

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA” DE ICA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“ACTIVIDAD ENTOMOPATÓGENA DE
Rhizopus sp. SOBRE *Toxoptera aurantii* (pulgón del
cítrico) EN CONDICIONES DE LABORATORIO”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO**

**PRESENTADO POR:
Bach. HUAMANI SAYRITUPAC, WAGNER GGINO**

ICA – PERÚ

2019

DEDICATORIA:

A mis padres quienes me brindaron su apoyo en los momentos difíciles, me aconsejan para seguir estudiando, superarme cada día y a mis maestros por sus esfuerzos para que finalmente pudiera graduarme como un feliz profesional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica casa superior de estudios que me acogió durante los años de formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela Profesional de Biología y a su plana de docentes por el apoyo brindado durante la realización del trabajo de investigación.

Asimismo al Centro de Investigación, Capacitación y Asesoría (CICA) por los materiales y equipos brindados.

Al Biólogo Luis Antonio Cartagena Sigvas por su asesoría y dirección en el presente trabajo de investigación.

Índice

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES.....	5
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
3.1MATERIALES.....	8
3.2MÉTODOS.....	8
3.2.1REACTIVACIÓN DE LA CEPA SELECCIONADA.....	8
3.2.2PRUEBA DE PATOGENICIDAD.....	9
3.2.2.1PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN MADRE DE <i>Rhizopus</i> sp.....	9
3.2.2.2ENSAYO DE SOBREVIVENCIA DE ADULTOS DE <i>Toxoptera aurantii</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	10
3.2.3BIOENSAYO.....	10
3.2.4 VERIFICACIÓN PRESUNTIVA DEL PROCESO DE MICOSIS SOBRE LOS CADÁVERES DEL PULGÓN DE LOS CÍTRICOS.....	11
IV. RESULTADOS.....	13
V. DISCUSIÓN	17
VI. CONCLUSIONES.....	19
VII. RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS	20
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	21
IX. ANEXOS.....	27

RESUMEN

El objetivo fue demostrar la capacidad entomopatógena de *Rhizopus* sp. como alternativa para el manejo de *Toxoptera aurantii* debido al poco impacto ambiental, su persistencia y que no inducen resistencia. Se realizaron pruebas de patogenicidad en condiciones de laboratorio sobre adultos de *Toxoptera aurantii* colectados en campo y se determinó el potencial patogénico suministrando concentraciones de 10^{-3} a 10^{-6} conidios/mL mediante inmersión. Los resultados evidencian que *Rhizopus* sp causa patogenicidad sobre *Toxoptera aurantii*, y la mortalidad es directamente proporcional a la concentración de conidias suministrada, destacando los tratamientos de 1×10^{-3} conidios/mL con mortalidad del 100%; además, los bajos valores de las CL50 (1×10^{-3} – 1×10^{-6} conidios/mL) sugieren su eficacia. Estos resultados son una primera aproximación en su utilización para el control de *Toxoptera aurantii* y representan un recurso potencial para desarrollar planes de manejo integrado para este tipo de plaga.

Palabras claves: Patogenicidad, pulgones, *Rhizopus* sp., *Toxoptera aurantii*.

ABSTRACT

The objective was to demonstrate the entomopathogenic capacity of *Rhizopus* sp. as an alternative for the management of *Toxoptera aurantii* due to the low environmental impact, its persistence and that do not induce resistance. Pathogenicity tests were performed in laboratory conditions on adults of *Toxoptera aurantii* collected in the field and the pathogenic potential was determined by providing concentrations of 10^{-3} to 10^{-6} conidia/mL by immersion. The results show that *Rhizopus* sp causes pathogenicity on *Toxoptera aurantii*, and the mortality is directly proportional to the concentration of conidia supplied, highlighting the treatments of 1×10^{-3} conidia/mL with 100% mortality; In addition, the low values of LC50 (1×10^{-3} - 1×10^{-6} conidia/mL) suggest its efficacy. These results are a first approximation in their use for the control of *Toxoptera aurantii* and represent a potential resource to develop integrated management plans for this type of pest.

