

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**Escuela Profesional de Agronomía**



**TESIS**

**Para Optar el Título Profesional de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**EFFECTO BIOPLAGUICIDA DE *Beauveria bassiana* Y  
*Lecanicillium lecanii* SOBRE *Diabrotica* sp. EN EL CULTIVO DE  
ALFALFA (*Medicago sativa* L.) EN CAJAMARCA**

**PRESENTADO POR**

**BACHILLER :** Roberth Joel Bustamante Gonzáles

**ASESORES :** Ing. Alonso Vela Ahumada

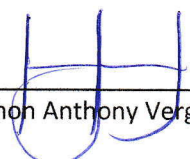
Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori

**CAJAMARCA - PERÚ  
-2024-**

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador:  
Roberth Joel Bustamante Gonzáles  
DNI: 47225686  
Escuela Profesional/Unidad UNC: AGRONOMÍA
2. Asesor:  
Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacondori  
Facultad/Unidad UNC: CIENCIAS AGRARIAS
3. Grado académico o título profesional  
 Bachiller     Título profesional     Segunda especialidad  
 Maestro     Doctor
4. Tipo de Investigación:  
 Tesis     Trabajo de investigación     Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
EFECTO BIOPLAGUICIDA DE *Beauveria bassiana* Y *Lecanicillium lecanii* SOBRE *Diabrotica* sp. EN EL CULTIVO DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.) EN CAJAMARCA
6. Fecha de evaluación: 20/06/2024
7. Software antiplagio:  **TURNITIN**     **URKUND (OURIGINAL) (\*)**
8. Porcentaje de Informe de Similitud: 13%
9. Código Documento: oid:3117:362249939
10. Resultado de la Evaluación de Similitud: 13%  
 **APROBADO**     **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**

Fecha Emisión: 20/06/2024

<i>Firma y/o Sello Emisor Constancia</i>
 _____ Ing. Agr. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacondori DNI: 40660663

\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

“NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA”

Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Secretaría Académica



### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los once días del mes de junio del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el ambiente 2C - 202 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según **Resolución de Consejo de Facultad N° 174-2024-FCA-UNC, de fecha 18 de marzo del 2024**, con la finalidad de evaluar la sustentación de la **TESIS** titulada: **“EFECTO BIOPLAGUICIDA DE *Beauveria bassiana* Y *Lecanicillium lecanii* SOBRE *Diabrotica* sp. EN EL CULTIVO DE ALFALFA (*Medicago sativa* L.) EN CAJAMARCA”**, realizada por el Bachiller **ROBERTH JOEL BUSTAMANTE GONZÁLES** para optar el Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las dieciséis horas y treinta minutos, de acuerdo a lo establecido en el **Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca**, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de dieciséis (16); por tanto, el Bachiller queda expedito para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de **INGENIERO AGRÓNOMO**.

A las diecisiete horas y cuarenta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.

Dr. Wilfredo Poma Rojas  
PRESIDENTE

MBA. Ing. Santiago Demetrio Medina Miranda  
SECRETARIO

Ing. M. Sc. Jesús Hipólito De La Cruz Rojas  
VOCAL

Ing. Alonso Vela Ahumada  
ASESOR

Ing. Mg. Sc. Jhon Anthony Vergara Copacandori  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

Dedico el presente proyecto de investigación primordialmente a mi hija y a mis padres quienes me brindaron fortaleza y apoyo incondicional durante todo el proceso, seguidamente a todas las personas que me apoyaron para poder realizar y concluir la investigación de especial mención a mis asesores.

El autor

## **AGRADECIMIENTO**

Dar gracias a Dios por darme la salud, la paciencia y el despertar del día a día sin el nada hubiese podido ser posible, a mi hija por ser mi fortaleza y guía a mi vida, y a mis padres por darme la mejor herencia siendo mi educación, a mis asesores por darme los alcances necesarios para poder realizar y concluir el trabajo de investigación, a los técnicos responsable de los laboratorios quienes me brindaron la facilidad para poder acceder y hacer uso de los ambientes y equipos.

El Autor

## RESUMEN

La investigación fue realizada en un campo de cultivo de alfalfa de la variedad SW 8210 en el Centro Poblado Agopampa Baja, distrito, provincia y departamento de Cajamarca, con el objetivo de determinar el efecto bioplaguicida de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* sobre *Diabrotica* sp. El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. ( $T_2 = 48 \times 10^{10}$  conidias /litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (47,3 %) de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, luego de siete días posteriores a su aplicación, superando al hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (36,8 %). Los principales síntomas causados por *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. y *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) en adultos de *Diabrotica undecimpunctata* fueron movimientos involuntarios y descoordinados, seguidos de parálisis, decoloración y deshidratación, hasta llegar a causar la muerte del insecto, para luego ser colonizado por el micelio del entomopatógeno.

**Palabras clave:** *Diabrotica undecimpunctata*, entomopatógeno, *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*.

## ABSTRACT

The research was carried out in a field of alfalfa cultivation of the SW 8210 variety in the Agopampa Baja Population Center, district, province and department of Cajamarca, with the objective of determining the biopesticide effect of *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii* on *Diabrotica* sp. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. ( $T_2 = 48 \times 10^{10}$  conidia /liter) was the one that caused the highest mortality (47,3 %) of adults of *Diabrotica undecimpunctata*, seven days after its application, surpassing the entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (36,8 %). The main symptoms caused by *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. and *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) in adults of *Diabrotica undecimpunctata* were involuntary and uncoordinated movements, followed by paralysis, discoloration and dehydration, until causing the death of the insect, and then being colonized by the mycelium of the entomopathogen.

**Key words:** *Diabrotica undecimpunctata*, entomopathogen, *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii*.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

RESUMEN

ABSTRACT

<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b> <b>Objetivos</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1</b> <b><i>Objetivo general</i></b>	<b>2</b>
<b>1.1.2</b> <b><i>Objetivos específicos</i></b>	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b> <b>Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>2.2</b> <b>Bases teóricas</b>	<b>7</b>
<b>2.2.1</b> <b><i>Diabrotica undecimpunctata</i></b>	<b>7</b>
<b>a.</b> <b>Taxonomía.</b>	<b>7</b>
<b>b</b> <b>Morfología.</b>	<b>8</b>
<b>b.1</b> <b><i>Huevo.</i></b>	<b>8</b>
<b>b.2</b> <b><i>Larva.</i></b>	<b>8</b>
<b>b.3</b> <b><i>Pupa.</i></b>	<b>9</b>
<b>b.4</b> <b><i>Adulto.</i></b>	<b>10</b>
<b>c.</b> <b>Biología.</b>	<b>10</b>
<b>c.1</b> <b><i>Huevo.</i></b>	<b>10</b>
<b>c.2</b> <b><i>Larva.</i></b>	<b>10</b>
<b>c.3</b> <b><i>Pupa.</i></b>	<b>11</b>
<b>c.4</b> <b><i>Adulto.</i></b>	<b>11</b>
<b>d.</b> <b>Ecología.</b>	<b>11</b>
<b>2.2.2</b> <b><i>Hongos entomopatógenos</i></b>	<b>12</b>
<b>a.</b> <b>Producción.</b>	<b>12</b>
<b>b.</b> <b>Composición.</b>	<b>13</b>
<b>c.</b> <b>Ecotoxicología.</b>	<b>14</b>



<b>c.1</b>	<b><i>Impacto ambiental.</i></b>	<b>14</b>
<b>c.2</b>	<b><i>Riesgos y seguridad.</i></b>	<b>14</b>
<b>d.</b>	<b>Regulaciones y normas.</b>	<b>14</b>
<b>d.1</b>	<b><i>Norma legal.</i></b>	<b>14</b>
<b>d.2</b>	<b><i>Registro y aprobación.</i></b>	<b>15</b>
<b>2.2.3</b>	<b><i>Beauveria bassiana (Bals) Vuill.</i></b>	<b>16</b>
<b>a.</b>	<b>Taxonomía.</b>	<b>16</b>
<b>b.</b>	<b>Morfología.</b>	<b>16</b>
<b>c.</b>	<b>Modo y mecanismo de acción.</b>	<b>16</b>
<b>2.2.4</b>	<b><i>Lecanicillium lecanii (Zimm.).</i></b>	<b>18</b>
<b>a.</b>	<b>Taxonomía.</b>	<b>18</b>
<b>b.</b>	<b>Morfología.</b>	<b>18</b>
<b>c.</b>	<b>Modo y mecanismo de acción.</b>	<b>19</b>
<b>2.2.3</b>	<b><i>La alfalfa (Medicago sativa L.)</i></b>	<b>19</b>
<b>a.</b>	<b>Fenología.</b>	<b>19</b>
<b>a.1</b>	<b><i>Estado vegetativo.</i></b>	<b>19</b>
<b>a.2</b>	<b><i>Estado de botón floral.</i></b>	<b>20</b>
<b>a.3</b>	<b><i>Estado de floración.</i></b>	<b>20</b>
<b>a.4</b>	<b><i>Estado de producción de semillas.</i></b>	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS</b>		<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Ubicación</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Materiales</b>	<b>23</b>
<b>3.2.1</b>	<b><i>Material biológico</i></b>	<b>23</b>
<b>3.2.2</b>	<b><i>Material de campo</i></b>	<b>23</b>
<b>3.2.3</b>	<b><i>Material y equipo de laboratorio</i></b>	<b>24</b>
<b>3.3</b>	<b>Tipo y diseño de investigación</b>	<b>24</b>
<b>3.3.1</b>	<b><i>Características del campo experimental</i></b>	<b>24</b>
<b>a.</b>	<b>Área</b>	<b>24</b>
<b>b.</b>	<b>Bloques</b>	<b>25</b>
<b>c.</b>	<b>Parcelas</b>	<b>25</b>
<b>3.4</b>	<b>Metodología</b>	<b>27</b>
<b>3.4.1</b>	<b><i>Trabajo de campo</i></b>	<b>27</b>
<b>a.</b>	<b>Evaluación de <i>Diabrotica undecimpunctata</i>.</b>	<b>27</b>
<b>b.</b>	<b>Aplicación de entomopatógenos (<i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>).</b>	<b>27</b>

<b>b.1</b>	<b>Cálculo de dosis (<i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>).</b>	<b>28</b>
<b>b.1.1</b>	<b>Dosis baja (2 bolsas): 9,6 g/ 1,2 L.</b>	<b>28</b>
<b>b.1.2</b>	<b>Dosis alta (4 bolsas): 19,2 g/1,2 L.</b>	<b>28</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Trabajo de laboratorio</b>	<b>29</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Trabajo de gabinete</b>	<b>29</b>
	<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>30</b>
<b>4.1</b>	<b>Tratamiento 1 (T<sub>1</sub>): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) (24 x 10<sup>10</sup> conidias)</b>	<b>30</b>
<b>4.2</b>	<b>Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>): <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) (48 x 10<sup>10</sup> conidias)</b>	<b>32</b>
<b>4.3</b>	<b>Tratamiento 3 (T<sub>3</sub>): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) (24 x 10<sup>10</sup> conidias)</b>	<b>35</b>
<b>4.4</b>	<b>Tratamiento 4 (T<sub>4</sub>): <i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.) (48 x 10<sup>10</sup> conidias)</b>	<b>37</b>
<b>4.5</b>	<b>Comparación entre tratamientos</b>	<b>39</b>
	<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>47</b>
	<b>CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>48</b>
	<b>CAPÍTULO VII: ANEXOS</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	<i>Tratamientos en estudio</i>	28
2	<i>Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos</i>	30
3	<i>Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos</i>	33
4	<i>Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos</i>	35
5	<i>Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos</i>	37
6	<i>Análisis de varianza (ANOVA) para el número de adultos de Diabrotica undecimpunctata muertos</i>	41
7	<i>Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para los niveles del factor hongo entomopatógeno</i>	41
8	<i>Análisis de varianza (ANOVA) para el número de adultos de Diabrotica undecimpunctata vivos</i>	43
9	<i>Comparaciones múltiples de Dunnett (Testigo o control vs. Tratamientos)</i>	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	<i>Mecanismos de acción de los entomopatógenos.</i>	15
2	<i>Ubicación del experimento.</i>	22
3	<i>Diseño del campo experimental y distribución de los tratamientos.</i>	26
4	<i>Número de adultos de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> enfermos y muertos.</i>	31
5	<i>Número de adultos de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> enfermos y muertos.</i>	33
6	<i>Número de adultos de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> enfermos y muertos.</i>	36
7	<i>Número de adultos de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> enfermos y muertos.</i>	38
8	<i>Comparación del efecto entre <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Lecanicillium lecanii</i>.</i>	40
9	<i>Comparación del efecto entre tratamientos.</i>	42
10	<i>Comparación de medias entre los tratamientos y el testigo o control.</i>	44
11	<i>Campo experimental.</i>	55
12	<i>Adulto de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> alimentándose de hojas de alfalfa.</i>	56
13	<i>Signos de <i>Beauveria bassiana</i> en adulto de <i>Diabrotica undecimpunctata</i>.</i>	56
14	<i>Esporulación de <i>Beauveria bassiana</i> en adulto de <i>Diabrotica undecimpunctata</i>.</i>	57
15	<i>Estructuras reproductivas de <i>Beauveria bassiana</i> observadas al microscopio.</i>	57
16	<i>Adulto de <i>Diabrotica undecimpunctata</i> con sintomatología de infección provocada por <i>Lecanicillium lecanii</i>.</i>	58
17	<i>Esporulación de <i>Lecanicillium lecanii</i> en adulto de <i>Diabrotica undecimpunctata</i>.</i>	58
18	<i>Estructuras reproductivas de <i>Lecanicillium lecanii</i> observadas al microscopio.</i>	59

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	<b><i>Galería fotográfica</i></b>	<b>55</b>
<b>2</b>	<b><i>Temperatura, humedad relativa y precipitación promedios registrados según evaluaciones</i></b>	<b>60</b>
<b>3</b>	<b><i>Costos por aplicación de entomopatógeno en una hectárea de cultivo de alfalfa</i></b>	<b>60</b>

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) constituye el principal componente de la oferta forrajera de las pasturas implantadas para sistemas de producción bovina de carne y leche y de alimentación de otras especies animales a nivel mundial. El Perú es uno de los productores más importantes de esta especie y cuenta con aproximadamente 3,7 millones de hectáreas de alfalfa sembradas (Basigalup, 2014).

