programas estadísticos (Infostat, SAS y EXCEL). Para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos se empleó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

### **3.4. Aplicaciones y evaluaciones realizadas.**

#### **a. Aplicaciones de entomopatógenos.**

- La aplicación del caldo entomopatígeno se realizó en forma de aspersión en un volumen de 0.83 ml/taper, en dos oportunidades (1 día – 7 días) luego de haberse instalado los ensayos. En el caso de segunda aplicación (7 días), solo se aplicó a los tapers que mostraban a la mayoría de insectos vivos, para lo cual se realizó nuevamente la preparación del caldo entomopatígeno.
- A los 14 días los tratamientos que mostraban esporulación inicial, fueron aislados en cámaras húmedas (placas Petri + papel absorbente) para ser colocados en la estufa 25° C y humedad relativa de 50% por 72 horas con la finalidad de observar la esporulación del hongo e identificación morfológica con ayuda de microscopio.

#### **b. Grado de eficacia de entomopatógenos.**

La eficacia de un agente de control, es la mortalidad directa que origina en la población de una especie plaga, en un periodo de tiempo. Evaluar esta mortalidad implica disponer de testigos no sometidos a los tratamientos (Cabello 2006).

Para determinar el grado de eficacia de los entomopatógenos, se empleó la fórmula de Abbot modificada por Henderson & Tilton (Cabello 2006).

$$\% \text{EFICACIA} = \left\{ 1 - \left( \frac{N \text{ vivos trat}}{N \text{ vivos tes}} \right) \right\} * 100 \text{ Donde,}$$

*N vivos trat*: Número de individuos vivos en el tratamiento.

*N vivos test*: Número de individuos vivos en el testigo.

### c. Grado de esporulación inicial.

El desarrollo de un hongo entomopatógeno sobre un insecto, comienza con la adhesión de las conidias a la cutícula del insecto, para luego germinar y penetrar el cuerpo del insecto huésped, Posteriormente comienza la producción de toxinas que provocan la enfermedad del insecto y por consiguiente la esporulación inicial (Sepúlveda *et al.* 2016).

Con ayuda de estereoscopio se observó a los insectos que no mostraban movimiento, seguidamente se empleó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ESPORULACION INICIAL} = \frac{N \text{ colon} * 100}{N \text{ total}} \text{ Donde,}$$

*N colon*: Número de individuos inmovilizados en el tratamiento.

*N total*: Número total de individuos en el tratamiento.

### d. Porcentaje de esporulación plena.

Con la muerte del insecto termina el desarrollo parasítico del hongo y empieza la fase saprofitica: el hongo crece en el hemocele formando masas micelianas que salen al exterior fundamentalmente por las regiones intersegmentales y por las aberturas naturales (espiráculos, boca y ano) esporulando sobre el cadáver y produciendo inóculo para infectar a otros insectos. La gran dependencia de la humedad es el mayor factor limitante que presentan los hongos, ya que para la germinación y esporulación fuera del hospedante se requieren valores de humedad relativa superiores a 90% (Cañedo y Ames 2004).

Con ayuda de microscopio se observó el número de insectos que mostraban estructuras reproductivas de los entomopatógenos en el cuerpo, seguidamente se empleó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ESPORULACIÓN PLENA} = \frac{N \text{ espor} * 100}{N \text{ total}} \text{ Donde,}$$

*N espor*: Número de individuos esporulados en el tratamiento.

*N total*: Número total de individuos en el tratamiento.

### **3.1.6 Trabajo de gabinete**

Se procedió a la sistematización y análisis de los datos recolectados en campo y laboratorio, posteriormente se realizó la redacción del trabajo de investigación.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el presente capítulo se presentan y discuten los resultados de la investigación, a la luz de los datos obtenidos de cada uno de los tratamientos en estudio, evaluando la eficacia, la esporulación inicial y la esporulación plena de los entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa. Dado a que los resultados obtenidos se expresan en porcentajes (%), se tuvieron que transformar con la fórmula de la raíz cuadrada del arco seno. Los datos originales y transformados se presentan en los anexos.

#### 4.1. Primera Evaluación (7 días después de la inoculación).

##### 4.1.1. Grado de Eficacia.

**Tabla 3.** Análisis de varianza para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 7 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Tratamientos</b>	10333.22	5	2066.64	43.78*	<0.0001
<b>Error</b>	566.47	12	47.21		
<b>Total</b>	10899.69	17			

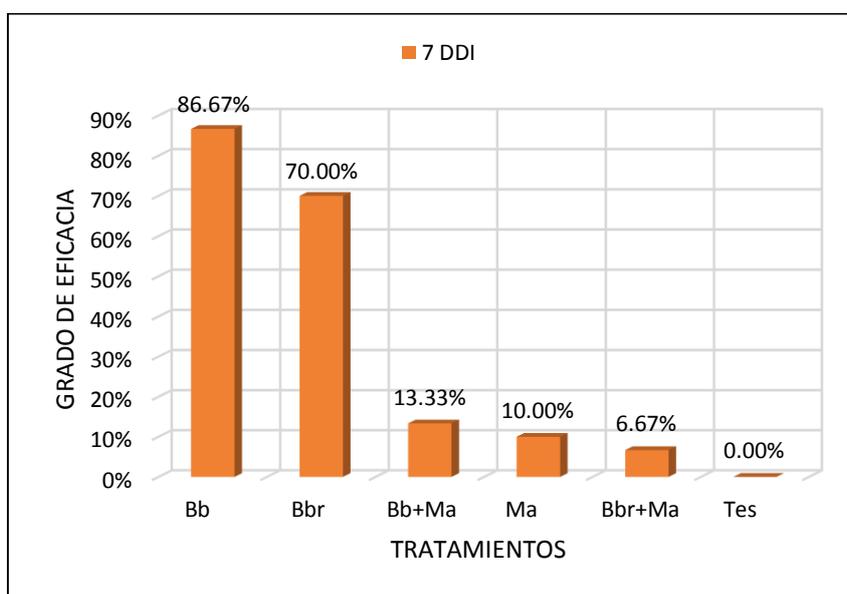
**C.V. = 22.77%**

En la tabla 3, se detalla el análisis de varianza para el grado de eficacia obtenido con cada uno de los tratamientos a los 7 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que existe diferencias significativas, dado que el p (0.0001) es menor que el  $\alpha$  (0.05).

El coeficiente de variabilidad es de 22.77 %, si bien es relativamente alto para condiciones de laboratorio, esto podría deberse a que en la mortalidad de los insectos actúan factores adicionales al uso entomopatógenos, como por ejemplo muerte natural, inanición, vejez, estrés, etc. Seguidamente se procedió a realizar la prueba de Duncan para determinar los mejores tratamientos.

**Tabla 4.** Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de eficacia alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 7 días después de la inoculación.