Key words: Pathogenicity, Aphids, *Rhizopus* sp., *Toxoptera aurantii*.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la producción de alimentos enfrenta el reto de mantener un alto nivel de calidad, considerando aspectos de inocuidad alimentaria y sistemas de producción con retribución más justa para los productores (García y González, 2010). Los productores utilizan insecticidas en grandes volúmenes sin cumplir los periodos de carencia, ocasionando residuos tóxicos en las pasturas, desarrollo de poblaciones resistentes a los productos, destrucción de organismos benéficos, intoxicación de mamíferos y contaminación del medio ambiente (Barreto, 1996, 2011; Restrepo, 2011). Esto ha ocasionado la prohibición o restricción de muchos insecticidas como el dieldrín, mirex, BHC, paratión etílico, toxafeno y DDT (Morales y col., 2009). Una alternativa viable a los problemas ocasionados por el uso excesivo de plaguicidas sintéticos en los cultivos es la utilización de métodos de control que deben priorizar la seguridad ambiental y social y que sean eficientes en el control de plagas, entre los cuales se encuentran los hongos entomopatógenos (Bustillo, 2008). Estos organismos son formas eucariotas, unicelulares o multicelulares, con un núcleo definido por una membrana, requieren un huésped específico y condiciones ambientales apropiadas para su desarrollo, fueron los primeros organismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos por su fácil observación y desarrollo en la superficie de los insectos (Bustillo, 2008; Téllez y col., 2009).

Hace ya varias décadas se plantean investigaciones en control biológico que buscan disminuir los estragos causados por el uso excesivo de agroquímicos. Los hongos patógenos de insectos se encuentran representados en el Reino Fungi y ubicados en los Filo: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Zygomycota. Las clases de mayor importancia desde el punto de vista del control de plagas agrícolas son la clase Hyphomycetes y la clase Zygomycetes (Tanada & Kaya, 2012) Gracias a

dichas investigaciones se han podido plantear premisas que permiten estandarizar la calidad de los ensayos realizados y facilitan llegar a conclusiones sobre control biológico luego de obtener ciertos resultados. Son más de 130 años de uso de hongos entomopatógenos en programas de control biológico (Zimmermann, 2007a, 2007b). Según Tanada & Kaya (2012), las características de un buen entomopatógeno son:

- Debe ser resistente a condiciones físicas y compatibles con otros microorganismos.
- Debe ser persistente.
- Su dosis letal media debe ser baja para que garantice una alta patogenicidad.
- Debe poseer la habilidad de causar epizootias.
- Es importante que sea inocuo por modo de acción o nicho, a organismos no blancos.

Tomando en cuenta que el uso de agroquímico no sólo afecta la salud humana, sino también puede ocasionar la contaminación indirecta de fuentes de agua debido a altos niveles de restos de agroquímicos traza (Parral, 2012), las estrategias de control biológico se han convertido en una alternativa eco-amigable, inocua y segura para generar una productividad agrícola sostenible (Donoso et al., 2011). De esta manera, se han planteado estudios de investigación enfocados en la utilización de agentes bioinfecciosos como hongos y bacterias ambientales autóctonos para controlar plagas agrícolas como los pulgones (Kaya y Vega, 2012). No obstante se sigue investigando sobre la acción biocida de estos hongos, ya que cada hospedero tiene una relación particular con el patógeno, además de que la efectividad de su ataque puede ser afectada (Tanada & Kaya, 2012), es por este motivo que se ejecutó esta tesis experimental, teniendo como objetivo determinar la actividad entomopatógena de *Rhizopus* sp. sobre *Toxoptera aurantii* (pulgón del cítrico) en condiciones de laboratorio.

II. ANTECEDENTES

INTERNACIONALES:

Hernández (2016), en Guatemala, evaluó la actividad de los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) para el control de hormigas cortadoras de hojas (*Atta* spp) en eucalipto; santa lucía cotzumalguapa, Escuintla; los resultados de los hongos entomopatógenos, demostró que estos sí pueden contribuir al control de los mismos en plantaciones forestales energéticas de *Eucalyptus urograndis* la eficacia del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, fue del 33% de reducción de la población de zompopo, 30 días después de su aplicación. La eficacia del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, fue de 3,42% de reducción de la población de zompopo, 30 días después de su aplicación. La eficacia del producto químico terminator fue de 80% de reducción de la población de zompopo a los 30 días después de su aplicación.