Para la alimentación del ganado y la producción de cuyes y conejos, tanto por la cantidad de forraje obtenido por superficie cultivada, como por su valor nutritivo, se emplea la alfalfa. De acuerdo con las estadísticas del Ministerio de Agricultura y Riego, en el Perú se siembra alrededor de 172 mil hectáreas, distribuidas principalmente en las zonas altas de Puno (55,4 mil ha), Arequipa (37,3 mil ha) y Tacna (11,1 mil ha). Además, se tiene reporte de algunos parientes silvestres en el territorio nacional de los géneros *Medicago* y *Melilotus* (MINAM, 2019). INEI (2012), reportó que Cajamarca cuenta con 824,49 ha de alfalfa sembradas alcanzado el 19,8 % de su superficie total de forrajes cultivados.

La población de animales menores existente en Cajamarca, requiere para una alimentación eficiente, de aproximadamente 148 097 hectáreas de pastos cultivados, con un rendimiento promedio de 20 Tn de forraje por corte; sin embargo, en la actualidad solamente cuenta con el 35 % de esta superficie, cuyos rendimientos escasamente llegan de 6 a 8 Tn de forraje por corte, generando un desbalance entre la oferta y demanda de los pastos y una gran oportunidad para la introducción de alfalfa fresca para los productores tanto de ganado vacuno como de animales menores en la zona urbana y rural de Cajamarca y más aún en las épocas de verano donde crece la demanda de los pastos, se reduce la producción de leche y por ende los precios se incrementan (Meza, 2012).

Los daños ocasionados por *Diabrotica* en plantas jóvenes pueden provocar resiembras, en tanto, que en plantas adultas producen debilitamiento y amarillamiento, por tales razones, los agricultores realizan medidas de control sanitario de tipo químico, lo que ha conllevado al deterioro ecológico de los ecosistemas agrícolas. Por ello, resulta estratégico evaluar alternativas de control biológico que reduzcan la densidad poblacional del insecto, con la finalidad de que los productores agrícolas dispongan de información que les permita implementar una estrategia de manejo integrado de plagas bajo el enfoque de la producción agrícola sustentable.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo general**

Determinar el efecto bioplaguicida de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* sobre *Diabrotica* sp. en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en Cajamarca.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

Determinar las dosis de *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* que provocan mayor mortalidad en adultos de *Diabrotica* sp. en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en Cajamarca.

Evaluar la sintomatología que produce *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii* sobre *Diabrotica* sp. en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en Cajamarca.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Antecedentes

Ramos et al. (2019) determinaron el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de crisomélidos (Coleoptera: Chrysomelidae) en el cultivo de alfalfa. Utilizaron las cepas comerciales de *B. bassiana* (Bb-18 y Bb-1) a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml y se pulverizó 1 ml de cada suspensión fúngica sobre placas de Petri con medio de cultivo Saboraud Dextrosa Agar con cloranfenicol (250 mg/l w/v). Las placas fueron incubadas en una cámara climática a 25 °C, completa oscuridad y 75 % de humedad relativa durante 72 h para determinar la germinación y esporulación de las cepas fúngicas. Se sumergieron 20 insectos adultos de la especie *Diabrotica* sp. y 20 insectos de *Cerotoma ruficornis* en cada uno de las cepas comerciales de *B. bassiana* a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/ml. Se realizó un tratamiento control con agua destilada y estéril. A todos los tratamientos se le adicionó 0,05 % de Tween 80 para romper la tensión superficial del agua. Los insectos fueron colocados en placas de Petri estériles con un papel de filtro humedecido y una hoja trifoliada de alfalfa para su alimentación. Los mismos se incubaron a 25 °C, 75 % de humedad relativa y completa oscuridad, diariamente fue determinada la mortalidad y la micosis producida por las cepas de *B. bassiana*. Los resultados revelaron que la cepa de *B. bassiana* (Bb-18) aplicada para el control de *Diabrotica* y *C. ruficornis*, logró mayor patogenicidad que la cepa Bb-1 con el 45 y 50 % respectivamente de los insectos muertos a los 3 días de inoculación, además alcanzó colonizar el 100 % de los insectos tratados a los 7 días. En este mismo orden, se obtuvo mayor porcentaje de micosis con la aplicación de la cepa Bb-18 (73 %) aunque no mostró diferencias significativas en este sentido con la cepa Bb-1 (69 %).



Monzon (2016) evaluó seis tratamientos con tres repeticiones (*Beauveria bassiana* + arcilla blanca, *Beauveria bassiana* + arcilla verde, *Beauveria bassiana* + talco, *Beauveria bassiana* + leche en polvo, *Beauveria bassiana* + aceite sunspray 6E, *Beauveria bassiana* en sustrato). Las aplicaciones se realizaron 20 días después del trasplante y la dosis de *Beauveria bassiana* fue de  $1,7 \times 10^{12}$  conidias/ha. Los muestreos fueron cada 8 días después del trasplante. Las variables evaluadas en laboratorio fueron: Viabilidad y concentración de conidias y en campo fue población de *Plutella xylostella*, *Leptophobia* sp. y *Diabrotica* sp. La viabilidad y concentración de conidias de *Beauveria bassiana* de los formulados fueron adecuados durante seis meses en almacenamiento. La formulación *Beauveria bassiana* + aceite sunspray 6E presentó los mejores resultados manteniendo los niveles más bajos de incidencia de *P. xylostella*, *Leptophobia* sp. y áfidos, pero menos efectiva para *Diabrotica* sp. La menor incidencia de *Diabrotica* sp. se observó en los tratamientos *Beauveria bassiana* + arcilla blanca, pero registró mayor incidencia de *P. xylostella* y *Leptophobia* sp. La menor incidencia de *P. xylostella* se observó en octubre y la mayor incidencia en noviembre. En cambio, *Leptophobia* sp. presentó niveles bajos en octubre y en noviembre la incidencia más alta. Para *Diabrotica* sp. los niveles más bajos se observaron a inicios de octubre y los más altos a finales del mismo mes. La mejor formulación fue *Beauveria bassiana* + aceite sunspray 6E para el manejo de *P. xylostella*, *Leptophobia* sp. y áfidos.

Rojas (2013) evaluó el efecto biocida de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en insectos comedores de hojas. La aplicación de *M. anisopliae*, *B. bassiana* y la combinación de *M. anisopliae* más *B. bassiana*, no mostraron un control significativo en los insectos comedores de hoja (*Diabrotica* sp. y *Manduca* sp.). Así mismo, de acuerdo a los resultados obtenidos para las variables altura de planta, diámetro de copa, diámetro de tallo, número de ramas, diámetro y longitud de fruto, peso de fruto por planta y rendimiento por hectárea, se pudo observar que existen diferencias en cuanto a los promedios de las variables evaluadas, en los cuales el testigo y la aplicación de *M. anisopliae*, mostraron los mejores promedios, seguido del tratamiento con *B. bassiana*

y la combinación con *M. anisopliae* más *B. bassiana*, debiéndose principalmente a otros factores como las características del suelo (pobre en nutrientes) y no al efecto de la aplicación de los hongos entomopatógenos.

Ortiz et al. (2011) mencionaron que la humedad relativa (HR) y la temperatura son factores importantes en el desarrollo de los hongos entomopatógenos *Lecanicillium lecanii* (V2 y V3), *Paecilomyces fumosoroseus* (P1, P2, P3, PF y PG), *P. farinosus* (PN) y *Beauveria bassiana* (Bb1 y Bb17). En tal sentido, la actividad biológica de la cepa de las tres especies de hongos fue mayor cuando la humedad relativa estuvo en un rango de 81 - 92 %. Las ninfas fueron más susceptibles que los huevecillos. El tiempo de germinación de las conidias varió entre las cepas de los hongos y entre las temperaturas. A temperaturas menores de 16,3 °C las conidias tardaron más tiempo para germinar (más de un día); mientras que en temperaturas superiores a 28,5 °C el tiempo fue menor (menos de un día). A 15 °C, las cepas que lograron formar conidias fueron P1, PF, Bb1, Bb17, V2 y V3, y las que no formaron fueron P2 y P3. En la temperatura de 31,7 °C todas las cepas produjeron conidias, excepto PF.

Arrubla et al. (2010) evaluaron la concentración, la pureza, la germinación y la patogenicidad sobre la broca del café de las esporas del hongo *Beauveria bassiana*, después de ser expuestas a los niveles de humedad de 90, 75, 65 y 39 %, mantenidas en cámaras húmedas, a una temperatura constante de 24 °C. Las evaluaciones del efecto de la humedad sobre las esporas, se realizaron luego de 1, 10 y 20 días de expuestas, a los niveles de humedad correspondientes. La germinación fue la variable que mayor variación presentó. Los resultados de germinación disminuyeron en forma gradual y guardaron un rango de variación, entre la mayor y menor germinación de 7,7, 10,4 y 6,0 %, para 1, 10 y 20 días de evaluación, respectivamente. En la primera evaluación, de un día, la germinación logró el mayor valor con 90 % de humedad y disminuyó al decrecer el contenido de esta. La germinación fue la variable, que presentó la mayor variación y disminuyó, a través del tiempo: entre 88,9 a 82,1 %, luego de un día, entre 79 y 68 %, después de diez días y entre 62,2 a 56,2 %, posterior a los 20 días.

Godoy et al. (2007) determinaron la esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana* en dos sustratos, tres temperaturas y tres humedades relativas diferentes y su capacidad germinativa a 25 °C y 30 °C. La esporulación se determinó a los trece días. El porcentaje de germinación de esporas, se realizó en una cámara de crecimiento, realizando conteo entre 6 y 12 horas. El análisis de varianza factorial determinó que existen diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en la producción de esporas en los aislamientos en los dos medios de cultivo y tres temperaturas. El aislamiento Bb-05 fue el que presentó mayor cantidad de esporas a 100 % de humedad relativa no existiendo diferencias significativas entre 80 % y 90 %. La mayor esporulación se suscitó en el aislamiento Bb-05 en los medios de cultivos utilizados a 25 °C y 30 °C y a una humedad relativa de 100 %. La germinación de esporas presentó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las temperaturas, con el mayor porcentaje de germinación a 25 °C y con diferencias significativas entre aislamientos, presentándose la mayor germinación en el Bb-05. Los cinco aislamientos de *B. bassiana* presentaron una esporulación superior a 107 esporas/ml. *Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno que tolera un rango amplio de temperatura que va desde los 15 °C a los 30 °C y una humedad relativa de 90 %, es así como se explica la capacidad de esta especie para adaptarse a diferentes áreas edafoclimáticas.

Mulock y Chandler (2001) investigaron el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre el potencial reproductivo de las hembras sobrevivientes, la viabilidad de los huevos y la producción total de huevos dentro de cohortes de adultos del gusano occidental de la raíz del maíz, *Diabrotica* sp. Los escarabajos hembra recién emergidos se aparearon y luego se trataron con una suspensión de *B. bassiana* ( $5 \times 10^7$  conidios/ml) 5, 10 o 15 días después. La producción de huevos y el porcentaje de eclosión se monitorearon durante un período de 6 semanas. Las hembras que sobrevivieron al tratamiento 10 días después de la emergencia produjeron en promedio un 30 % menos de huevos durante las dos semanas iniciales del período de oviposición en comparación con otros programas de tratamiento o con escarabajos no tratados. La

capacidad reproductiva general (número medio de huevos/hembra) fue significativamente menor en las cohortes tratadas con *B. bassiana* en comparación con cohortes no tratadas, principalmente debido a la mortalidad diferencial. El tratamiento temprano de los escarabajos (5 días después de la emergencia) resultó en una mayor reducción en la producción total de huevos dentro de la cohorte en comparación con los tratamientos posteriores (10 y 15 días después de la emergencia). La viabilidad de los huevos disminuyó significativamente con el tiempo para todos los tratamientos sin diferencias en el porcentaje de incubabilidad de los huevos entre las hembras tratadas y no tratadas. Una aplicación en el momento adecuado de *B. bassiana*, que causa una mortalidad del 75 % de los escarabajos, podría reducir potencialmente la oviposición en las poblaciones adultas de *Diabrotica* sp. en aproximadamente un 70 %.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 *Diabrotica undecimpunctata***

Es un insecto herbívoro diverso y abundante, esta gran diversidad se ha asociado con la evolución de las angiospermas, tiene una forma corporal muy variable, sus élitros extendidos son a manera de escudo (Ordóñez et al., 2014).

Es una plaga que causa daños severos y puede llegar a esqueletizar plantas jóvenes, dañar las raíces, transmitir enfermedades virósicas y provocar la reducción en la producción, puede atacar durante cualquiera de las etapas de crecimiento de la planta y se alimenta de flores, raíces, frutas y follaje.

**a. Taxonomía.** Según Mannerheim (1843), la clasificación taxonómica es la siguiente:

Orden	:	Coleoptera
Familia	:	Chrysomelidae
Género	:	<i>Diabrotica</i>
Especie	:	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>

## **b. Morfología.**

**b.1 Huevo.** Es de color crema a amarillo claro, es de forma oval o elíptica, con el extremo micropilar más angosto y superficie visiblemente reticulada en forma de pequeños polígonos irregulares, resulta difícil verlos a simple vista ya que muchas veces están bajo suelo o en la hojarasca muy cerca de las plantas hospederas (Albarran, 1990).

Los huevecillos de *Diabrotica* son de color amarillo claro cuando están recién ovipositados y se tornan café antes de la eclosión, miden 0,6 mm de longitud y 0,35 mm de ancho, por lo que, es difícil verlos a simple vista, son ovipositados en grupos de 25 a 50 huevecillos (SAGARPA, 2005).

A medida que el huevo entra en diapausa la yema del embrión se sumerge hasta que esta termina (Mitchell et al., 2010).