Tratamientos	Medias (Datos originales)	Medias (Datos transformados)	Agrupamiento	
Bb	86.67	68.86	A	
Bbr	70.00	57.00	A	
Bb+Ma	13.33	21.14	B	
Ma	10.00	16.35	B	C
Bbr+Ma	6.67	13.64	B	C
Tes	0.00	4.05	C	



**Figura 2.** Grado de eficacia (%) a los 7 días después de la inoculación.

En la tabla 4 y en la figura 2, se observa que a los 7 días después de la inoculación, los tratamientos *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* son estadísticamente iguales y superiores al resto de tratamientos, mostrándonos que el promedio de eficacia alcanzado es de 86.67% y 70.00% respectivamente, el tercer lugar lo ocupa la combinación entre *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con una eficacia de 13.33%, mientras que los demás tratamientos se mantienen estadísticamente iguales, el tratamiento que alcanzó menor grado de eficacia es la combinación entre *Beauveria brongniarti* y *Metarhizium anisopliae* con tan solo 6.67%, en el tratamiento testigo no hubo efecto alguno, observándose el 0% de mortalidad.

#### 4.1.2. Grado de esporulación inicial.

No se realizó análisis estadístico sobre el grado de esporulación inicial debido a que a los 7 días después de la inoculación no se evidenció insectos inmóviles en ninguno de los tratamientos.

#### 4.1.3. Grado de esporulación plena.

No se realizó análisis estadístico sobre el grado de esporulación plena debido a que a los 7 días después de la inoculación no se evidenció esporulación en ninguno de los tratamientos.

### 4.2. Segunda Evaluación (10 días después de la inoculación).

#### 4.2.1. Grado de Eficacia.

**Tabla 5.** Análisis de varianza para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 10 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamientos	12643.06	5	2528.61	52.69*	<0.0001
Error	575.92	12	47.99		
Total	13218.98	17			

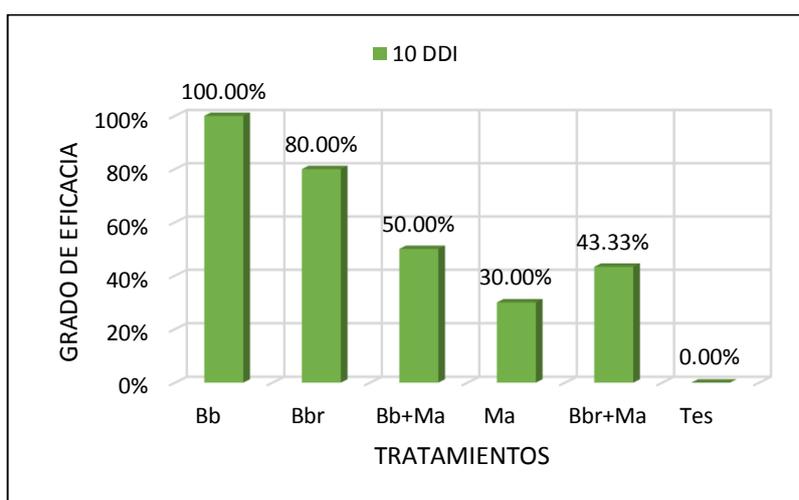
**C.V. = 15.02%**

En la tabla 5, se detalla el análisis de varianza para el grado de eficacia obtenido con cada uno de los tratamientos a los 10 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que existe diferencias significativas, dado que el p (0.0001) es menor que el  $\alpha$  (0.05),

El coeficiente de variabilidad es de 15.02 %, si bien es relativamente alto para condiciones de laboratorio, esto podría deberse a que en la mortalidad de los insectos actúan factores adicionales al uso entomopatógenos, como por ejemplo muerte natural, inanición, vejez, estrés, etc. Seguidamente se procedió a realizar la prueba de Duncan para determinar los mejores tratamientos.

**Tabla 6.** Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de eficacia alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 10 días después de la inoculación.

Tratamientos	Medias (Datos originales)	Medias (Datos transformados)	Agrupamiento
Bb	100.00	90.00	A
Bbr	80.00	63.93	B
Bbr+Ma	50.00	45.00	C
Bb+Ma	43.33	40.78	C
Ma	30.00	33.00	C
Tes	0.00	4.05	D



**Figura 3.** Grado de eficacia (%) a los 10 días después de la inoculación.

En la tabla 6, se observa que a los 10 días después de la inoculación, el tratamiento *Beauveria bassiana* alcanza el máximo grado de eficacia logrando la mortalidad total de los gorgojos (100%) ocupando el primer lugar, el segundo lugar lo ocupa *Beauveria brongniartii* con un 80% de eficacia. Los demás tratamientos no muestran diferencias significativas entre sí, el tratamiento con menor grado de eficacia a los 10 días después de la inoculación es *Metarhizium anisopliae* con un 30%.

A 10 días después de la inoculación, se evidencia el progreso de los tratamientos respecto a la primera evaluación (7 días después de la inoculación), de la siguiente manera: *Beauveria bassiana* de tener un 86.67% alcanza la mortalidad total de los gorgojos (100%), *Beauveria brongniartii* incrementa su eficacia en 10% alcanzando un 80%. Mientras que *Metarhizium anisopliae* alcanza 30%, 10% más que la primera evaluación. En el tratamiento testigo no hubo efecto alguno, observándose el 0% de mortalidad.

#### 4.2.2. Grado de esporulación inicial.

**Tabla 7.** Análisis de varianza para el grado de esporulación inicial causado por entomopatógenos a los 10 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	7008.37	5	1401.67	209.72	<0.0001
Error	80.2	12	6.68		
Total	7088.58	17			

**C.V. = 20.08%**

En la tabla 7, se detalla el análisis de varianza para el grado de esporulación inicial obtenido con cada uno de los tratamientos a los 10 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que existe diferencias significativas, dado que el p (0.0001) es menor que el  $\alpha$  (0.05).

El coeficiente de variabilidad es de 20.08 %, si bien es relativamente alto para condiciones de laboratorio, esto podría deberse a la humedad relativa en cada uno de los tratamientos en estudio. Seguidamente se procedió a realizar la prueba de Duncan para determinar los mejores tratamientos.

**Tabla 8.** Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación inicial alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 10 días después de la inoculación.

Tratamientos	Medias (Datos originales)	Medias (Datos transformados)	Agrupamiento
Bb	70.00	57.00	A
Ma	0.00	4.05	B
Bbr+Ma	0.00	4.05	B
Bbr	0.00	4.05	B
Tes	0.00	4.05	B
Bb+Ma	0.00	4.05	B

En la tabla 8, se observa que a los 10 días después de la inoculación, el tratamiento *Beauveria bassiana* alcanza el mejor grado de esporulación inicial logrando inmovilizar al 70% de los gorgojos, mientras que los demás tratamientos no muestran esporulación inicial.

#### 4.2.3. Grado de esporulación plena.

No se realizó análisis estadístico sobre el grado de esporulación plena debido a que a los 10 días después de la inoculación no se evidenció esporulación en ninguno de los tratamientos.