Mesén (2015), en Costa Rica, evaluó la actividad entomopatógena de diversos aislamientos de hongos y cepas de *Bacillus thuringiensis* para el potencial desarrollo de un bioformulado contra las hormigas cortadoras de hojas de la especie *Atta cephalotes*, las estimaciones de las concentraciones/dosis (LC50/LD50) y tiempos sub letales (LT50) permitieron determinar que la cepa de *B. thuringiensis* y microhongo que parecen ser las mejores cepas bioactivas para combatir una colonia de zompopas corresponden a las cepas Bt28 y 30U respectivamente; ya que fueron estimadores significativos y permitieron obtener concentraciones/dosis letales acordes con lo que sugieren otros autores, por lo que éstas cepas se podrían potenciar eventualmente mediante pruebas de actividad sinérgica esporas-toxinas a corto plazo.

Villamil y Martínez (2014), en Colombia, realizaron la evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria* spp. sobre *Tecia solanivora* (lepidoptera: gelechiidae) in vitro, los resultados mostraron que 32 días después de la inoculación los aislamientos bv03 y bv05 fueron los que produjeron la mayor mortalidad acumulada (7,4 y 8,5%, respectivamente).

Bautista y col (2014), en Colombia, evaluaron la actividad entomopatógena de tres hongos sobre *Hortensia similis* (hemiptera: cicadellidae) y *Collaria scenica* (hemiptera: miridae) en sistemas silvopastoriles se pudo observar que *B. bassiana* presentó el mayor porcentaje de mortalidad (20%), seguido por la mezcla de los hongos *B. bassiana* + *M. anisopliae* + *P. lilacinus* con el 10%. para *H. similis*, con la mezcla de los hongos presentó un efecto sinérgico sobre la población del insecto, ocasionando una mortalidad del 18%, seguida de la aspersion de *M. anisopliae* con el 12%. Al observar la respuesta de los hongos entomopatógenos sobre el total de los insectos evaluados, se encontró un 14% de mortalidad en los tratamientos con *B. bassiana* y la aplicación de la mezcla de los productos.

García y González (2010), en México, evaluaron la efectividad de tres hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces fumosoroseus*) para el control de plagas en cultivos de hortalizas, emulsionados en tierra de diatomeas en proporción 1:10 los cuáles fueron aplicados en una concentración de $1,2 \times 10^{12}$ esporas x Ha⁻¹ generando mortalidad superior al 80% a las 72 horas de aplicación.

Mata y Barquero (2010), en Costa Rica, evaluaron la factibilidad de producción de *B. bassiana* en medio líquido para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*), hallando que el medio de cultivo consistente en azúcar, extracto de levadura y peptona es en donde ocurre el mejor crecimiento del hongo al cuarto día, sin ser afectado por el pH inicial, ni la temperatura de 28 °C, además genera mortalidad del 86,7%.

Barahona y Col. (2008), en Nicaragua, evaluaron la patogenicidad y esporulación (Cepa Bisa-01-Metarhisa) de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin sobre ninfas de salivita (*Aeneolamia varia*) en el laboratorio de hongo entomopatógeno del campus agropecuario, UNANLEÓN, 2008. La cepa Bisa -01- Metarhisa utilizada en el bioensayo en el laboratorio de hongos entomopatógenos UNANLEÓN, es eficaz sobre *Aeneolamia varia* porque presentó un porcentaje de mortalidad del 100% en las tres concentraciones 10^{10} conidias/mL, 10^9 conidias/mL y 10^8 conidias/mL y un porcentaje de esporulación de 21,3%.

NACIONALES:

Reátegui y Col (2009), en Trujillo, evaluaron la actividad entomopatógena de cuatro especies de hongos sobre *Prodiplosis longifila* (Díptera: Cecidomyiidae) obteniendo los porcentajes de mortalidad de pre pupas y pupas de *Prodiplosis longifila* en condiciones de laboratorio de $27^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ y 69% de HR, durante 10 días, fueron 75,00; 71,88; 62,50; 59,38% para *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosororeus* y *Verticillium lecanii* respectivamente.