**b.2 Larva.** Pasa por cuatro instares y estos tienen longitudes diferentes; en el primer instar llega a medir 2,3 mm de largo y 0,24 mm de ancho, el segundo instar mide 4,5 mm de largo y 0,35 mm de ancho, el tercer instar mide 8,9 mm de largo y 0,51 mm de ancho. En general, su color es variable, inicialmente es blanco, pero puede adquirir un color amarillo pálido dependiendo principalmente de la fuente de alimento (SAGARPA, 2005).

La larva puede alcanzar una longitud de 8 mm, es de color amarillenta y realiza túneles en las raíces y tallos de los que se alimenta (Sáenz, 2005).

El último estadio larval tiene una cabeza con un ancho de 0,52 mm y un largo de 0,56 mm. El mesotórax presenta el tubérculo dorso lateral con tres setas y los segmentos 1 al 8 con tres setas en los tubérculos (Defagó et al., 2000).

Las larvas recién eclosionadas son casi incoloras, las larvas maduras son de color blanco cremoso, con la cabeza y parte final del abdomen de color café oscuro, lo que le da el aspecto de una doble cabeza (Mitchell et al., 2010). Se ha reportado que las larvas al emerger miden de 2 a 3 mm de longitud y el último instar llega a medir 15 mm (SAGARPA, 2005).

**b.3 Pupa.** Es de color crema y se forma en una celdilla envuelta por una cápsula terrosa que forma previamente la larva, a poca profundidad y próxima a las raíces (Defagó et al., 2000).

Es de tipo libre, de color amarillo; cuerpo alargado, su cabeza oval no es visible dorsalmente, posee 0,62 mm de ancho y 0,65 mm de largo (Espinoza, 2008).

Defagó et al. (2000) refirieron que cuatro setas se disponen sobre la línea media entre los ojos, cuatro setas debajo de las antenas, dos setas sobre el vértex cerca del borde superior de cada ojo; dos setas en la frente próxima a la escotadura del ojo y cuatro setas cortas sobre cada lado del margen anterior del clípeo, el labro es cuadrangular y las antenas son filiformes provistas de once artejos antenales. El tórax posee cuatro setas próximas al margen posterior y otras dos sobre cada margen lateral, el meso y metatórax son transversales, cada uno con tres pares de setas de posición similar, un par sobre la línea media y los otros dos dispuestos lateral y oblicuamente con respecto a las primeras. Los espiráculos son anuliformes, uníforos, los del protórax mayores que los restantes, los fémures se encuentran provistos de una seta en su extremo apical.

La pupa mide alrededor de 7,5 mm de largo y 4,5 mm de ancho, es de color blanco amarillento, con aspecto de un adulto con antenas, patas y alas rudimentarias (DGSV, 1981).

**b.4 Adulto.** El tórax, presenta el pronoto ensanchado en la región basal e inclinado con respecto al meso y metanoto con las setas dispuestas de la siguiente manera: seis próximas al margen anterior del pronoto, doce setas en el disco dispuestas en dos hileras paralelas de seis setas cada una, posee espiráculos uniformes (Defagó et al., 2000).

El abdomen en los segmentos I al VII son transversales, similares en forma y ornamentación, cada tergo está provisto de seis setas ubicadas en tubérculos cónicos próximas al borde posterior, el más externo ubicado por debajo de los espiráculos, el VIII y el IX con dos espinas laterales terminados en una seta, los esternitos I al VIII con un par de procesos pleurales terminados en una seta, además cinco pares de espiráculos de disposición lateropleural, el tergo y externos I al VI similares a los del macho, el esterno VII con un par de papilas bien desarrolladas ausentes en el macho (Espinoza, 2008).

Derunkov et al. (2015) señalaron que, las antenas del macho son filiformes, de color amarillo a olivo ocre. El escutelo es amarillo o amarillo ámbar. Los tarsos son amarillo ámbar y las tibias son de color amarillo con borde exterior oscuro. Los fémures también son amarillos o verdes, de borde exterior castaño.

### **c. Biología.**

**c.1 Huevo.** Cada hembra pone entre 600 y 1200 huevos, que son depositados en el suelo, cerca de las raíces de las plantas (Albarran, 1990).

Permanece en este estado 3 a 4 días cuando la temperatura y humedad son de 23 °C y 65 % (Fajardo, 2017).

**c.2 Larva.** Su desarrollo es influenciado por la temperatura, puede variar de 4 a 8 días para el primer instar, de 3 a 11 días para el segundo instar y 4 a 15 días para el tercer instar. En general, el desarrollo larval varía de 11 a 17 días (Bautista, 2006).

Estas pueden barrenar raíces largas, la corona de la planta, en su defecto tallos tiernos, es por ello, que estas raspaduras y comeduras permiten la infección por patógenos que causan la pudrición de la raíz o tallo (Sánchez et al., 2004).

Después de completar sus tres estadios larvales, cesa su alimentación y construye una pequeña celda en el suelo para transformarse en pupa (Alonso, 2010).

**c.3 Pupa.** Su duración es de 2 a 4 días, sus alas están más desarrolladas y morfológicamente son similares a los adultos, pueden encontrarse en celdas en el suelo cerca de las raíces de la planta hospedante (Simberloff, 2012).

**c.4 Adulto.** Se alimenta de los brotes tiernos de esta manera interfiere en la polinización y desarrollo del área foliar, lo que provoca una disminución en el rendimiento, cortando la fase del crecimiento acelerado del cultivo (SARH, 1980).

La longevidad es de 15 a 30 días en machos y de 16 a 25 días en hembras, su desarrollo varía en función a la temperatura (12 y 30 °C) (Sánchez, 2017).

Estos no realizan túneles bajo suelos, sino que depositan sus huevos en grietas que existen alrededor de los tallos y raíces de las plantas o en los túneles que forman algunas especies de lombrices (Burdeos y Villacarlos, 1996).

#### **d. Ecología.**

Estos insectos son favorecidos por suelos de textura ligera, sueltos y arenosos que facilitan el desarrollo de los estados inmaduros, así como, el desplazamiento de la larva. En suelos pesados o retentivos, el exceso de humedad por precipitación o riego ahogan las larvas; mientras que los suelos sueltos, las obliga a salir a la superficie durante el día, estando expuestas a sus predadores. Las temperaturas altas aceleran el ciclo de desarrollo. La temperatura ejerce una gran influencia sobre la duración del ciclo y su abundancia. En la costa, las infestaciones se incrementan en el mes de octubre,



alcanzando los más altos niveles de población y daño durante enero y marzo. Temperaturas elevadas incrementan la intensidad del daño y reduce la duración del ciclo biológico (Sánchez et al., 2004).

La familia Chrysomelidae incluye especies que son atraídas por monocultivos en los cuales provocan daños significativos, comparado a lo observado en la complejidad microclimática de una vegetación natural en donde resalta la “resistencia asociativa” (Price et al., 1989). Poseen una gran gama de hospedante por sus características de piezas bucales, es por ello, que su dieta natural tiende a ser polífaga, con las temperaturas se acelera sus estadios, para aumentar la proliferación y el efecto de la plaga, las características de sus élitros juegan un papel importante para que pueda defenderse de los depredadores (Burdeos y Villacarlos, 1996).

*Diabrotica* es un género distribuido por todo América del Sur, las larvas pueden desarrollarse en especies de plantas de cuatro familias de tres órdenes diferentes, se sugiere que podría haber muchos más hospederos de larvas que simplemente no han sido descubiertos debido al hábito hipogeo de la larva, se puede añadir que muchos de estos adultos son capaces de transmitir virus del moteado clorótico (Espinoza, 2008).

Anderson y Leslie (1991) reportaron que el rango de temperatura ideal para su desarrollo oscila entre 12 °C y 25 °C, siendo la temperatura optima los 25 °C para la incubación de los huevos y el desarrollo normal de los adultos.

### **2.2.2 Hongos entomopatógenos**

**a. Producción.** Nava (2012), indicó que los plaguicidas naturales son elaborados a partir de extractos naturales de plantas y microorganismos (hongos y bacterias), estos últimos segregan toxinas que ocasionan efectos bioplaguicidas sobre larvas e insectos adultos, por lo general, solo actúa sobre la plaga a la cual está dirigida. Urra (2015) refirió que pueden multiplicarse en grandes cantidades y se aplican de manera fácil mediante fumigaciones o a través del agua de riego.

SENASA (2014), indicó que los métodos usados para la producción de entomopatógenos son, la producción industrial, semi industrial y artesanal. El método usado por el Laboratorio de Entomopatógenos del SENASA es la producción semi industrial, la cual consiste en preparar medios líquidos los cuales serán usados para la multiplicación masiva, varían de acuerdo a la especie de entomopatógeno que se va a producir, el más común es el Papa-Dextrosa, Papa-Glucosa y Caldo de Arroz. Estos medios pueden prepararse en frascos erlenmeyer a razón de 700 ml por frasco de 1000 ml, luego se cubren con papel aluminio y se esteriliza a 121 °C y 15 lbs de presión por 20 minutos, los medios líquidos, se llevan a la cámara de flujo laminar y se le agrega aproximadamente 0,1 g de cloranfenicol, y se inocula con una solución de esporas que se obtiene de una placa esporulada. Una vez inoculado se agitan por 3 días, a temperatura de 24 a 28 °C, la producción masiva se puede realizar en bolsas o bandejas, utilizando arroz como sustrato.

**b. Composición.** Cabe destacar que los productos naturales están formados por fenoles, terpenoides, hidratos de carbono, compuestos azufrados y nitrogenados, cumplen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de insectos, jugando un papel importante al atraer insectos polinizadores, también cumplen una función protectora proporcionando a la planta un mecanismo de defensa frente a patógenos actuando como pesticida natural, los principales compuestos químicos naturales producidos por las plantas son los alcaloides, piretrinas y aceites esenciales, sustancias alelopáticas, pigmentos y fitoalexinas (Ringuelet y Viña, 2013), en el caso de los hongos, estos producen micotoxinas, tales como, aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina A, patulina, tricotecenos, zearalenona, ácido oxálico, entre otros (SENASA, 2014).

### **c. Ecotoxicología**

**c.1 Impacto ambiental.** Los entomopatógenos son microorganismos de valor ecológico, al realizar funciones de regulación en insectos, son una opción viable para la elaboración de bioplaguicidas que permitan el control de los mismos sin contaminación del medio ambiente (Motta y Murcia, 2011), así mismo, Urra (2015) mencionó que los hongos entomopatógenos, no dejan residuos nocivos, no son peligrosos para la salud humana, no genera daños en los animales ni aves y no son peligrosos para insectos polinizadores como las abejas.

**c.2 Riesgos y seguridad.** Los hongos entomopatógenos usados para el control de insectos plaga son muy seguros, pero pueden causar reacciones alérgicas si son inhalados, por tal motivo, se recomienda usar guantes para realizar el lavado del arroz y usar mascarilla durante el proceso de preparación y aplicación, evitar todo contacto innecesario con el producto, no ingerirlo ni inhalarlo, no fumar o comer durante su manipuleo, lavarse y cambiar de ropa después del trabajo (SENASA, 2014).

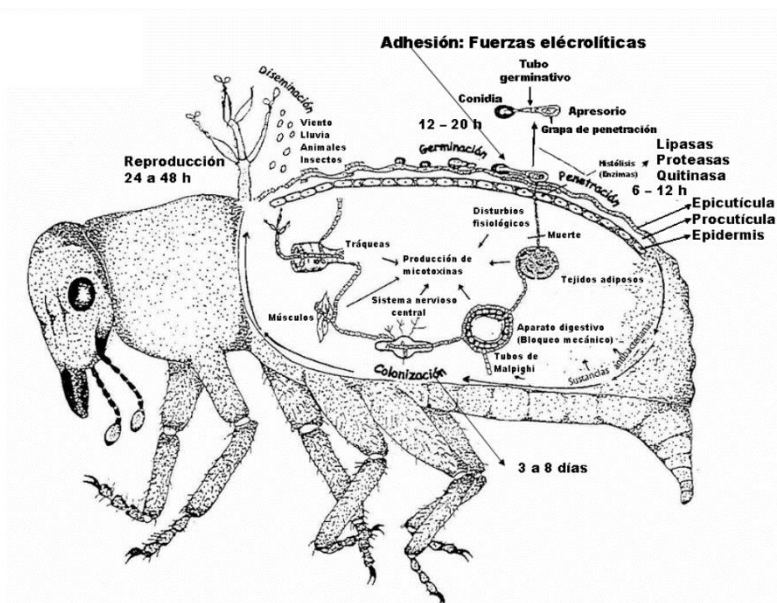
### **d. Regulación y normas**

**d.1 Norma legal.** El Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola DECRETO SUPREMO N° 001-2015-MINAGRI, tiene por objeto crear el Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola con la finalidad de prevenir y proteger la salud humana y el ambiente, garantizar la eficacia biológica de los productos, así como, orientar su uso y manejo adecuado mediante la adopción de buenas prácticas agrícolas en todas las actividades del ciclo de vida de los plaguicidas (SENASA, 2015).

**d.2 Registro y aprobación.** Para la obtención y aprobación del Registro Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola tanto químicos como biológicos, el interesado presentará al SENASA el formato de solicitud de registro, acompañando la siguiente información: Dictamen toxicológico favorable emitido por la Autoridad de Salud, dictamen ambiental favorable emitido por la Autoridad Ambiental del Sector Agrario, dictamen agronómico emitido por la autoridad en Sanidad Agraria, recibo de pago correspondiente. La evaluación para el registro solo lo realiza SENASA, el plazo para emitir el resultado de la evaluación es de sesenta días hábiles, contados desde el día siguiente de la fecha de presentación de los requisitos. El SENASA publicará mensualmente en su portal institucional la relación de Plaguicidas de Uso Agrícola registrados durante el mes anterior, de igual manera publicará, en el mes de enero de cada año, la relación de productos con registro vigente y la relación anual de los plaguicidas restringidos, prohibidos y cancelados (SENASA, 2015).