### 4.3. Tercera Evaluación (14 días después de la inoculación)

#### 4.3.1. Grado de Eficacia.

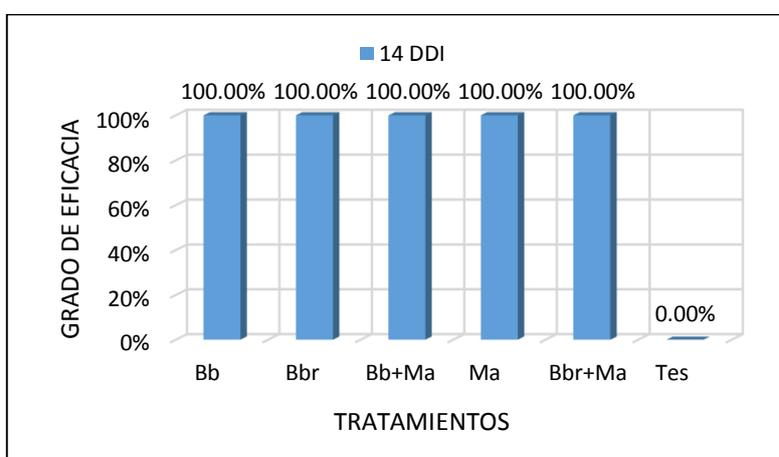
**Tabla 9.** Análisis de varianzaa para el grado de eficacia de entomopatógenos a los 14 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamientos	18468.51	5	3693.7	sd	Sd
Error	0	12	0		
Total	18468.51	17			

**C.V. = 0.00%**

En la tabla 9, se detalla el análisis de varianza para el grado de eficacia obtenido con cada uno de los tratamientos a los 14 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que no existe diferencias significativas, dado que, pasado este tiempo desde la inoculación, todos los tratamientos los tratamientos logran la mortalidad total de los gorgojos (100%).

No se realizó prueba la Duncan, para determinar los mejores tratamientos, ya que no existen diferencias significativas entre ellos, tal como se evidencia en la Figura 4.



**Figura 4.** Grado de eficacia (%) a los 14 días después de la inoculación.

#### 4.3.2. Grado de esporulación inicial.

**Tabla 10.** Análisis de varianza para el grado de esporulación inicial causado por entomopatógenos a los 14 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Tratamientos	17037.67	5	3407.53	82.64	<0.0001
Error	494.8	12	41.23		
Total	17532.48	17			

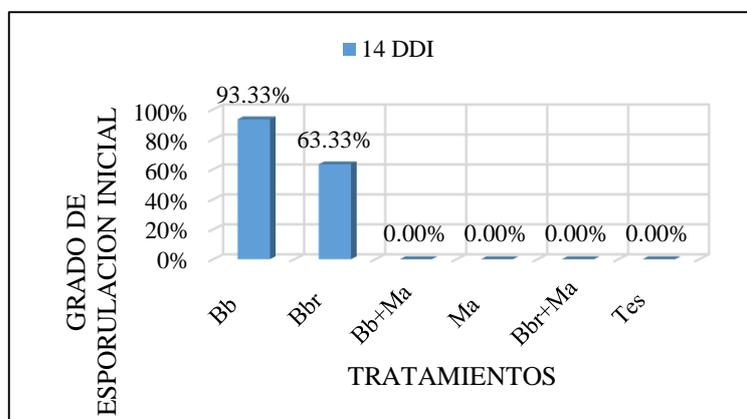
**C.V. = 25.66%**

En la tabla 10, se detalla el análisis de varianza para el grado de esporulación inicial obtenido con cada uno de los tratamientos a los 14 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que existe diferencias significativas, dado que el  $p$  (0.0001) es menor que el  $\alpha$  (0.05).

El coeficiente de variabilidad es de 25.66%, si bien es relativamente alto para condiciones de laboratorio, esto se debe a las pronunciadas diferencias entre grados de esporulación inicial que muestran cada uno de los tratamientos. Seguidamente se realizó la prueba de Duncan para determinar los mejores tratamientos.

**Tabla 11.** Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación inicial alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 14 días después de la inoculación.

Tratamientos	Medias (Datos originales)	Medias (Datos transformados)	Agrupamiento
Bb	93.33	81.14	A
Bb+Ma	63.33	52.78	B
Ma	0.00	4.05	C
Bbr+Ma	0.00	4.05	C
Bbr	0.00	4.05	C
Tes	0.00	4.05	C



**Figura 5.** Grado de esporulación inicial (%) a los 14 días después de la inoculación.

En la tabla 11, se observa que a los 14 días después de la inoculación, el tratamiento *Beauveria bassiana* y la combinación entre *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, son estadísticamente superiores al resto de tratamientos y además estadísticamente diferentes entre sí, mientras que *Beauveria bassiana* alcanza 93.33%, la combinación entre *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* muestra un 63.33%. También se evidencia que los demás tratamientos no muestran esporulación inicial de los entomopatógenos en los gorgojos de la alfalfa.

A 14 días después de la inoculación, se evidencia el progreso de esporulación inicial de los tratamientos respecto a la anterior evaluación (10 días después de la inoculación), de la siguiente manera: *Beauveria bassiana* logra inmovilizar a un 23.33% adicional, mientras que la combinación entre *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de tener 0.00%, alcanza 63.33%, evidenciando la capacidad de ataque de *Beauveria bassiana*.

#### 4.3.3. Grado de Esporulación plena.

No se realizó análisis estadístico sobre el grado de esporulación plena debido a que a los 14 días después de la inoculación no se evidenció esporulación en ninguno de los tratamientos.

#### 4.4. Cuarta Evaluación (17 días después de la inoculación)

##### 4.4.1. Grado de Eficacia.

No se realizó análisis estadístico sobre el grado de eficacia debido a que a los 17 días después de la inoculación, todos los tratamientos han logrado la mortalidad total de los gorgojos, y ya no existe diferencias entre ellos. En estas instancias solo se mantienen vivos los insectos de testigo.

##### 4.4.2. Grado de esporulación inicial.

No se realizó el análisis debido a que los tratamientos no muestran diferencias con respecto a la última evaluación (14 Días Después de la Inoculación). Se mantienen constantes los índices de esporulación inicial.

##### 4.4.3. Grado de esporulación plena.

**Tabla 12.** Análisis de varianza para el grado de esporulación plena de entomopatógenos a los 17 días después de la inoculación en los diferentes tratamientos. (Datos transformados por la raíz cuadrada del arco seno).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Trat	7606.56	5	1521.31	170.85	<0.0001
Error	106.85	12	8.90		
Total	7713.41	17			

**C.V. = 22.53%**

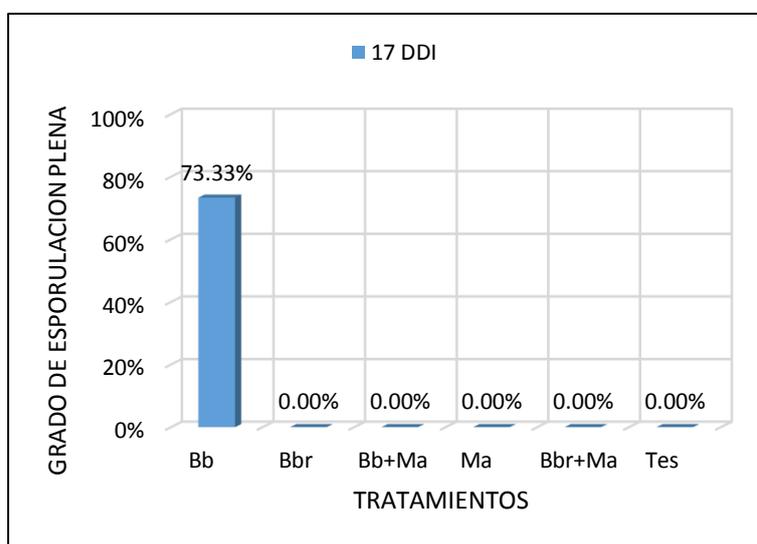
En la tabla 12, se detalla el análisis de varianza para el grado de esporulación plena obtenido con cada uno de los tratamientos a los 14 días después de la inoculación. Para la fuente de variación de los tratamientos se observa que existe diferencias significativas, dado que el p (0.0001) es menor que el  $\alpha$  (0.05).