Falconí (2009), en Lima, realizó una evaluación in vitro de hongos entomopatógenos como agentes potenciales para el control de *Dysdercus peruvianus* Guérin-Ménéville 1831 (Hemíptera: Pirrhocoridae) plaga del cultivo del algodón, se encontró que el porcentaje de mortalidad a los 20 días post tratamiento fue de 83,3%, 80% y 23,3% para *Beauveria* sp, *Acremonium* sp y *Scopulariopsis* sp., respectivamente. La cepa *Beauveria* sp fue la que presentó mayor virulencia sobre *Dysdercus peruvianus* al alcanzar el mayor porcentaje de mortalidad (83,3%), mientras que la cepa *Acremonium* sp fue la más agresiva sobre el insecto, ya que el tiempo de letalidad para el 50% (TL50) de la población tratada fue de solo 3,8 días.

Cabe mencionar que no se encontraron antecedentes relacionados a este trabajo a nivel local.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO:

- Cepa de hongo entomopatógeno (*Rhizopus* sp.)
- 450 Insectos adultos de *Toxoptera aurantii*
- 10 insectos adultos de *Rhopalasisiphum maidis*

3.2 MÉTODOS:

3.2.1. Reactivación de la cepa seleccionada:

La primera fase que se llevó a cabo fue a nivel de laboratorio con la prueba in vitro y consistió en la reactivación de la cepa del hongo *Rhizopus* sp., el primer paso para reactivar la cepa fue pasarla a un hospedero, que fueron pulgones vivos, con el fin de que la cepa recupere su virulencia. Para reactivar se utilizó 10 pulgones vivos de la especie *Rhopalasisiphum maidis* adultos entre hembras y machos. Los pulgones se colocaron en cajas de Petri, en la base de la caja se colocó papel filtro estéril, para propiciar una cámara húmeda, luego se colocó sobre este los pulgones sumergidos en la solución de esporas, que se obtuvo del raspado del cultivo directo de la caja de Petri. Estas cajas se envolvieron con papel de empaque, almacenándose en un lugar fresco y oscuro. Pasados 5 días los pulgones presentaron crecimiento de micelio en todo el cuerpo. El procedimiento para el aislamiento de la cepa crecida en el cuerpo de los pulgones en medio de cultivo PDA se inició con la descontaminación del pulgón que estaba envuelta con el micelio del hongo, puesto que estas deben de estar libres de contaminantes antes de ser sembradas en el medio de cultivo PDA. La purificación del pulgón se realizó haciendo lavados: el primer paso

fue pasar el pulgón en una solución de hipoclorito de sodio al 5%, seguidamente se pasó el pulgón por tres depósitos con agua destilada estéril y luego se extrajo el exceso de humedad con un papel filtro, y como último paso se colocó el pulgón en el medio de cultivo PDA. Al cabo de 3 a 5 días aproximadamente se observó crecimiento micelial del hongo.

3.2.2. Prueba de patogenicidad:

Se realizó con *Rhizopus* sp., el cual ha sido reportado como hongo con capacidad entomopatógena.

3.2.2.1. Preparación de solución madre de *Rhizopus* sp.:

Se preparó una suspensión de conidios de cada aislamiento a partir de un cultivo con 15 días de crecimiento, se agregó 20 mL de agua estéril a la caja de Petri, se raspó y filtró el contenido con una gasa estéril y se vertió en un beaker de 500 mL. La concentración de las suspensiones se determinaron por conteo en cámara de Neubauer (Goettel & Inglis, 1997). A partir de la solución madre de 1×10^7 se hizo diluciones seriadas y se ajustó a concentraciones de: 10^3 ; 10^4 ; 10^5 ; 10^6 para *Rhizopus* sp., con el fin de evaluar el efecto de los tratamientos sobre adultos de *Toxoptera aurantii* colectados en campo, en relación a su tasa de mortalidad.