**Figura 1**

*Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos (SENASA, 2014).*



### 2.2.3 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

a. **Taxonomía.** Según Alexopoulos y Mims (1976), la clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill es la siguiente:

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Deuteromycetes
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Beauveria</i>
Especie	:	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals) Vuillemin

b. **Morfología.** Alcazar (1990) refiere que se caracteriza por presentar células conidiógenas globosas a sub-globosas (2 - 3 x 2,0 - 2,5  $\mu$ 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, globosas elipsoidales, raquis en zig - zag.

Las esporas son esféricas y levemente ovaladas en medios aerobios, pero más ovaladas en medios anaerobios, llamadas blastósporas (Kouassi, 2001).

c. **Modo y mecanismo de acción.** Sáenz (1990) indica que el ciclo de vida de este hongo consta de dos fases: la patogénica y la saprofitica. El desarrollo del hongo se puede dividir hasta en ocho etapas, mismas que se describen a continuación: Adhesión: El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espora (conidio) es depositada en la superficie del insecto. Germinación: El conidio inicia el desarrollo de su tubo germinativo y un órgano sujetador (llamado

apresorio), que le permite fijarse a la superficie del insecto. Para una germinación adecuada se requiere una humedad relativa del 92 % y temperatura de entre 23 a 25 °C. Penetración: Después de la fijación mediante mecanismos físicos (acción de presión sobre la superficie de contacto) y químicos (acción de enzimas: proteasas, lipasas y quitinasas), el hongo ingresa en el insecto a través de las partes blandas. Producción de toxinas: Dentro del insecto, el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades del hospedante. Produce la toxina llamada Beauvericina que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno, lo que facilita la invasión del hongo a todos los tejidos. Otras toxinas que secreta son beauvericin, beauverolides, bassianolide, isarolides, ácido oxálico y los pigmentos tenellina y bassianina que han mostrado cierta actividad insecticida. Muerte del insecto: Muerte del patógeno y marca el fin de la fase parasítica, dando así inicio a la fase saprofítica. Multiplicación y crecimiento: Después de la muerte del insecto, el hongo multiplica sus unidades infectivas (hifas) y estas de manera simultánea crecen, terminando por invadir todos los tejidos del insecto y haciéndose resistente a la descomposición, aparentemente por los antibióticos segregados por el hongo.

Sus esporas reconocen la cubierta del insecto plaga penetrando en su interior, dentro del cual liberan sustancias que lo digieren y lo destruyen (Alves, 1998).

Este hongo actúa por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga. Las conidias, 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 (SENASA, 2014).

#### 2.2.4 *Lecanicillium lecanii* (Zimm.).

a. **Taxonomía.** Según Alexopoulos y Mims (1976), la clasificación taxonómica de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) es la siguiente:

Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Hyphomycetidae
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<i>Lecanicillium</i> (= <i>Verticillium</i> )
Especie	:	<i>Lecanicillium</i> (= <i>Verticillium</i> ) <i>lecanii</i> (Zimm.)

b. **Morfología.** Presenta micelio tabicado, conidióforos simples o verticilados, más anchos en la base y adelgazándose hacia los extremos, en donde se encuentran los conidios agrupados en cabezuelas, rodeados de una sustancia mucilaginosa, unicelulares, hialinos, de forma cilíndricos a ovoides (Gómez et al., 2011).

Anderson y Leslie (1991) indicaron que presenta un tamaño de 1,0 a 2,0 mm y coloración variable (amarillo pálido, amarillo marrón, marrón oscuro, púrpura o incluso rosado), lo que depende de la planta hospedante y de las condiciones ambientales.

El crecimiento radial de los micelios en medio de cultivo después de 17 días fue de 3,6 cm, el anverso de estos mostró forma irregular, elevación umbonada, margen ondulado, consistencia dura y coloración blanca que se tornó amarilla azufre conforme a la maduración del cultivo; el reverso del micelio fue de amarillo a crema (Berlanga et al., 2016).

c. **Modo y mecanismo de acción.** El micelio produce una toxina llamada ciclodepsipéptido bassianolide, que se ha demostrado que mata a las larvas de varias especies, además produce otras toxinas como el ácido dipicolínico y el ácido oxálico (Vaquedano, 2006). Cartan (2018) mencionó que posee un alto contenido de ácido  $\alpha$ -amino-isobutírico.

Los insectos se infectan cuando entran en contacto con las esporas del hongo que crece y luego invade el cuerpo. Los individuos infectados aparecen de color blanco a amarillento semejando partículas de algodón; las condiciones ambientales, favorables son temperaturas de 15 a 25 °C y una humedad relativa de 85 a 90 %, por lo menos 10 a 12 horas para tener un buen desarrollo sobre el hospedero (Monzón, 1992).

### **2.2.5 La alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

#### **a. Fenología.**

El desarrollo fenológico de la alfalfa puede caracterizarse de varias formas. En términos generales se habla de cuatro estados: vegetativo, prefloración (botón floral), floración y semilla, aunque existen escalas que incluyen también estados intermedios (Juan et al., 1995).

**a.1 Estado vegetativo.** Es la primera etapa de desarrollo, donde no existe la presencia de estructuras reproductivas. Estadio 0 (Vegetativo temprano): la altura de los tallos es inferior a 15 cm y las yemas axilares no son visibles debido a su escaso desarrollo, Estadio 1 (Vegetativo medio): la altura de los tallos es de 16 a 30 cm y, como consecuencia del desarrollo de yemas axilares, se observan de una a dos hojas nuevas en las axilas de las hojas viejas y Estadio 2 (vegetativo tardío): la altura de los tallos es de más de 30 cm y se observan ramificaciones de las yemas axilares con dos a tres hojas en al menos dos nudos (Fick y Sharon, 1989).



Es el estado en el que aparecen los cotiledones por encima de la superficie del suelo. Esta fase se observa solo durante el primer año de la plantación, posteriormente debe suplantarse por la observación de la fase de botón floral.

El crecimiento del follaje luego de su emergencia es lento, la raíz principal es pivotante, robusta, tiene un rápido desarrollo inicial y puede alcanzar de 25 a 30 cm cuando la planta tiene 10 cm de altura. Posee una corona que sale del terreno, de la cual emergen los brotes que dan lugar a los tallos (Soto y Martines, 1985).

**a.2 Estado de botón floral.** A partir de este momento se inicia la diferenciación de los meristemas reproductivos y se visualizan los botones florales. Las yemas reproductivas aparecen cerca del ápice de crecimiento del tallo principal o sus ramificaciones. Estadio 3 (botón floral temprano): las yemas de los botones florales sólo se visualizan en uno o dos nudos. Los botones florales, en cada racimo, se pueden palpar dado que están muy cerca el uno del otro. Estadio 4 (botón floral): tres o más nudos presentan inflorescencias visibles y se aprecia una clara separación de los botones florales en el racimo (Fick y Sharon, 1989).

**a.3 Estado de floración.** Cuando las condiciones ambientales (fotoperiodo y temperatura en un rango de 18 a 21 °C) lo permiten, las flores se abren y se hacen visibles. La floración es la expresión del estado reproductivo de la planta. Estadio 5 (floración temprana): una o más flores abiertas se observan en el racimo floral de un nudo del tallo. Se considera una flor abierta cuando el estandarte de la flor está desplegado. Estadio 6 (floración tardía): en un tallo se presentan al menos dos nudos con flores abiertas. Además, a diferencia del anterior, hay una mayor cantidad de inflorescencias en el tallo. Es una característica que en esta etapa la planta puede tener la mayor capacidad de fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico mediante las bacterias del género *Rhizobium*, presentes en los nódulos de las raíces (Soto, 2000).

**a.4 Estado de producción de semillas.** Comprende el desarrollo de vainas y semillas, que comienza después de la polinización de las flores. Estadio 7 (fructificación temprana): uno a tres nudos contiene una vaina recién formada, de color verde. Una o más vainas se pueden contar en cada racimo. Mientras que las vainas se encuentran principalmente en la parte media de los tallos, en las partes apicales todavía se observan flores. Estadio 8 (fructificación tardía): cuatro o más nudos tienen vainas todavía verdes, pero bien formadas y en espiral. Los tallos más viejos se encuentran muy ramificados y con una baja proporción de hojas. Estadio 9 (vainas maduras): la mayoría de las vainas, ya maduras, son de color marrón y están secas. La proporción de hojas es muy baja y los tallos son muy fibrosos (Fick y Sharon, 1989).

Este es el momento adecuado para la recolección de semillas, al ser una legumbre indehiscente sin espinas que contiene entre dos y seis semillas amarillentas, arriñonadas y de 1,5 a 2,5 mm de longitud (López, 1993).

## CAPÍTULO III

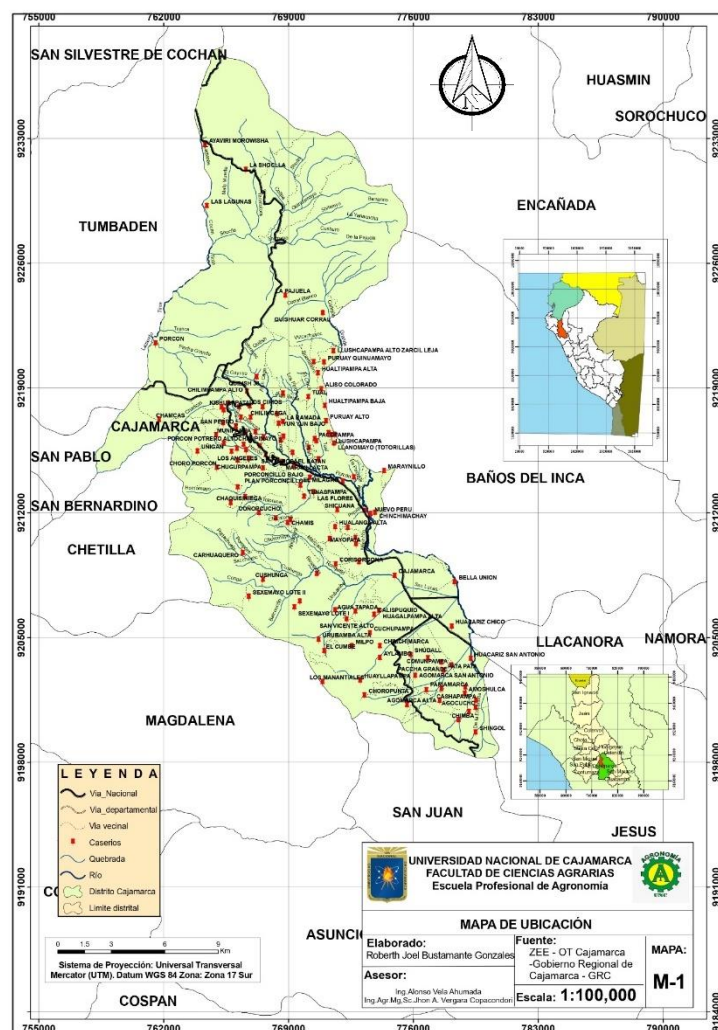
### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación

La investigación fue realizada en el Centro Poblado Agopampa Baja, distrito, provincia y departamento de Cajamarca, geográficamente localizado entre las coordenadas UTM 779269.80 Este y 9202867.61 Norte y a una altitud de 2652 msnm.

**Figura 2**

*Ubicación del experimento.*



## **3.2 Materiales**

### **3.2.1 Material biológico**

Estados adultos de *Diabrotica undecimpunctata*.

Conidias de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.

Conidias de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (Zimm.).

Plantas de alfalfa.

### **3.2.2 Material de campo**

Aceite agrícola.

Cámara digital.

Cordel.

Equipo de protección personal.

Estaca.

Etiqueta.

Frasco de plástico.

GPS.

Lápiz.

Lapicero.

Libreta de apuntes.

Lupa entomológica 20X.

Mochila de pulverización.

pHmetro.

Recipientes de plástico de 1 litro de capacidad.

Tablero acrílico.

Wincha.

### **3.2.3 Material y equipo de laboratorio**

Alcohol metílico al 70 %.

Cámara digital.

Computadora.

Estereoscopio.

Etiqueta.

Frascos de plástico con tapa hermética de ¼ de litro.

Lapicero.

Lupa entomológica 20X.

Marcador permanente resistente al agua.

Maskingtape.

Microscopio.

Tijera.

Vial de vidrio.