El coeficiente de variabilidad es de 22.53%, si bien es relativamente alto para condiciones de laboratorio, esto se debe a las pronunciadas diferencias entre grados de esporulación que

muestran cada uno de los tratamientos. Seguidamente se realizó la prueba de Duncan para determinar los mejores tratamientos.

**Tabla 13.** Prueba de Duncan al 5% de probabilidad para determinar el mejor tratamiento, con respecto al grado de esporulación plena alcanzado por entomopatógenos en el control de gorgojo de la alfalfa, a los 17 días después de la inoculación.

Tratamientos	Medias (Datos originales)	Medias (Datos transformados)	Agrupamiento
Bb	73.33	59.21	A
Bbr+Ma	0.00	4.05	B
Ma	0.00	4.05	B
Bbr	0.00	4.05	B
Tes	0.00	4.05	B
Bb+Ma	0.00	4.05	B



**Figura 6.** Grado de esporulación plena (%) a los 17 días después de la inoculación.

En la tabla 13, se observa que a los 17 días después de la inoculación, solo tratamiento *Beauveria bassiana* es estadísticamente diferente al resto de tratamientos, observándose que alcanza un nivel de 73.33% de esporulación, mientras que los demás tratamientos no muestran esporulación plena.

**Tabla 14.** Resumen de la eficacia alcanzada por los diferentes tratamientos, sobre el gorgojo de la alfalfa.

Tratamientos	0 DDI*	7 DDI	10 DDI	14 DDI	17 DDI
<b>Bb</b>	0.00%	86.67%	100.00%	100.00%	100.00%
<b>Bbr</b>	0.00%	70.00%	80.00%	100.00%	100.00%
<b>Bb+Ma</b>	0.00%	13.33%	50.00%	100.00%	100.00%
<b>Ma</b>	0.00%	10.00%	30.00%	100.00%	100.00%
<b>Bbr+Ma</b>	0.00%	6.67%	43.33%	100.00%	100.00%
<b>Tes</b>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

\* Se asume como 0 DDI, al día en que se realizó la inoculación de los entomopatógenos.

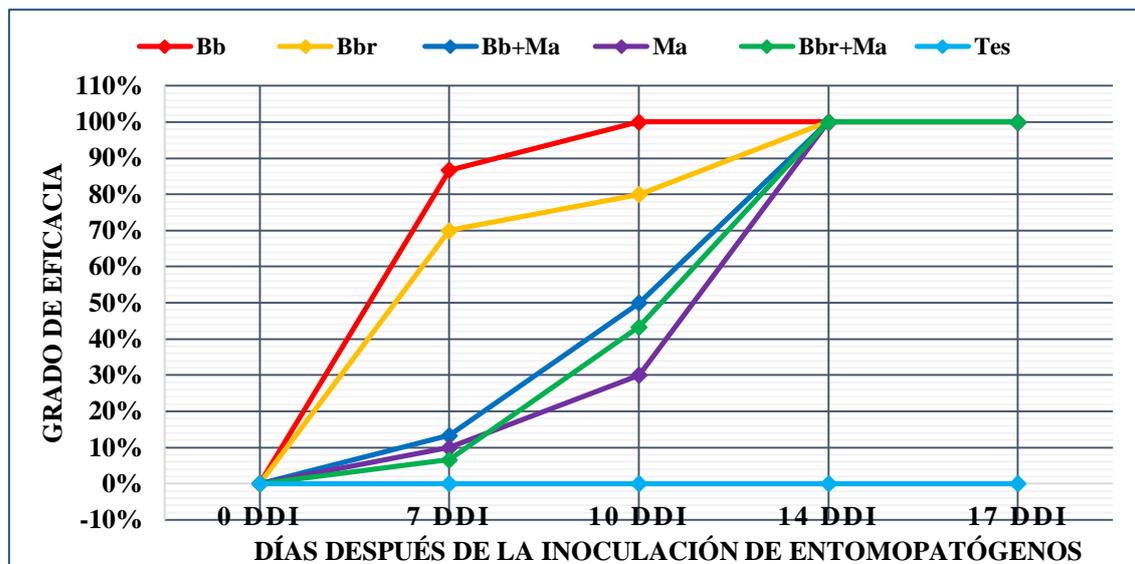


Figura 7. Comparativo del grado de eficacia alcanzado por los entomopatógenos a través del tiempo, en el control de gorgojo de la alfalfa.

En la tabla 14 y en la figura 7, se aprecia el comparativo de la eficacia alcanzada por los entomopatógenos para cada tratamiento a diferentes días después de la inoculación, en el control de gorgojo de la alfalfa. Se observa que a 7 días después de la inoculación, el mayor grado de eficacia lo alcanza los hongos del género *Beauveria*. *B. bassiana* muestra un grado de eficacia de 86.67%, seguido por *B. brongniartii* con 70.00%. Los demás tratamientos mantienen un nivel bajo de eficacia, no logrando superar el 15%.

A medida que avanzan los días después de la inoculación, se observa una mayor actividad de los entomopatógenos, elevando el grado de eficacia en el control de gorgojo de la alfalfa, así por ejemplo a los 10 días después de la inoculación *B. bassiana* alcanza la mortalidad total de los gorgojos, en tanto que *B. brongniartii* incrementa en 10% su actividad. También se observa que los tratamientos combinados *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria brongniartii* + *Metarhizium anisopliae* alcanzan mortalidades de 50% y 43.33% respectivamente. Esta actividad se debe a la actividad a los entomopatógenos del género *Beauveria*. También se observa que *Metarhizium anisopliae* actuando individualmente tiene una actividad relativamente lenta, este tratamiento ocupa el último lugar con tan solo 30% de eficacia.

De la tabla 14 y de la figura 7, se concluye que a los 14 días después de realizada la inoculación de los entomopatógenos, estos logran la mortalidad total de los gorgojos en todos los tratamientos.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El entomopatógeno que muestra mejor eficacia sobre los gorgojos de la alfalfa (Familia: *Curculionidae*), debido a sus mayores porcentajes obtenidos es *Beauveria bassiana*, logrando la mortalidad del 100% de los insectos a los 10 días después de la inoculación. El entomopatógeno *Beauveria brongniartii*, también muestra un aceptable nivel de eficacia (80%) a los 10 días después de la inoculación.
- La esporulación inicial de los entomopatógenos, se evidencia de la mejor manera en *Beauveria bassiana* observándose que a los 10 días después de inoculado, ya muestra un 70% de gorgojos con Esporulación inicial.
- La esporulación plena de los entomopatógenos es directamente proporcional a la esporulación inicial de los mismos, evidenciándose que a los 17 días después de la inoculación, el tratamiento *Beauveria bassiana* muestra un índice de 73.33% de insectos muertos en los cuales se observa microscópicamente estructuras reproductivas.
- Se recomienda realizar ensayos en campo para confirmar los resultados obtenidos en laboratorio, contrastando parámetros ambientales de humedad relativa y temperatura.