3.2.2.2. Ensayo de sobrevida de adultos de *Toxoptera aurantii*

bajo condiciones de laboratorio:

Antes de realizar los bioensayos se determinó el tiempo de sobrevida de adultos de *Toxoptera aurantii* bajo las condiciones del laboratorio $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y HR 75 – 85% y se determinó un total de 6 ± 2 días. Se depositó 10 adultos de *Toxoptera aurantii* (tomados al azar entre los individuos de las campos donde se colectaron) en tubos de ensayo de 50 mL con hojas tiernas desinfectadas de cítricos como alimento y papel filtro humedecido con agua estéril. Se hizo 4 ensayos independientes con cinco repeticiones cada uno. Se tomó datos de mortalidad diarios hasta que se observó una mortalidad del 100%, se determinó el tiempo de sobrevida de los adultos bajo las condiciones del laboratorio y con estos datos se estableció el tiempo de evaluación de los ensayos para garantizar que la mortalidad de los pulgones sea por el efecto patogénico de los hongos y no por condiciones externas.

3.2.3. Bioensayo:

Se evaluó la actividad patogénica de *Rhizopus* sp. sobre adultos de *Toxoptera aurantii* colectados en campo que tuvieran comportamiento y características morfológicas similares. Para el aislamiento se realizó un bioensayo independiente en la etapa de mayor crecimiento y aparición de hojas tiernas en el cultivo de cítrico, ya que en este estado fenológico el cultivo se ve altamente afectado debido a que el ataque de ninfas y adultos de pulgones ocasiona el desbalance de las hormonas de crecimiento.

Bioensayo 1: Los pulgones usados para este ensayo fueron colectados del cultivo de cítricos y se realizó para *Rhizopus* sp. a las concentraciones mencionadas anteriormente.

El bioensayo se desarrolló de la siguiente manera:

- El ensayo de patogenicidad se desarrolló bajo las mismas condiciones del ensayo de sobrevivencia de adultos de *Toxoptera aurantii* bajo condiciones de laboratorio. Los diferentes tratamientos se colocaron en contacto con los pulgones mediante inmersión con la suspensión respectiva y el control se trató con agua destilada estéril. Se experimentó sobre 10 adultos de pulgones por cinco repeticiones.
- Luego de la aplicación de los tratamientos, las unidades experimentales se dejaron a temperatura ambiente con humedad y alimentación constante. Se hizo observaciones a partir de las 48 horas y se registraron datos de mortalidad diarios.

3.2.4. Verificación presuntiva del proceso de micosis sobre los cadáveres del pulgón de los cítricos.

Una vez muertos o con signos de micosis, 10 ejemplares fueron removidos de los tubos, manteniendo la técnica aséptica y fueron transferidos a placas Petri conteniendo al menos 10 trozos de papel toalla estériles (con dimensiones de 1 cm de ancho x 2 cm de largo) humedecidos con abundante agua destilada estéril, con ayuda de unas pinzas estériles para establecer un sistema de cámara húmeda en la placa y promover el desarrollo saprófito del hongo sobre el cadáver. Cada cámara con el respectivo código del hongo bajo el cual murieron los cadáveres se incubó a temperatura ambiente durante 4-5 días, y después de este periodo, los

insectos fueron inspeccionados como prueba presuntiva para observar el proceso de micosis sobre los cadáveres y verificar de manera preliminar que cada posible hongo colonizara el cuerpo del áfido, de esta manera se demostró el desarrollo saprofita de la cepa *Rhizopus* sp sobre *Toxoptera aurantii*, demostrando su efectividad como controlador biológico.

3.2.5. Análisis de los datos:

Para analizar las diferencias entre los tratamientos respecto a los pulgones se usó un modelo lineal generalizado. Eso debido a los ensayo realizados tenían como resultados una variable que tenían una proporción de éxitos (mortalidad), y su mejor distribución es la binomial. Para el análisis de datos se usó el módulo de modelos lineales generalizados y mixtos del programa Infostat (Di Rienzo et. Al, 2017).

Para analizar la dosis letal 50 se usó la regresión probit, tomando en cuenta los paso seguidos en el manual de Infostat (Di Rienzo, 2010)

IV. RESULTADOS

PRIMER MUESTREO DEL ENSAYO DE PATOGENICIDAD:

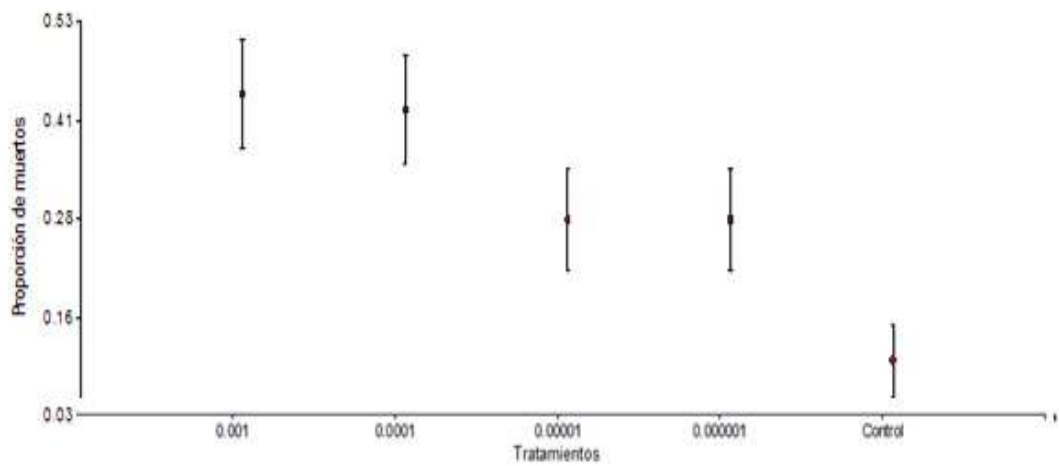


FIGURA Nº 01: PROPORCIÓN DE MUERTOS DE *Toxoptera aurantii* EN RELACIÓN A LOS TRATAMIENTOS CON LA SOLUCIÓN DE ESPORAS SEGÚN PRIMER MUESTREO.

Los tratamientos 0.001 y 0.001 provocan el mismo porcentaje de muerte, así como los tratamientos 0.00001 y 0.000001. Las diferencias entre ellos son muy tenues como muestra la gráfica.

SEGUNDO MUESTREO DEL ENSAYO DE PATOGENICIDAD:

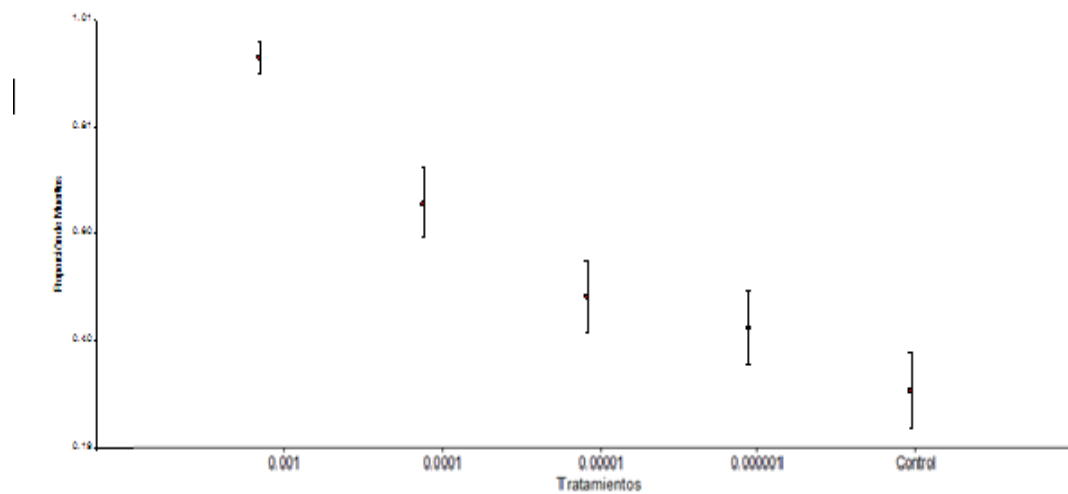


FIGURA Nº 02: PROPORCIÓN DE MUERTOS DE *Toxoptera aurantii* EN RELACIÓN A LOS TRATAMIENTOS CON LA SOLUCIÓN DE ESPORAS SEGÚN SEGUNDO MUESTREO.

El tratamiento 0.001 logra un 94% de muertos, difiere a los demás tratamientos significativamente.