## **3.3 Tipo y diseño de investigación**

### **3.3.1 Características del campo experimental**

#### **a. Área**

Largo : 19 m

Ancho : 8 m

Área Experimental : 152 m<sup>2</sup>

Área total : 350 m<sup>2</sup>

**b. Bloques**

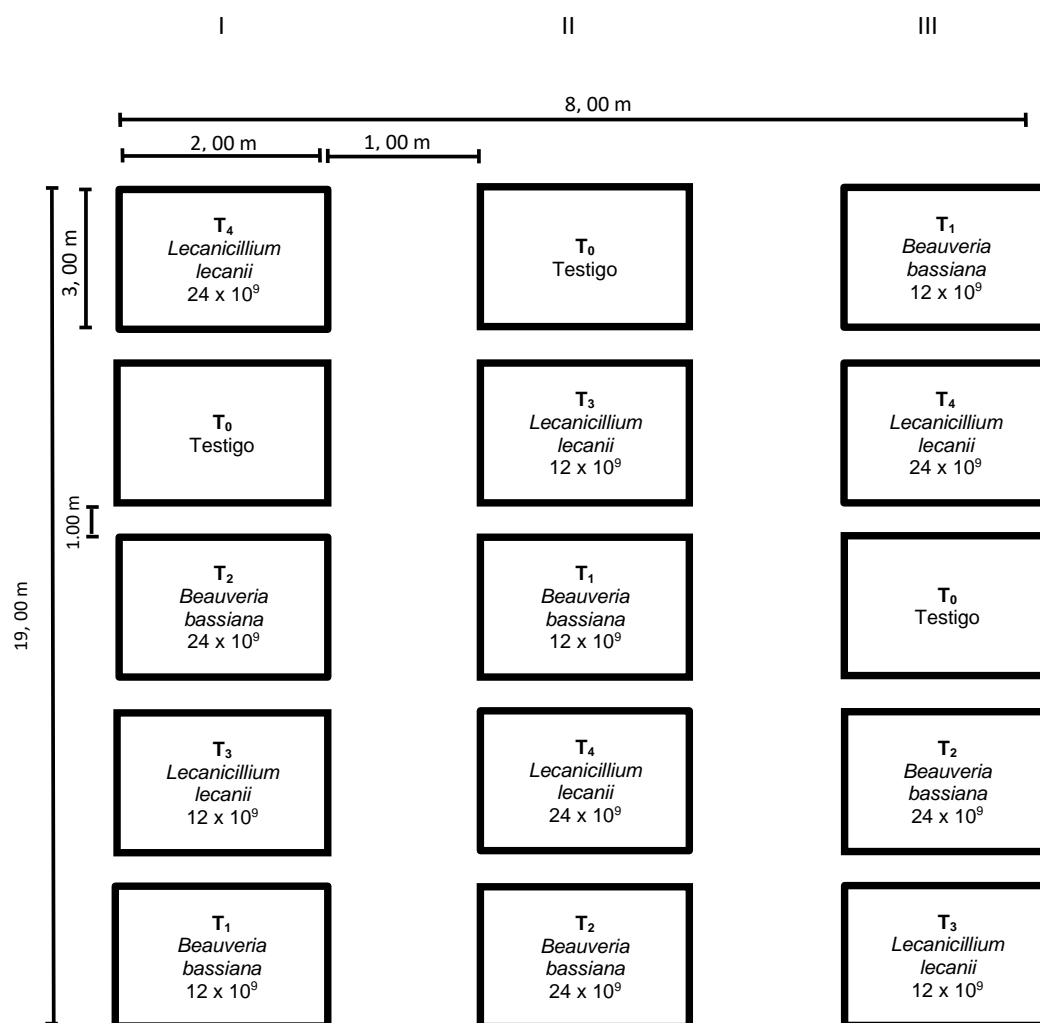
Número	:	3
Largo	:	19 m
Ancho	:	2 m
Área	:	38 m <sup>2</sup>

**c. Parcelas**

Número / Bloque	:	5
Número total	:	15
Largo	:	3 m
Ancho	:	2 m
Área	:	6 m <sup>2</sup>

**Figura 3**

*Diseño del campo experimental y distribución de los tratamientos.*



### 3.4 Metodología

#### 3.4.1 Trabajo de campo

La investigación fue realizada bajo el Diseño Experimental de Bloques Completamente al Azar en un campo de cultivo de alfalfa de la variedad SW 8210 de procedencia norteamericana, la cual destaca por su alto contenido de proteína (24 - 27 %), posee dormancia 8,5, es de crecimiento rápido y presenta raíces fuertes, adaptable hasta los 3,500 msnm, cuya densidad de siembra es de 25 kg/ha, siendo recomendada para el pastoreo (3 a 4 vacunos/ha), heno, ensilaje, etc. El intervalo de corte es de 40 a 50 días, es decir, entre 8 a 11 cortes/año, en un periodo de tiempo de 4 a 6 años, dependiendo de su manejo y fertilización. Es una variedad muy resistente a pulgones, *Phytophthora*, *Fusarium* y nemátodos de la raíz (Alabama S.A., 2010).

a. **Evaluación de *Diabrotica undecimpunctata*.** Se realizaron evaluaciones antes y después de cada aplicación, de cada uno de los tratamientos establecidos, con la finalidad, de determinar la presencia de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, enfermos y muertos. Fueron evaluadas 5 plantas por parcela, 15 plantas por tratamiento; evitando aquellas que se encontraban en los bordes, haciendo un total de 75 unidades muestrales.

b. **Aplicación de entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*).** Se realizó tomando en consideración los siguientes tratamientos:



Tabla 1

Tratamientos en estudio

Tratamiento	Entomopatógeno	Dosis	Concentración de conidias en solución	Dosis/Litro
T <sub>0</sub>	Ninguno	-	-	-
T <sub>1</sub>	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	1,6 Kg/Cil	24 x 10 <sup>10</sup>	8,0 g
T <sub>2</sub>	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals)	3,2 Kg/Cil	48 x 10 <sup>10</sup>	16,0 g
T <sub>3</sub>	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	1,6 Kg/Cil	24 x 10 <sup>10</sup>	8,0 g
T <sub>4</sub>	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Zimm.)	3,2 Kg/Cil	48 x 10 <sup>10</sup>	16,0 g

**b.1 Cálculo de dosis (*Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*).**

Concentración = 3 x 10<sup>10</sup> conidias/g de producto

**b.1.1 Dosis baja (2 bolsas): 9,6 g/ 1,2 L.**

1600 g ----- 200 litros

X ----- 1,2 litros

X = 9,6 g/1,2 litros

X = 8 g/L

**b.1.2 Dosis alta (4 bolsas): 19,2 g/1,2 L.**

3200 g ----- 200 litros

X ----- 1,2 litros

X = 57,6 g/1,2 litros

X = 16 g/L

### **3.4.2 Trabajo de laboratorio**

Luego de realizadas las aplicaciones de los entomopatógenos, se procedió a la colecta de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, para ser desplazados al Laboratorio de Entomología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, con la finalidad de determinar la sintomatología ocasionada por *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*.

### **3.4.3 Trabajo de gabinete**

La información obtenida en las evaluaciones fue sistematizada, para luego realizar la redacción del trabajo de investigación, haciendo uso de la estadística descriptiva.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Tratamiento 1 (T<sub>1</sub>): *Beauveria bassiana* (Bals) (24 x 10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 2, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registrados en promedio 3 y 2 adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos respectivamente de un total de 16 adultos evaluados.

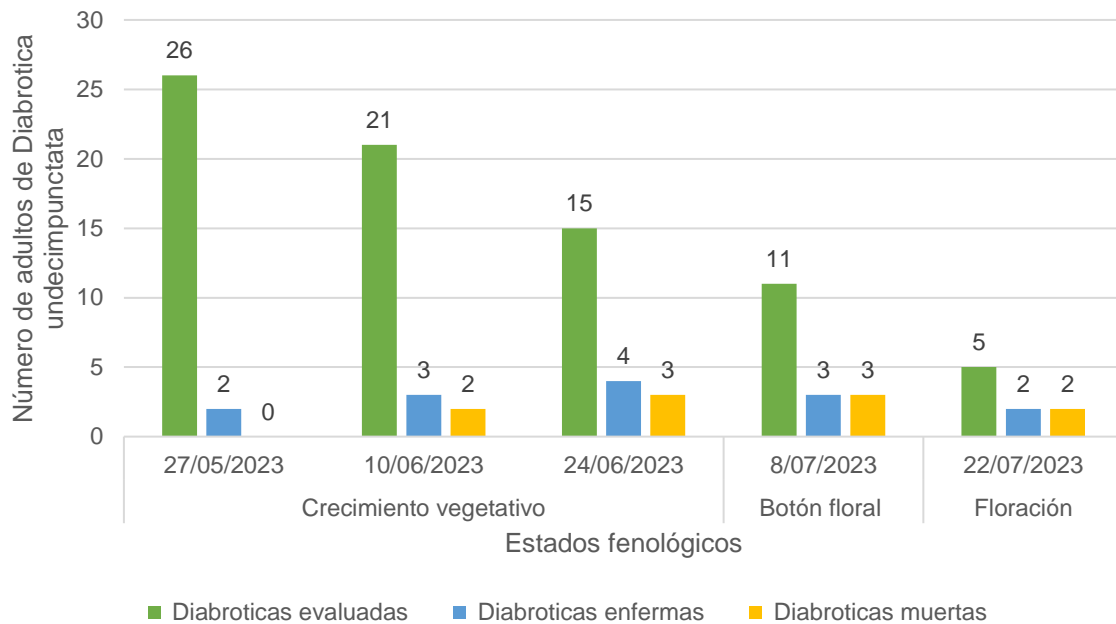
**Tabla 2**

*Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos*

Fecha de aplicación	Evaluación inicial		Evaluación posterior 7 días		
	N° de adultos	Fecha	Número de adultos evaluados	Número de adultos enfermos	Número de adultos muertos
20/05/2023	30	27/05/2023	26	2	0
03/06/2023	28	10/06/2023	21	3	2
17/06/2023	20	24/06/2023	15	4	3
01/07/2023	18	08/07/2023	11	3	3
15/07/2023	10	22/07/2023	5	2	2
<b>Promedio</b>	<b>21</b>		<b>16</b>	<b>3</b>	<b>2</b>

## Figura 4

Número de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos.



En la Figura 3, se observa que, al realizar la evaluación de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en los estados fenológicos de crecimiento vegetativo y floración (27 de mayo y 22 de julio) se registró el menor número (2) de adultos enfermos, a una temperatura promedio de 16,96 °C y 18,73 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y 54,47 % y precipitación de 3,4 mm y 0 mm, así como, el mayor número (4) de adultos enfermos fue registrado el 24 de junio, a una temperatura promedio de 18,14 °C, humedad relativa promedio de 53,67 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo. En tanto que, durante los estados fenológicos de crecimiento vegetativo y floración (10 de junio y 22 de julio), se registró el menor número (2) de adultos muertos, a una temperatura promedio de 17,04 °C y 18,73 °C, humedad relativa promedio de 59,24 % y 54,47 % y precipitación de 0 mm, así mismo, el mayor número (3) de adultos muertos fue registrado el 24 de junio y 08 de julio, a una temperatura promedio de 18,14 °C y 21,03 °C, humedad relativa promedio de 53,67 % y 53,74 % y

precipitación de 0 mm, en los estados fenológicos de crecimiento vegetativo y botón floral.

La mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales. Al respecto, Godoy et al. (2007) indicaron que los hongos entomopatógenos requieren de una temperatura mínima y alta humedad relativa para poder germinar. *Beauveria bassiana* puede encontrarse en un amplio rango de temperatura que va desde los 15 °C a los 30 °C y una humedad relativa de 90 %. Así mismo, Arrubla et al. (2010) refirieron que la mayor germinación de esporas de *Beauveria bassiana* se produjo a 90 % de humedad relativa.

#### **4.2 Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>): *Beauveria bassiana* (Bals) (48 x 10<sup>10</sup> conidias)**

En la Tabla 3, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registrados en promedio 6 y 3 adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos respectivamente de un total de 19 adultos evaluados.

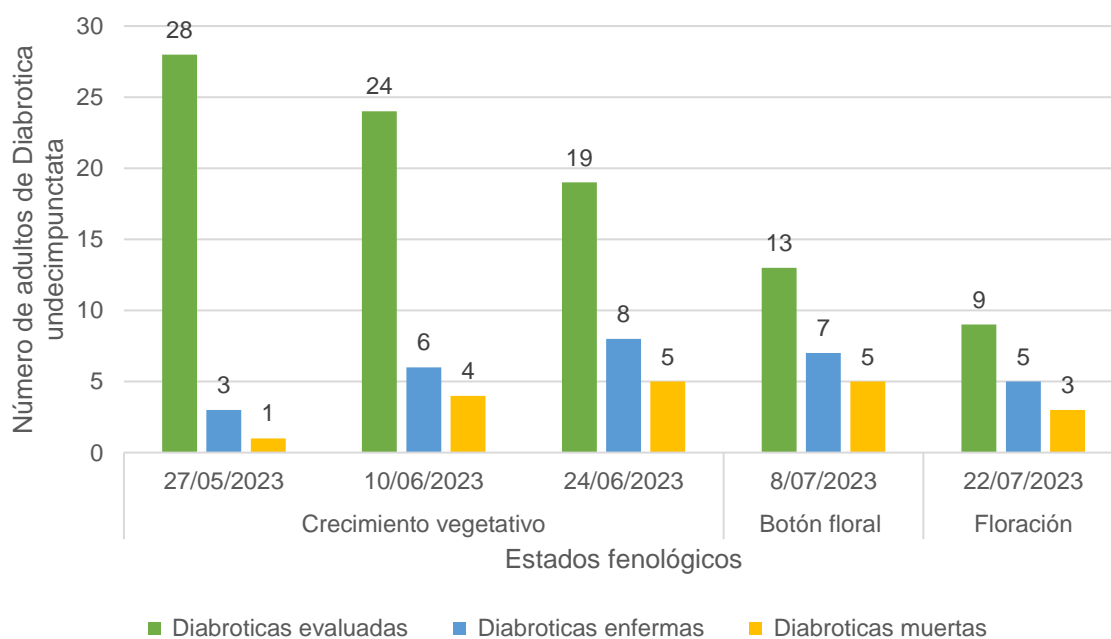
**Tabla 3**

*Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos*

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior 7 días			
	N° de adultos	Fecha	Número de adultos evaluados	Número de adultos enfermos	Número de adultos muertos
20/05/2023	30	27/05/2023	28	3	1
03/06/2023	27	10/06/2023	24	6	4
17/06/2023	23	24/06/2023	19	8	5
01/07/2023	17	08/07/2023	13	7	5
15/07/2023	11	22/07/2023	9	5	3
<b>Promedio</b>	<b>22</b>		<b>19</b>	<b>6</b>	<b>3</b>

**Figura 5**

*Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos.*



En la Figura 4, se observa que, al realizar la evaluación de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo (27 de mayo) se registró el menor número (3) de adultos enfermos, a una temperatura promedio de 16,96 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y precipitación de 3,4 mm, así como, el mayor número (8) de adultos enfermos fue registrado el 24 de junio, a una temperatura promedio de 18,14 °C, humedad relativa promedio de 53,67 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo (27 de mayo), se registró el menor número (1) de adultos muertos, a una temperatura promedio de 16,96 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y precipitación de 3,4 mm, así mismo, el mayor número (5) de adultos muertos fue registrado el 24 de junio y 08 de julio, a una temperatura promedio de 18,14 °C y 21,03 °C, humedad relativa promedio de 53,67 % y 53,74 % y precipitación de 0 mm, en los estados fenológicos de crecimiento vegetativo y botón floral.

Las condiciones ambientales probablemente estuvieron relacionadas con la ausencia de mortalidad de individuos. Al respecto, Cazorla et al. (2007) mencionaron que los porcentajes de germinación de esporas de *Beauveria bassiana* se incrementan significativamente a temperaturas de 12, 14 y 15 °C hasta 19 a 34 °C ( $P < 0,00001$ ), alcanzándose porcentajes de germinación mayores a 99 % en el rango de temperatura de 21 a 34 °C.