## CAPÍTULO VI

### BIBLIOGRAFÍA

Agrobit. 2014. Ecofisiología del cultivo de Alfalfa. Buenos Aires, Argentina. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en:

[http://www.agrobit.com/Documentos/A\\_1\\_1\\_Alfalfa%5C586\\_ag\\_000003al\[1\].htm](http://www.agrobit.com/Documentos/A_1_1_Alfalfa%5C586_ag_000003al[1].htm)

Albán R. 1992. Evaluación de quince variedades de alfalfa en dos localidades de la Sierra Ecuatoriana. Tesis Ing. Agrónomo. Quito, Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.

Andia, W; Argote, G. 2006. Guía Práctica de Pastos Cultivados: Instalación, producción y manejo. Puno, Perú. INIA – USAID PERU – CARE. 37 p.

Aragón, J. 1990. Manejo integrado de plagas. Alfalfa. En: Cuaderno de actualización técnica N° 49, CREA: p. 56-73

Aragón, J. y Imwinkelried, J. 2007. Manejo integrado de plagas de la alfalfa. En: El cultivo de la alfalfa en la Argentina. D. H. Basigalup (Ed.) Buenos Aires: INTA. Cap. 9. p. 165-197.

Basigalup, DH. 2007. El Cultivo de la Alfalfa en la Argentina. Buenos Aires, Argentina. Ediciones INTA. 476p.

Beltran, VM. 1999. Manipulación de la senescencia de alfalfa (*Medicago sativa* L.) por ingeniería genética. Tesis Magister. Buenos, Aires Argentina. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía.

Bermejo, J. 2011. Información sobre *Hypera postica*. (en línea). Valencia, España. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://www.agrologica.es/informacion-plaga/gusano-verde-alfalfa-hypera-postica/>

Butt, M; Jackson, C; Magan, N. 2001. Fungi as biological control agent: progress, problems and potencial. In: Butt, M; Jackson, C; Magan, N. (Eds.). Fungi as biocontrol agents. Wallingford: CABI International. p. 1-8.

Cabello, T. 2006. Evaluación de agentes de control macrobiológico. (en línea). Almería, España. Consultado el 20 nov. 2016. Disponible en:

<http://www.ual.es/personal/tcabello/Temarios/CBTema14Web.pdf>

Cañedo, V. y Ames, T. 2004. Manual De Laboratorio Para El Manejo De Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú, 62 p.

Castillo, CA; Cañizalez, LM; Valera, R; Godoy, JC; Guedez, C; Olivar, R. y Morillo, S. 2011. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo - Venezuela. p. 275-281.

CIAT (Centro de Internacional de Agricultura Tropical, Colombia). 1982, Manual para la Evaluación Agronómica. Cali - Colombia. 150 p.

Cisneros, F. 1995. Control de Plagas Agrícolas: Control Biológico (en línea). Lima, Perú. 58 p. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en:

[http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/CPA\\_8\\_PG\\_102-147.pdf](http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/CPA_8_PG_102-147.pdf).

Ecured. 2015. *Beauveria bassiana*. (en línea). La Habana, Cuba. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Beauveria\\_bassiana](https://www.ecured.cu/Beauveria_bassiana)

EOL (Encyclopedia Of Life, Estados Unidos). 2012. *Hypera postica*: Un gorgojo. (en línea). Estados Unidos. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en:

<http://eol.org/pages/695894/overview>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). 2003. Resistencia a los antiparasitarios: estado actual con énfasis en América Latina. Roma: Dirección de producción y sanidad animal de la FAO. p. 33-35.

Imwinkelried, J; Albrecht, R; Salto, C; Zheuder, R. Y Galetto, A. 1992. Implementación de una estrategia para el control integrado de plagas de la alfalfa en un área restringida de la provincia de Santa Fe. INTA-E.E.A. Rafaela (Arg.) Agronomía Inf. para Ext. N.º 151, 4 p.

INBIO (Instituto Nacional de Biodiversidad, Costa Rica). 2016. Hongos entomopatógenos: Cordyceps y similares. (en línea). Santo Domingo, Costa Rica. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://www.inbio.ac.cr/papers/entomopatogenos/>

Lacey, A; Frutos, R; Kaya, K. y VAIL, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biol. Control*, v. 21, p. 230-248.

López, LV y Hans-Börje, J. 2001. Biodiversidad del suelo: control biológico de nematodos fitopatógenos por hongos nematófagos. *Cuaderno de Biodiversidad*, v. 3, n. 6, p. 12-15.

Meyling, N. y Eilenberg, J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control*, v. 43, n. 2, p. 145-155.

Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. (en línea). Managua, Nicaragua. Consultado el 20 nov. 2016. Disponible en: <http://www.bio-nica.info/biblioteca/Monzon2001HongoEntomopatogenos.pdf>

Parodi, L. 1964. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Ed. Acme, Buenos Aires. 775 p.

Perrazo, C. 1990. Evaluación de 15 variedades de alfalfa en Machachi, Cantón Mejía. Tesis Ing. Agrónomo. Quito, Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.

Pucheta, M; Flores, A; Rodríguez, S; De La Torre, M. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *INCI*, v. 31, n. 12, p. 856-860.

Productos Biológicos Perkins. 2016. METABIOL: *Metarhizium anisopliae*. (en línea). Palmira Valle, Colombia. Consultado el 20 nov. 2016. Disponible en: <http://perkinsltda.com.co/metabiol/>

Rossagino R. 1999. La pastura base alfalfa (en línea). Buenos Aires, Argentina. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://sian.info.ve/eventos/fericerdo/rossanigo.htm>

Sepúlveda, E; Gerding, M. y France, A. 2010. Control de plagas con hongos entomopatógenos. (en línea). Almería, España. Consultado el 20 nov. 2016. Disponible en: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/bioleche/NR37160.pdf>

Shubat, M. 1990. Producción y utilización de alfalfa: Técnicas agronómicas en el cultivo de alfalfa. (en línea). Chillán, Chile. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR17193.pdf>

TodoAgro. 2014. Alfalfa, un cultivo con historia. (en línea). Buenos Aires, Argentina. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://www.todoagro.com.ar/noticias/nota.asp?nid=27274>

Tooker, J. 2013. Notas Entomológicas: El gorgojo de la alfalfa. (en línea). Pennsylvania, Estados Unidos. Consultado el 15 nov. 2016. Disponible en: <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/pdf/spanish-pdfs/alfalfa-weevil-sp>

Torres, H; Ortega, AM; Alcázar, J; Ames, T. y Palomino, L. 1993. Control biológico del gorgojo de los andes (*Premnotrypes* spp.) con *Beauveria brongniartii*. Guía de Investigación CIP 8. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 37 p.