Ortiz et al. (2011) refirieron que la infección provocada por *Beauveria bassiana* se produce en mayor porcentaje cuando la humedad relativa fluctúa en un rango de 81 % a 92 %, así mismo, a temperaturas menores de 16,3 °C las conidias tardan en germinar; en tanto, que a temperaturas mayores a 28,5 °C la germinación se acelera.

#### 4.3 Tratamiento 3 (T<sub>3</sub>): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (24 x 10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 4, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registrados en promedio 2 adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos respectivamente de un total de 17 adultos evaluados.

**Tabla 4**

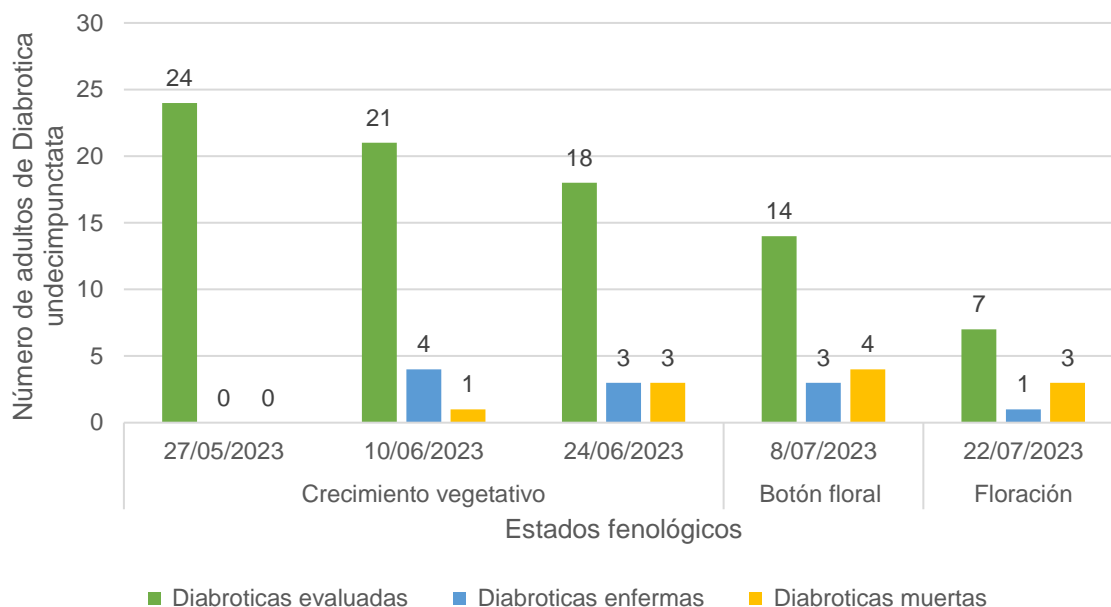
*Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos*

Fecha de aplicación	Evaluación inicial	Evaluación posterior			
	N° de adultos	Fecha	Número de adultos evaluados	Número de adultos enfermos	Número de adultos muertos
20/05/2023	27	27/05/2023	24	0	0
03/06/2023	23	10/06/2023	21	4	1
17/06/2023	20	24/06/2023	18	3	3
01/07/2023	17	08/07/2023	14	3	4
15/07/2023	11	22/07/2023	7	1	3
<b>Promedio</b>	<b>20</b>		<b>17</b>	<b>2</b>	<b>2</b>



**Figura 6**

Número de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos.



En la Figura 5, se observa que, al realizar la evaluación de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo (27 de mayo) se registró el menor número (0) de adultos enfermos, a una temperatura promedio de 16,96 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y precipitación de 3,4 mm, así como, el mayor número (4) de adultos enfermos fue registrado el 10 de junio, a una temperatura promedio de 17,04 °C, humedad relativa promedio de 59,24 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de crecimiento vegetativo. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo (10 de junio), se registró el menor número (1) de adultos muertos, a una temperatura promedio de 17,04 °C, humedad relativa promedio de 59,24 % y precipitación de 0 mm, así mismo, el mayor número (4) de adultos muertos fue registrado el 08 de julio, a una temperatura promedio de 21,03 °C, humedad relativa promedio de 53,74 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de botón floral.

Martins et al. (2015) resaltaron que *Lecanicillium lecanii* infecta en un rango de temperatura de 15 °C a 25 °C y a una humedad relativa de 80 %. Del mismo modo, Alayo y Wilson (2014) determinaron que las temperaturas que favorecieron a *Lecanicillium lecanii* para la formación del tubo germinativo y su penetración en la cutícula del hospedante, fueron de 20 °C a 22 °C y una humedad relativa de 70 % a 75 %.

#### 4.4 Tratamiento 4 (T<sub>4</sub>): *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (48 x 10<sup>10</sup> conidias)

En la Tabla 5, se observa que luego de siete días posteriores a las aplicaciones del tratamiento establecido, fueron registrados en promedio 4 y 3 adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos respectivamente de un total de 19 adultos evaluados.

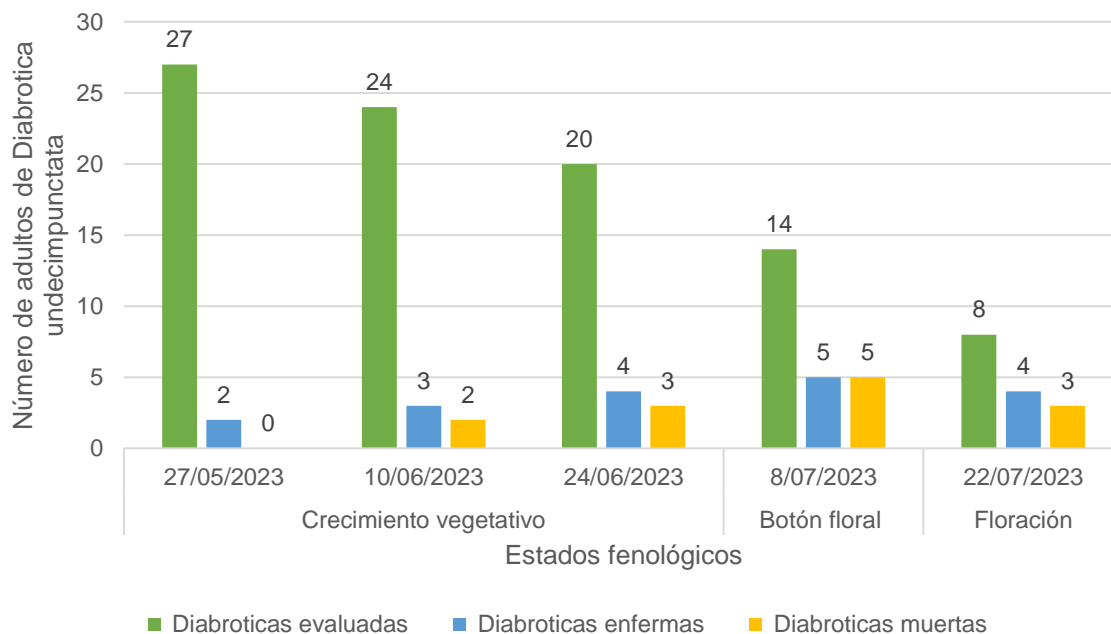
**Tabla 5**

*Número de adultos de Diabrotica undecimpunctata enfermos y muertos*

Fecha de aplicación	Evaluación inicial		Evaluación posterior		
	N° de adultos	Fecha	Número de adultos evaluados	Número de adultos enfermos	Número de adultos muertos
20/05/2023	35	27/05/2023	27	2	0
03/06/2023	29	10/06/2023	24	3	2
17/06/2023	25	24/06/2023	20	4	3
01/07/2023	16	08/07/2023	14	5	5
15/07/2023	11	22/07/2023	8	4	3
<b>Promedio</b>	<b>23</b>		<b>19</b>	<b>4</b>	<b>3</b>

## Figura 7

Número de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermos y muertos.



En la Figura 6, se observa que, al realizar la evaluación de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* después de siete días de la aplicación del entomopatógeno, cuando la alfalfa se encontraba en el estado fenológico de crecimiento vegetativo (27 de mayo) se registró el menor número (2) de adultos enfermos, a una temperatura promedio de 16,96 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y precipitación de 3,4 mm, así como, el mayor número (5) de adultos enfermos fue registrado el 08 de julio, a una temperatura promedio de 21,03 °C, humedad relativa promedio de 53,74 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de botón floral. En tanto que, durante el estado fenológico de crecimiento vegetativo (27 de mayo), se registró el menor número (0) de adultos muertos, a una temperatura promedio de 16,96 °C, humedad relativa promedio de 70,14 % y precipitación de 3,4 mm, así mismo, el mayor número (5) de adultos muertos fue registrado el 08 de julio, a una temperatura promedio de 21,03 °C, humedad relativa promedio de 53,74 % y precipitación de 0 mm, en el estado fenológico de botón floral.

La ausencia de mortalidad de individuos probablemente estuvo relacionada con las condiciones ambientales.

Ayala et al. (2005) indicaron que *Lecanicillium lecanii* genera epizootias bajo una humedad relativa superior a 80 % y a temperaturas que oscilan entre 20 °C a 25 °C, en insectos de los ordenes Coleoptera, Homoptera, Diptera y Lepidoptera.

Monzón (1992) refirió que las condiciones ambientales para que *Lecanicillium lecanii* se desarrolle sobre el hospedante son temperaturas de 15 °C a 25 °C y una humedad relativa de 85 % a 90 %, en un lapso de tiempo mínimo de 10 a 12 horas.

#### **4.5 Comparación entre tratamientos**

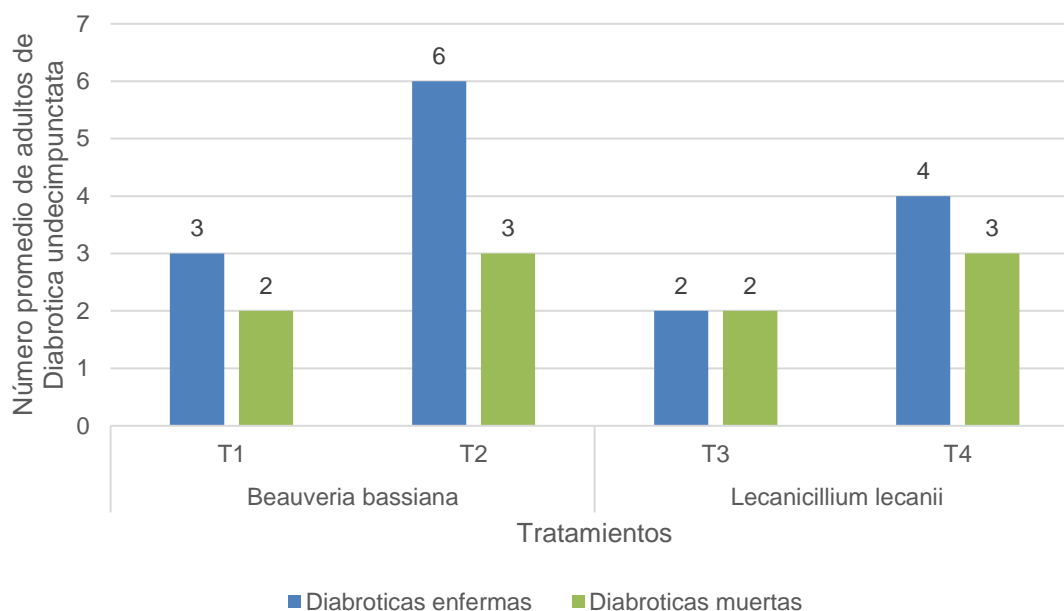
En la Figura 7, se observa que, al realizar la evaluación de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* después de siete días de la aplicación del entomopatógeno el Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>): *Beauveria bassiana* (Bals) (48 x 10<sup>10</sup> conidias), ocasionó los mayores números (6 y 3) de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* enfermas y muertas.

Tellez et al. (2009) mencionaron que después de ingresar el micelio del hongo (el cual genera células libres llamadas blastosporas) al haemocoel, efectúan una transición dimórfica de micelio a levadura y una vez que han evadido el sistema inmune del insecto, se produce una septicemia.

Bustillo (2001) refirió que la micosis produce síntomas fisiológicos anormales en el hospedante, tales como, convulsiones, falta de coordinación, conductas alteradas y parálisis. La muerte sobreviene por una combinación de efectos que comprenden el daño físico de tejidos, toxicosis, deshidratación de las células por pérdida de fluido y consumo de nutrientes.

**Figura 8**

Comparación del efecto entre *Beauveria bassiana* y *Lecanicillium lecanii*.



Los resultados del análisis de varianza (Tabla 6), expresan que para las fuentes de variación tratamientos y bloques, el F-calculado (45,8033 y 8,1311 respectivamente) son mayores al F-Valor crítico ( $45,8033 > 3,8379$  y  $8,1311 > 4,4590$ ), así mismo, al comparar el p-valor, estos no superan el 0,05 de confiabilidad ( $0,0000148 < 0,05$  y  $0,0118204 < 0,05$ ), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alternativa ( $H_1$ ), es decir, existe diferencia estadística entre los tratamientos en estudio. Al realizar la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, la cual compara las medias de los tratamientos, se determinó que son significativamente diferentes entre sí, para el factor hongo (Tabla 7 y Figura 8) muestra que el mayor efecto en la mortalidad de adultos de *Diabrotica undecimpunctata* se obtuvo al emplear *Beauveria bassiana*, siendo estadísticamente superior en comparación a *Lecanicillium lecanii*. El tratamiento 2 ( $T_2$ ): *Beauveria bassiana* (Bals) ( $48 \times 10^{10}$  conidias), posee diferencia significativa en comparación a los demás tratamientos ( $T_0, T_1, T_3, T_4$ ), en tanto, que los  $T_1, T_3$  y  $T_4$ , no guardan diferencias significativas entre sí, pero si en comparación al testigo  $T_0$ .

**Tabla 6**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el número de adultos de Diabrotica undecimpunctata muertos*

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F Calculado	p-valor	F Valor crítico
<b>Tratamientos</b>	46.57	4	11.64	45.8033	0.0000148	3.8379
<b>Bloques</b>	4.13	2	2.07	8.1311	0.0118204	4.4590
<b>Error</b>	2.03	8	0.25			
<b>Total</b>	52.73	14				

El coeficiente de variación (CV = 6,30 %), expresa que los resultados son homogéneos para la variable evaluada (mortalidad de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*), relacionada de manera directa con las dosis de los tratamientos, así como, con las condiciones ambientales.

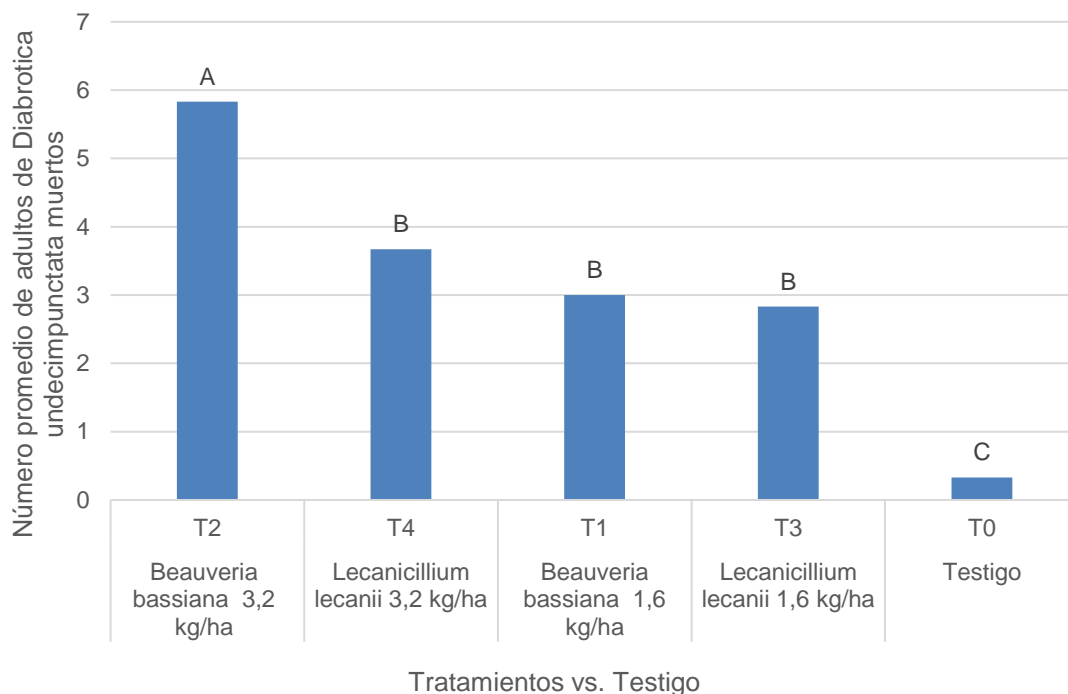
**Tabla 7**

*Prueba de Tukey al 5 % de probabilidad para los niveles del factor hongo entomopatígeno*

Tratamientos	Medias	Significación al 5 %
<b>T<sub>2</sub></b>	5.83	A
<b>T<sub>4</sub></b>	3.97	B
<b>T<sub>1</sub></b>	3.00	B
<b>T<sub>3</sub></b>	2.83	B
<b>T<sub>0</sub></b>	0.33	C

**Figura 9**

Comparación del efecto entre tratamientos.



En la Figura 8, se observa que los tratamientos difieren uno del otro, destacando el entomopatógeno *Beauveria bassiana* en dosis alta para el control de *Diabrotica undecimpunctata* debido al alto porcentaje de mortalidad que provoca (47,3%). Por otro lado, *Beauveria bassiana* en dosis baja y *L. lecanii* en dosis alta y baja provocan similar porcentaje de mortalidad (31,2 %,36,8 % y 23,5 %) respectivamente.

**Tabla 8**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el número de adultos de Diabrotica undecimpunctata vivos*

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F Calculado	p-valor	F Valor crítico
Tratamientos	154.2666	4	38.5667	68.0588	0.000003	3.8378
Error	4.5333	8	0.5667			
Total	170.9333	14				

El coeficiente de variación (CV = 7,60 %), expresa que los resultados están poco dispersos y existe poca variación con respecto a las medias de los tratamientos.

**Tabla 9**

*Comparaciones múltiples de Dunnett (Testigo o control vs. Tratamientos)*

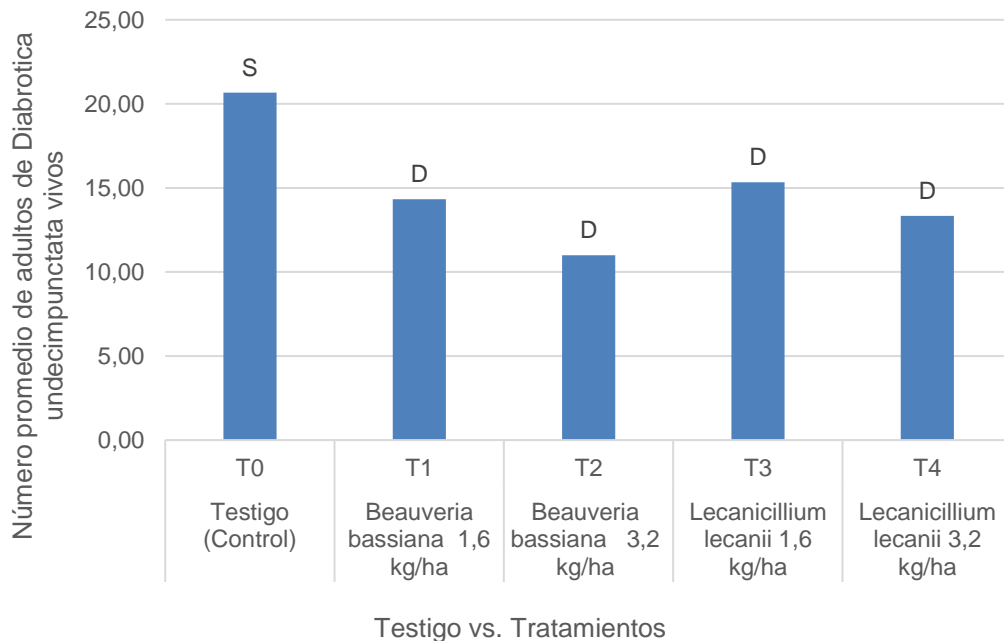
Tratamientos	Medias	Agrupación
T <sub>0</sub>	20,67	S
T <sub>1</sub>	14,33	D
T <sub>2</sub>	11,00	D
T <sub>3</sub>	15,33	D
T <sub>4</sub>	13,33	D

Al realizar las comparaciones múltiples de Dunnett se determinó que los T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> son significativamente diferentes a la media del testigo o control (T<sub>0</sub>), es decir, la disminución de la densidad poblacional de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, en mayor grado estuvo relacionada con la infección y mortalidad provocada por los hongos entomopatógenos objeto de estudio.



**Figura 10**

Comparación de medias entre los tratamientos y el testigo o control.



En la Figura 10, se observa que los tratamientos *Beauveria bassiana*  $24 \times 10^{10}$  (T<sub>1</sub>), *Beauveria bassiana*  $48 \times 10^{10}$  (T<sub>2</sub>), *Lecanicillium lecanii*  $24 \times 10^{10}$  (T<sub>3</sub>) y *Lecanicillium lecanii*  $48 \times 10^{10}$  (T<sub>4</sub>), provocaron la reducción de la densidad poblacional de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, en un 69,3 %, 53,2 %, 74,1 % y 64,4 % respectivamente.

Tomando en consideración las investigaciones realizadas por Godoy, Arrubla y Ortiz, podemos mencionar que el porcentaje de infección fue reducido, debido a las condiciones ambientales registradas. En la primera y segunda aplicación (estado fenológico de crecimiento vegetativo) a temperaturas promedio de 16,96 °C y 17,04 °C, humedades relativas de 70,14 % y 59,24 % y precipitaciones de 3,4 y 0 mm respectivamente, registrándose el menor número de adultos enfermos y muertos, en tanto, que en la tercera, cuarta y quinta aplicación (estados fenológicos de crecimiento vegetativo, botón floral y floración) las temperaturas, humedades relativas y precipitaciones registradas fueron 18,14 °C, 21,03 °C y 18,73 °C; 53,67 %, 53,74 % y

54,47 %; y 0 mm respectivamente, influenciando en la infección ocasionada por los hongos entomopatógenos, habiéndose registrado el mayor número de adultos enfermos y muertos, esto relacionado con el estado fenológico de la planta que sirve de alimento al insecto. Juan et al. (1995) refirieron que el mayor contenido de nutrientes en las plantas de alfalfa se produce al inicio y mediados del estado fenológico de floración.

Así mismo, el sistema de riego por aspersión empleado para proveer de agua a las plantas favoreció el incremento de la humedad relativa del aire, contribuyendo a la infección provocada por *Beauveria bassiana* en los adultos de *Diabrotica undecimpunctata*. De igual manera, el estado fenológico de la planta influenció en la disminución de la densidad poblacional del estado adulto del insecto plaga, pues al suscitarse el estado fenológico de maduración se reduce el número de brotes tiernos que le sirven de alimento, tal como, lo refirió SARH (1980), el insecto se alimenta de los brotes tiernos atraído por el alto contenido de nutrientes y proteínas, de esta manera interfiere en la polinización y desarrollo del área foliar, lo que provoca una disminución en el rendimiento.

A su vez, se debe destacar que la disminución del contenido de proteína y energía metabolizable relacionada con el proceso de maduración del cultivo de alfalfa, influye en la atracción generada por la planta hacia el insecto plaga. N.R.C (1998) destacó que el contenido de proteína en la planta de alfalfa disminuye desde 23 % (estado fenológico de prebotón) hasta 15 % (estado fenológico de floración), además, el contenido de fibra se incrementa con el proceso de maduración y la energía metabolizable disminuye desde 2,9 mega calorías/Kg de materia seca (estado fenológico de prebotón) hasta 2,0 mega calorías/Kg de materia seca (estado fenológico de floración).

Según lo observado durante la investigación, los adultos de *Diabrotica undecimpunctata* infectados por los hongos entomopatógenos, mostraron movimientos involuntarios y descoordinados, seguidos de parálisis, decoloración y deshidratación, para finalmente ser colonizados. Al respecto, SENASA (2014), aseveró que los hongos

entomopatógenos actúan por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga. Las conidias, son las unidades infectivas, las cuales penetran al cuerpo del insecto, produciéndole disturbios a nivel digestivo, nervioso, muscular, respiratorio y excretorio; es decir, el insecto se enferma, deja de alimentarse y finalmente muere. La muerte puede ocurrir a los tres a cinco días, dependiendo de la virulencia del hongo y estadio del insecto.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

El hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. ( $T_2 = 48 \times 10^{10}$  conidias/litro) fue el que ocasionó la mayor mortalidad (47,3 %) de adultos de *Diabrotica undecimpunctata*, luego de siete días posteriores a su aplicación, superando al hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) ( $T_4 = 48 \times 10^{10}$  conidias/litro) el cual ocasionó una mortalidad de 36,8 %.

Los principales síntomas causados por *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. y *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) en adultos de *Diabrotica undecimpunctata* fueron movimientos involuntarios y descoordinados, seguidos de parálisis, decoloración y deshidratación, hasta llegar a causar la muerte del insecto, para luego ser colonizado por el micelio del entomopatógeno.

#### 5.2 Recomendaciones

Realizar investigaciones utilizando diluciones de diferentes formulaciones comerciales de entomopatógenos (hongos, bacterias, virus, nemátodos, etc.).

## CAPÍTULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alabama S.A. (2010). Leguminosas de Clima Frío. *Revista Alabama S.A.*
- Alayo, E. y Wilson, J. (2014). Efecto de *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre el ácaro *Panonychus citri* en condiciones de laboratorio. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas REBIOL*, 34(1), 42-50 p.
- Albarrán, M. (1990). Guía para cultivar maíz en el Estado de México. Chapingo, México: SAHR: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias: Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias del Estado de México.
- Alcázar, E. (1990). *Beauveria* sp.: Hongo amigo del agricultor. Boletín de la Papa. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 46 p.
- Alexopoulos, C. y Mims, W. (1976). *Introductory Myology*. Ed. John Wiley and Sons. New York, USA. 288 p.
- Alonso, E. (2010). Manejo integrado de plagas del maíz. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"-UL. División de Carreras Agronómicas. Departamento de Parasitología. Torreón, Coahuila, México. 23 p.
- Alves, S. (1998). *Controle microbiano de insetos* (2.<sup>a</sup> ed.). Brasil. 14 p.
- Anderson, B. y Leslie, L. (1991). Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Rev. Entomología Ambiental*, 20(4), 1207-1211 p.
- Arrubla, P., Cárdenas, M. y Posada, F. (2010). Efecto de la humedad relativa sobre la germinación de las esporas de *Beauveria bassiana* y la patogenicidad a la broca del café *Hypothenemus hampei*. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 13(1), 67-76 p.

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262010000100008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000100008)

- Ayala, A., Mier, T., Sánchez, J. y Toriello, C. (2005). Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. *Revista Mexicana de Micología*, núm. 20, 93-97 p.
- Basigalup, D. (2014). Situación de la alfalfa en Argentina. 5º Jornada Nacional de Forrajes Conservados. Ediciones INTA. 95-99 p.
- Bautista, N. (2006). Insectos plaga, una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México, México. 109 p.
- Berlanga, A., Ayala, M., Gallou, A., Serna, M., Montesinos, R. y Arredondo, H. (2016). Identificación de *Lecanicillium longisporum* asociado a *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae), en Sorgo. *Revista Mexicana de Micología*, núm. 44, 51-54 p.
- Burdeos, S. y Villacarlos, L. (1996). Comparación patogénica de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en adultos de *Cylas formicarius*. 7(6). USA. 571 p.
- Bustillo, A. (2001). Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: seminario Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá. 30-53 p.
- Cartan, A. (2018). *Síntesis de productos naturales y análogos biológicamente activos derivados de Penicillium brevicompactum*. [Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia]. Repositorio Institucional UPV. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/5022/tesisUPV916.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cazorla, P., Dalmiro, J., Morales, P. y Acosta, M. (2007). Efectos de gradientes térmicos, salinos y pH sobre la germinación in vitro de un aislado nativo de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin, patógeno para *Rhodnius prolixus* y *Triatoma maculata*. *Revista Científica*, 17(6), 627-631 p.