Vera, A; Alcázar, J. y Aréstegui, A. 1995. Restos vegetales como substrato del hongo *Beauveria brongniartii*, patógeno del gorgojo de los Andes. *Rev. per. Ent.* 38: 91-94.

Zhanga, YJ; Fengb, MG; Fana, YH; Luo, ZB; Yanga, XY. y Wua, De. 2008. A cuticle-degrading protease (CDEP-1) of *Beauveria bassiana* enhances virulence. *Biocontrol Science and Technology.* 18(6). p. 543-555.

## CAPÍTULO VII

### ANEXOS



**Figura 8.** Zonas de muestreo en el distrito de Jesús.



**Figura 9.** Recolección de Insectos (Familia: *Curculionidae*).



**Figura 10.** Acondicionamiento de tratamientos (tapers) en laboratorio.



**Figura 11.** Preparación de caldo entomopatógeno: Preparación material



**Figura 12.** Preparación de caldo entomopatógeno: Pesado del hongo entomopatógeno.



**Figura 13.** Preparación de caldo entomopatógeno: Hidratación de esporas.



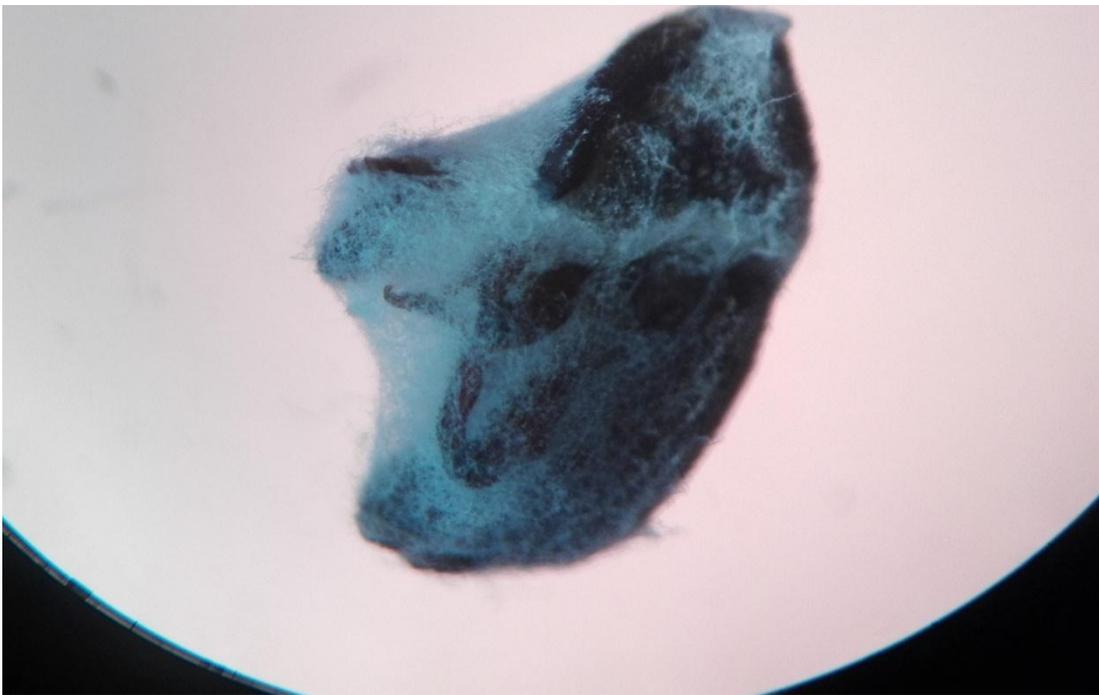
**Figura 14.** Aplicación de caldo entomopatógeno.



**Figura 15.** Evaluación del tratamiento *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria brongniartii* + *Metarhizium anisopliae* + testigo a los 7 días después de la inoculación: aislamiento en cámara húmeda a los insectos muertos



**Figura 16.** Evaluación del tratamiento *Beauveria bassiana* a los 10 días después de la inoculación. Observación de esporulación de *Beauveria bassiana* en estereoscopio a 25 X



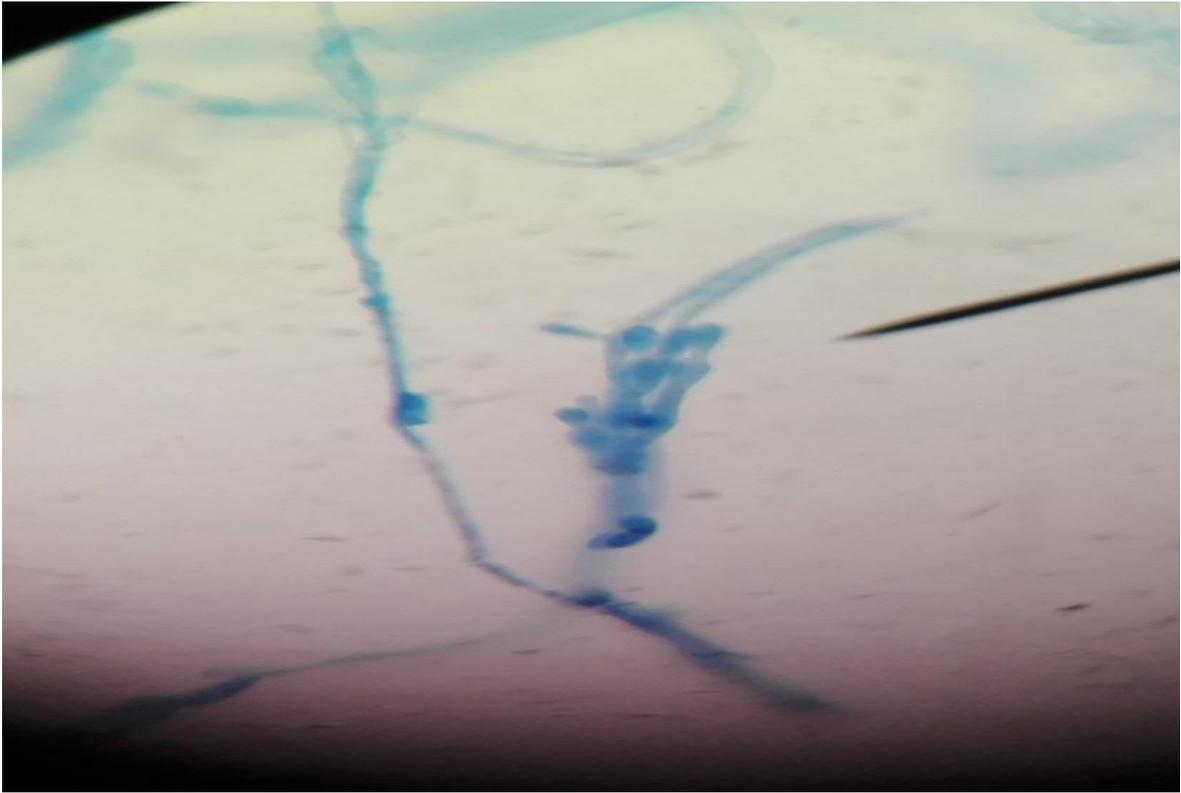
**Figura 17.** Evaluación del tratamiento *Beauveria bassiana* a los 14 días después de la inoculación. Observación de esporulación de *Beauveria bassiana* en estereoscopio a 25 X



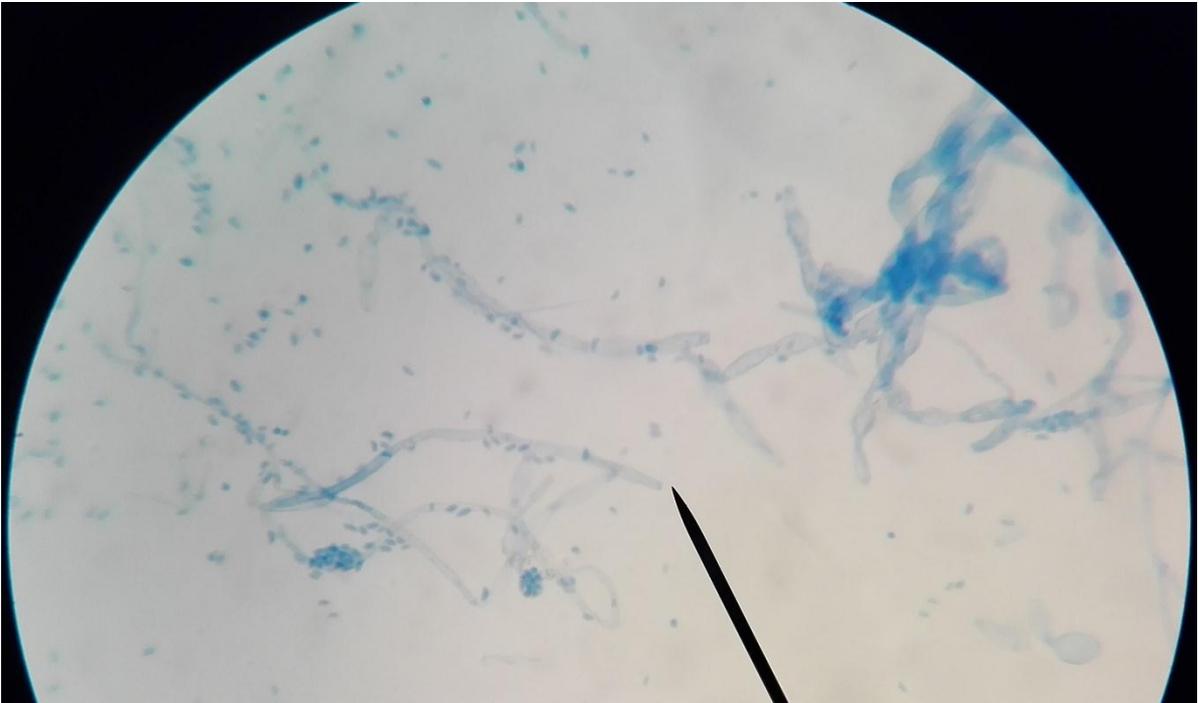
**Figura 18.** Evaluación del tratamiento *Beauveria bassiana* a los 14 días después de la inoculación. Observación de esporulación de *Beauveria bassiana* en estereoscopio a 25 X



**Figura 19.** Observación de las estructuras reproductivas de *Beauveria bassiana* en microscopio a 40 X



**Figura 20.** Observación de las estructuras reproductivas de *Beauveria bassiana* en microscopio a 40 X



**Figura 21.** Observación de las estructuras reproductivas de *Beauveria bassiana* en microscopio a 40 X

**Tabla 15.** Características de las fuentes de entomopatógenos.

<b>Ingrediente activo (i.a)</b>	<b>Presentación (Bolsa)</b>	<b>Dosis recomendada (Bolsas ha<sup>-1</sup>)*</b>	<b>Concentración (Conidias gr<sup>-1</sup>)</b>
<i>Beauveria bassiana</i>	800 gr en sustrato de arroz	2 – 4	1.0 x 10 <sup>10</sup>
<i>Beauveria brongniartii</i>	800 gr en sustrato de arroz	2 – 4	1.0 x 10 <sup>10</sup>
<i>Metarhizium anisopliae</i>	800 gr en sustrato de arroz	2 - 4	1.0 x 10 <sup>10</sup>

(\*) Se asume que por cada ha, se utiliza 200 litros de agua.

**Tabla 16.** Registro de evaluaciones realizadas.

<b>N° EVAL</b>	<b>FECHA</b>	<b>PARAMETRO DE EVALUACION</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>																	
			<b>1</b>			<b>2</b>			<b>3</b>			<b>4</b>			<b>5</b>			<b>6</b>		
			<b>Bb</b>			<b>Bbr</b>			<b>Ma</b>			<b>Bb+Ma</b>			<b>Bbr+Ma</b>			<b>Tes</b>		
			<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
1	11/03/2016	VIVOS	1	2	1	4	3	2	8	9	10	9	9	8	9	10	9	10	10	10
		MUERTOS	9	8	9	6	7	8	2	1	0	1	1	2	1	0	1	0	0	0
		ESPORULACION INICIAL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		ESPORULACION PLENA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	14/03/2016	VIVOS	0	0	0	2	3	1	7	8	6	4	8	5	5	6	4	10	10	10
		MUERTOS	10	10	10	8	7	9	3	2	4	6	2	5	5	4	6	0	0	0
		ESPORULACION INICIAL	8	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		ESPORULACION PLENA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	18/03/2016	VIVOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10
		MUERTOS	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	0	0
		ESPORULACION INICIAL	10	8	10	0	0	0	0	0	0	6	6	7	0	0	0	0	0	0
		ESPORULACION PLENA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	21/03/2016	VIVOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10
		MUERTOS	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	0	0
		ESPORULACION INICIAL	10	8	10	0	0	0	0	0	0	6	6	7	0	0	0	0	0	0
		ESPORULACION PLENA	8	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Tabla 17.** Transformación de datos (Evaluación a los 7 días después de la inoculación).

Tratamientos	DDI	Rep	NUMERO DE GORGOJOS				PORCENTAJE (%)			DATOS TRANSFORMADOS		
			Vivos	Muertos	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena
Bb	7	1	1	9	0	0	90	0	0	71.57	4.05	4.05
Bb	7	2	2	8	0	0	80	0	0	63.43	4.05	4.05
Bb	7	3	1	9	0	0	90	0	0	71.57	4.05	4.05
Bbr	7	1	4	6	0	0	60	0	0	50.77	4.05	4.05
Bbr	7	2	3	7	0	0	70	0	0	56.79	4.05	4.05
Bbr	7	3	2	8	0	0	80	0	0	63.43	4.05	4.05
Ma	7	1	8	2	0	0	20	0	0	26.57	4.05	4.05
Ma	7	2	9	1	0	0	10	0	0	18.43	4.05	4.05
Ma	7	3	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Bb+Ma	7	1	9	1	0	0	10	0	0	18.43	4.05	4.05
Bb+Ma	7	2	9	1	0	0	10	0	0	18.43	4.05	4.05
Bb+Ma	7	3	8	2	0	0	20	0	0	26.57	4.05	4.05
Bbr+Ma	7	1	9	1	0	0	10	0	0	18.43	4.05	4.05
Bbr+Ma	7	2	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Bbr+Ma	7	3	9	1	0	0	10	0	0	18.43	4.05	4.05
Tes	7	1	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	7	2	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	7	3	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05

Se utilizó la transformación de datos por la Raíz Cuadrada del Arco seno, esto debido a que la variable se expresa en porcentajes y está dispersa en una escala de 0 a 100. Con la siguiente formula:  $A = \text{Arcsin}\sqrt{Y/100}$ . Si la función está en radianes, se debe multiplicar el resultado por 180/3.1415 para tener la respuesta en ángulos en la escala de 0 a 90, Así:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y/100}) * 180/3.1415$ .