- Defagó, M., Cabrera, N., Laguzzi, S. y Novara, C. (2000). Aspectos morfológicos y poblacionales de *Diabrotica* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae) en condiciones de laboratorio. *Anais da Sociedade de Entomológica do Brasil*, 29(2), 285-294 p.
- DGSV. (1981). Dirección General de Sanidad Vegetal. Control de *Diabrotica* del maíz en el sur de Nayarit. SARH. Folleto. 15 p.
- Derunkov, A., Prado, L., Tishechkin, K. y Konstantinov, A. (2015). New species of *Diabrotica* Chevrolat (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) and a key to *Diabrotica* and related genera: results of a synopsis of North and Central American *Diabrotica* species. *Revista de Biodiversidad de Insecto*, 3(2), 1-55 p.
- Espinoza, E., Galicia, M. y Espinoza, O. (2008). Manual de plagas y enfermedades de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) Produce AC Impreso. Pachuca. México.
- Fajardo, J. (2017). Determinación de las composiciones de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Philodendron bipinnatifidum* Schott y sus potenciales efectos sobre la nutrición y mortalidad de *Diabrotica* sp. Brasil. 6 p.
- Fick, W. y Sharon, C. (1989). Alfalfa: Calidad, madurez y estado medio de desarrollo. Departamento de Agronomía, Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida, Universidad de Cornell, USA.
- Godoy, J., Valera, R., Guédez, C., Cañizalez, L. y Castillo, C. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*, 24, 415-425 p. [https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0378-78182007000300002&script=sci\\_abstract](https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0378-78182007000300002&script=sci_abstract)
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E. y Soberanís, W. (2011). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Lima, Perú. 1-37 p.
- INEI. (2012). Instituto Nacional de Estadística e Informática. IV Censo Nacional Agropecuario. Lima, Perú. <https://www.gob.pe/36487-consultar-informacion-de-los-censos-realizados-por-el-inei-censos-nacionales-agropecuaria>

- Juan, N., Romero, L. y Bruno, O. (1995). La alfalfa en la Argentina, conservación del forraje de alfalfa. INTA C.R. Cuyo, cap. 9, 173-192 p.
- Kouassi, M. (2001). Les possibilites de la lutte microbiologique emphase sur le champignon enthomopathogéne *B. bassiana*. *Vertigo La Revista de Ciencias Ambientales*, 2(2), 1-18 p.
- López, I. (1993). Bases fisiológicas de la ubicación de la alfalfa. En: Latrille L. Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Producción Animal, Serie B-17. Valdivia, 157-190 p.
- Mannerheim, C. (1843). Beitrag zur Kaefer-Fauna der Aleutischen Inseln, der Insel Sitka und Neu-Californiens. *Boletín de la Sociedad Imperial de Naturalistas de Moscú*, 16(1), 175-314 p.
- Martins, S., Soares, A., Medeiros, F., Santos, D. y Pozza, E. (2015). Contribution of host and environmental factors to the hyperparasitism of coffee rust under field conditions. *Australasian Plant Pathol*, 44(4), 605-610 p.
- Meza, T. 2012. Introducción, origen y distribución de la alfalfa. Perú. 10-12 p.
- MINAM. 2019. Ministerio del Ambiente: Línea de base de la alfalfa con fines de bioseguridad en el Perú. [https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2020/02/estudio\\_lb\\_alfalfa.pdf](https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2020/02/estudio_lb_alfalfa.pdf)
- Mitchell, S., Ciha, A. y Tollefson, J. (2010). Corn Rootworm Biology and Management. Crop Adviser Institute. <https://masters.agron.iastate.edu/files/mitchellsteven-cc.pdf>
- Monzón, A. (1992). *Distribución de Verticillium sp. en tres zonas cafetaleras en Nicaragua y evaluación de dos aislamientos del hongo como agente de control biológico de la roya (Hemileia vastatrix) del cafeto (Coffea arabica L.)*. [Tesis de Maestría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza]. Repositorio Institucional CATIE. [https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/4807/Distribucion\\_de\\_Verticillium\\_sp.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/4807/Distribucion_de_Verticillium_sp.pdf?sequence=1&isAllowed=y)



- Monzon, V. (2016). *Formulaciones de Beauveria bassiana (Bals y Vuils) para el manejo de plagas en el cultivo del repollo (Brassica oleracea L. var capitata) en el Tisey, Estelí.* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/3283/1/tnh10m816f.pdf>
- Motta, P., Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas *Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, Universidade de Taubaté Taubaté, Brasil, 6 (2), 77-90 p.
- Mulock, B. y Chandler, L. (2001). Efecto de *Beauveria bassiana* sobre la fecundidad del gusano de la raíz del maíz occidental, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Rev. Control Biológico*, 22 (1), 16-21 p. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0952>
- Nava, E., García, C., Camacho, J. y Vázquez, E. (2012). BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS. Universidad Autónoma Indígena de México El Fuerte, México, *Ra Ximhai*, 8 (3b), 17-29 p.
- N.R.C. (1998). National Research Council. Requerimientos de nutrientes del ganado lechero. Academia Nacional de Ciencias. Washington, D.C. 157 p.
- Ordóñez, M., López, S. y Rodríguez, G. (2014). Biodiversidad de Chrysomelidae (Coleoptera) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, supl 85, 271-278 p.
- Ortiz, M., Alatorre, R., Valdivia, R., Ortiz, A., Medina, R. y Alejo, G. (2011). Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Revista Biociencias*, 1(2), 42 - 53 p. <https://doi.org/10.15741/revbio.01.02.05>
- Ramos, Y., Taibo, A., Álvarez, J. y Abreu, C. (2019). Efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de crisomélidos. Colombia, Bogotá. [https://www.researchgate.net/publication/342480858\\_Efecto\\_del\\_hongo\\_entomopatogeno\\_Beauveria\\_bassiana\\_en\\_el\\_control\\_de\\_crisomelidos](https://www.researchgate.net/publication/342480858_Efecto_del_hongo_entomopatogeno_Beauveria_bassiana_en_el_control_de_crisomelidos)
- Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Universidad Nacional de la Plata, Argentina. 6 p.

- Rojas, J. (2013). *Aplicación de hongos entomopatógenos (Beauveria bassiana y Metarhizium anisopliae) en el control de insectos comedores de hoja en el cultivo de ají charapita (Capsicum chinense) en Aguaytía*. [Tesis Ing. Agr., Universidad Nacional de Ucayali]. Repositorio Institucional UNU. <http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/2117/000001930T.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Sáenz, S. (1990). Biología y aplicación de hongos entomopatógenos. Memorias IV Curso Nacional de Control Biológico. Universidad Nacional de Nueva León. México. 36 p.
- Sáenz, A. (2005). Importancia de los métodos entomopatógenos para control biológico de plagas en palma aceitera. *Revista colombiana de entomología*, 25(3-4), 209-215 p.
- SAGARPA. (2005). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Campaña fitosanitaria del maíz y sorgo en el estado de Guanajuato. Consejo estatal de Sanidad Vegetal del estado de Guanajuato. 20 p.
- Sánchez, G., Sarmiento, J. y Herrera, J. (2004). Plagas de los cultivos de caña de azúcar, maíz y arroz. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- SARH. (1980). Principales plagas del maíz. Dirección General de Sanidad Vegetal. México. 20 p.
- SENASA. (2014). Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. Entomopatógenos benéficos. Lima, Perú. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/FICHA-T%C3%83%E2%80%B0CNICA-1-B.-bassiana.pdf>
- SENASA. (2015). Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola. Lima, Perú. <https://www.gob.pe/institucion/senasa/normas-legales/1050594-001-2015-minagri>
- Simberloff, D. (2012). Risks of biological control for conservation purposes. *BioControl*, 57(2), 263-276 p.

- Soto, P. y Martínez, G. (1985). Pastoreo en alfalfa su uso oportuno es básico para el crecimiento de la planta. Investigación y Progreso Agropecuario. Quilamapu (INIA). Chillán. Chile. 10-12 p.
- Soto, P. (2000). Alfalfa en la zona centro sur de Chile. Colección libros INIA N°4 Instituto de Investigación Agropecuaria. Chillán, Chile. 266 p.
- Téllez, A., Cruz, M., Mercado, Y., Asaff, A. y Arana, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, núm. 30, 73-80 p.
- Urra, F. (2015). Hongos entomopatógenos como control de plagas de insectos. Museo Nacional de Historia Natural, Área de Entomología.
- Vaquedano, L. (2006). *Efecto de la Aplicación de Hongos Entomopatógenos para el control de plagas en el cultivo de pepino, en el valle de Comayagua, Honduras*. [Tesis Ing. Agr., Universidad zamorano]. Repositorio Institucional UZ. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/6b437aad-dc2a-42df-9346-fa3a925645a8/content>

## CAPÍTULO VII

### ANEXOS

#### Anexo 1. Galería fotográfica

##### Figura 11

*Campo experimental.*



**Figura 12**

*Adulto de Diabrotica undecimpunctata alimentándose de hojas de alfalfa.*



**Figura 13**

*Signos de Beauveria bassiana en adulto de Diabrotica undecimpunctata.*

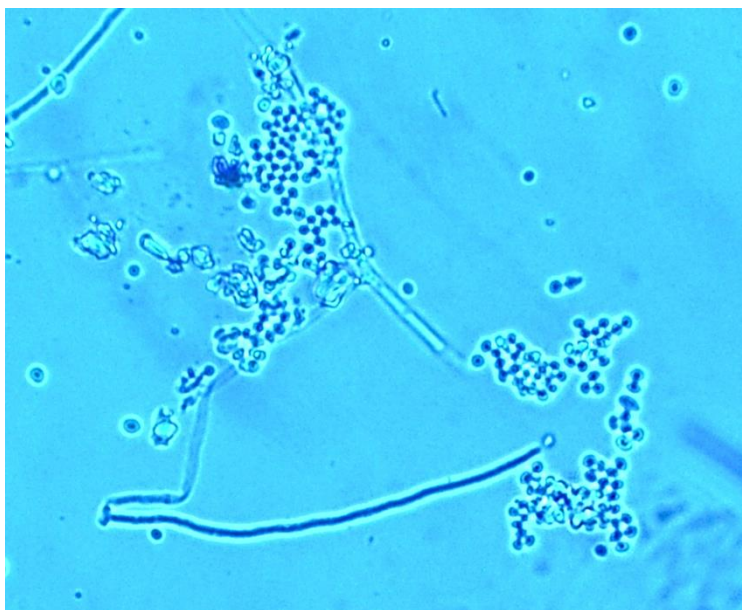


**Figura 14**

*Esporulación de Beauveria bassiana en adulto de Diabrotica undecimpunctata.*

**Figura 15**

*Estructuras reproductivas de Beauveria bassiana observadas al microscopio.*





**Figura 16**

*Adulto de Diabrotica undecimpunctata con sintomatología de infección provocada por Lecanicillium lecanii.*

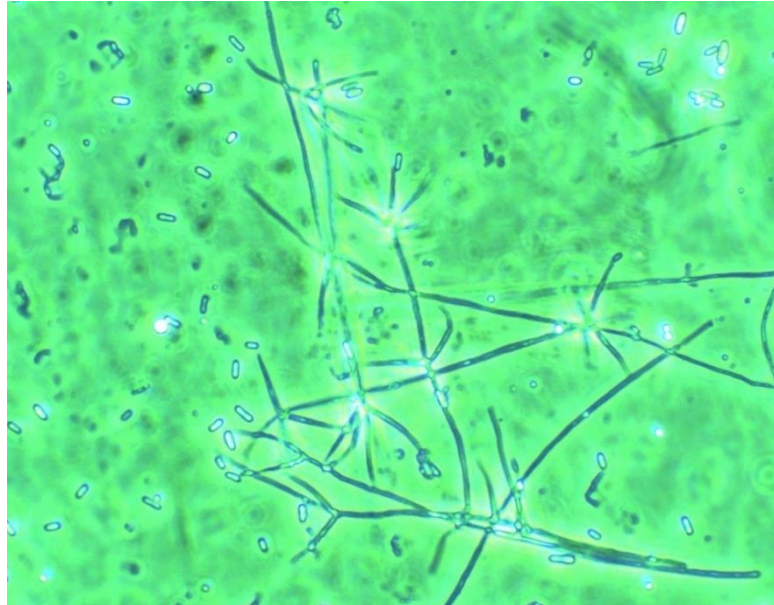
**Figura 17**

*Esporulación de Lecanicillium lecanii en adulto de Diabrotica undecimpunctata.*



**Figura 18**

*Estructuras reproductivas de Lecanicillium lecanii observadas al microscopio.*





**Anexo 2.** *Temperatura, humedad relativa y precipitación promedios registrados según evaluaciones*

<b>Fecha de evaluación</b>	<b>Temperatura Promedio (°C)</b>	<b>Humedad Relativa Promedio (%)</b>	<b>Precipitación promedio (mm)</b>
27/05/2023	16,96	70,14	3,47
10/06/2023	17,04	59,24	0
24/06/2023	18,14	53,67	0
08/07/2023	21,03	53,74	0
22/07/2023	18,73	54,47	0

**Anexo 3.** *Costos por aplicación de entomopatígeno en una hectárea de cultivo de alfalfa.*

<b>Concepto</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo unitario (S/.)</b>	<b>Costo total (S/.)</b>
Entomopatígeno	Bolsa	4	13,50	54,00
Aceite agrícola	Litro	1	70,00	70,00
Regulador de pH	Litro	1	65,00	65,00
<b>Total</b>				<b>S/ 189,00</b>