A valores pequeños se le suma 0.5. quedando de la siguiente manera:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y + 0.5/100}) * 180/3.1415$ .

**Tabla 18.** Transformación de datos (Evaluación a los 10 días después de la inoculación).

Tratamientos	DDI	Rep	NUMERO DE GORGOJOS				PORCENTAJE (%)			DATOS TRANSFORMADOS		
			Vivos	Muertos	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena
Bb	10	1	0	10	8	0	100	80	0	90.00	63.43	4.05
Bb	10	2	0	10	7	0	100	70	0	90.00	56.79	4.05
Bb	10	3	0	10	6	0	100	60	0	90.00	50.77	4.05
Bbr	10	1	2	8	0	0	80	0	0	63.43	4.05	4.05
Bbr	10	2	3	7	0	0	70	0	0	56.79	4.05	4.05
Bbr	10	3	1	9	0	0	90	0	0	71.57	4.05	4.05
Ma	10	1	7	3	0	0	30	0	0	33.21	4.05	4.05
Ma	10	2	8	2	0	0	20	0	0	26.57	4.05	4.05
Ma	10	3	6	4	0	0	40	0	0	39.23	4.05	4.05
Bb+Ma	10	1	4	6	0	0	60	0	0	50.77	4.05	4.05
Bb+Ma	10	2	8	2	0	0	20	0	0	26.57	4.05	4.05
Bb+Ma	10	3	5	5	0	0	50	0	0	45.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	10	1	5	5	0	0	50	0	0	45.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	10	2	6	4	0	0	40	0	0	39.23	4.05	4.05
Bbr+Ma	10	3	4	6	0	0	60	0	0	50.77	4.05	4.05
Tes	10	1	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	10	2	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	10	3	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05

Se utilizó la transformación de datos por la Raíz Cuadrada del Arco seno, esto debido a que la variable se expresa en porcentajes y está dispersa en una escala de 0 a 100. Con la siguiente formula:  $A = \text{Arcsin}\sqrt{Y/100}$ . Si la función está en radianes, se debe multiplicar el resultado por 180/3.1415 para tener la respuesta en ángulos en la escala de 0 a 90, Así:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y/100}) * 180/3.1415$ .

A valores pequeños se le suma 0.5 quedando de la siguiente manera:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y + 0.5/100}) * 180/3.1415$ .

**Tabla 19.** Transformación de datos (Evaluación a los 14 días después de la inoculación).

Tratamientos	DDI	Rep	NUMERO DE GORGOJOS				PORCENTAJE (%)			DATOS TRANSFORMADOS		
			Vivos	Muertos	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena
Bb	14	1	0	10	10	0	100	100	0	90.00	90.00	4.05
Bb	14	2	0	10	8	0	100	80	0	90.00	63.43	4.05
Bb	14	3	0	10	10	0	100	100	0	90.00	90.00	4.05
Bbr	14	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr	14	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr	14	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	14	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	14	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	14	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bb+Ma	14	1	0	10	6	0	100	60	0	90.00	50.77	4.05
Bb+Ma	14	2	0	10	6	0	100	60	0	90.00	50.77	4.05
Bb+Ma	14	3	0	10	7	0	100	70	0	90.00	56.79	4.05
Bbr+Ma	14	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	14	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	14	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Tes	14	1	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	14	2	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	14	3	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05

Se utilizó la transformación de datos por la Raíz Cuadrada del Arco seno, esto debido a que la variable se expresa en porcentajes y está dispersa en una escala de 0 a 100. Con la siguiente formula:  $A = \text{Arcsin}\sqrt{Y/100}$ . Si la función está en radianes, se debe multiplicar el resultado por 180/3.1415 para tener la respuesta en ángulos en la escala de 0 a 90, Así:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y/100}) * 180/3.1415$ .

A valores pequeños se le suma 0.5. quedando de la siguiente manera:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y + 0.5/100}) * 180/3.1415$ .

**Tabla 20.** Transformación de datos (Evaluación a los 17 días después de la inoculación).

Tratamientos	DDI	Rep	NUMERO DE GORGOJOS				PORCENTAJE (%)			DATOS TRANSFORMADOS		
			Vivos	Muertos	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena	Eficacia	Esporulación inicial	Esporulación plena
Bb	17	1	0	10	10	8	100	100	80	90.00	90.00	63.43
Bb	17	2	0	10	8	6	100	80	60	90.00	63.43	50.77
Bb	17	3	0	10	10	8	100	100	80	90.00	90.00	63.43
Bbr	17	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr	17	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr	17	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	17	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	17	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Ma	17	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bb+Ma	17	1	0	10	6	0	100	60	0	90.00	50.77	4.05
Bb+Ma	17	2	0	10	6	0	100	60	0	90.00	50.77	4.05
Bb+Ma	17	3	0	10	7	0	100	70	0	90.00	56.79	4.05
Bbr+Ma	17	1	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	17	2	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Bbr+Ma	17	3	0	10	0	0	100	0	0	90.00	4.05	4.05
Tes	17	1	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	17	2	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05
Tes	17	3	10	0	0	0	0	0	0	4.05	4.05	4.05

Se utilizó la transformación de datos por la Raíz Cuadrada del Arco seno, esto debido a que la variable se expresa en porcentajes y está dispersa en una escala de 0 a 100. Con la siguiente formula:  $A = \text{Arcsin}\sqrt{Y/100}$ . Si la función está en radianes, se debe multiplicar el resultado por 180/3.1415 para tener la respuesta en ángulos en la escala de 0 a 90, Así:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y/100}) * 180/3.1415$ .

A valores pequeños se le suma 0.5. quedando de la siguiente manera:  $A = \text{Arcsin}(\sqrt{Y + 0.5/100}) * 180/3.1415$ .

## GLOSARIO

**ANVA:** Análisis de varianza.

**DCR:** Diseño completamente randomizado.

**DDI:** Días después de la inoculación.

**Bolsa ha<sup>-1</sup>:** Bolsas por hectárea.

**Hemocele:** Cavidad general secundaria de los artrópodos, que constituye un sistema lagunar lleno de líquido hemático y forma parte del aparato circulatorio abierto.

**Inanición:** Extrema debilidad física provocada por la falta de alimento.