TERCER MUESTREO DEL ENSAYO DE PATOGENICIDAD:

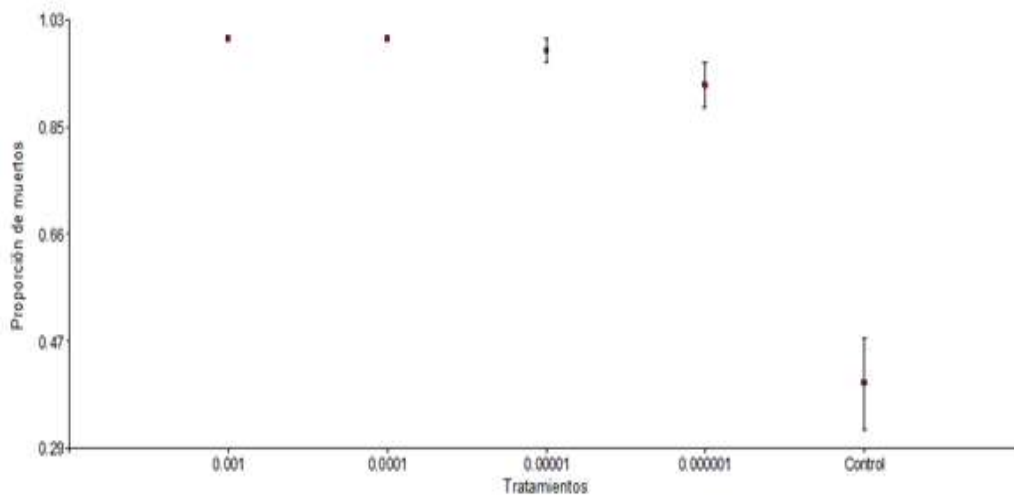


FIGURA Nº 03: PROPORCIÓN DE MUERTOS DE *Toxoptera aurantii* EN RELACIÓN A LOS TRATAMIENTOS CON LA SOLUCIÓN DE ESPORAS SEGÚN TERCER MUESTREO

El control difiere de todos los tratamientos

TABLA 01: CALCULO DE DOSIS LETAL MEDIA DE LA SOLUCIÓN DE ESPORAS:

Parámetros	Est.	E.E.	Wald LI(95%)	Wald LS(95%)	Wald Chi ²	p-valor
Constante	-0.02	0.11	-0.23	0.19	0.03	0.8676
Tratamiento	1634.18319.41		1008.14	2260.21	26.18	<0.0001

Hay significancia de tratamientos

	Valor	gl
Log Likelihood	-113.79	198
Deviance	15.98	198
Escala (fijada)	1.00	

Pruebas de hipótesis marginales

F.V.	gl	-2[L0-L1]	p-valor
Tratamiento	1	37.05	<0.0001

Dosis letal= $-(-0.02/1634.18) = 0.00001223$

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se preparó una solución madre de esporas de *Rhizopus* sp de los cuales se realizó diluciones seriadas aplicándolos sobre *Toxoptera aurantii*. Cabe mencionar que no se encontraron antecedentes de otros trabajos de investigación comparando la patogenicidad de la suspensión de esporas a diferentes diluciones de *Rhizopus* sp. sobre insectos adultos de *Toxoptera aurantii*.

Se demostró la actividad entomopatógena de *Rhizopus* sp sobre *Toxoptera aurantii* debido al crecimiento saprofito de micelio sobre los insectos muertos, resultado similar observo Argueta, I. (2011), en su investigación “evaluación del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* (zimmerman) viegas como biocontrolador de garrapatas en perros (*Canis domesticus* l)”.

Existe diferencias significativas entre las suspensiones de esporas de investigación respecto a la mortandad de insectos adultos de *Toxoptera aurantii* demostrando que los ensayos a los cuales se le aplicó la suspensión de esporas da un mejor resultado en cuanto a la mortandad del insecto plaga en comparación con el control que solo se le aplicó agua destilada estéril. Asimismo, Hernández, A. (2016) obtuvo resultados similares frente al testigo.

De los resultados obtenidos en los muestreos del ensayo de patogenicidad, tomando en cuenta la proporción insectos vivos y muertos en el ensayo se demostró que las concentraciones con esporas con concentraciones similares muestran un resultado similar en los primeros días de aplicación, resultados similares obtuvo Hernández (2016), en su investigación de la actividad de los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) para el control de hormigas cortadoras de hojas (*Atta* spp) en eucalipto.

La concentración letal media de la solución de esporas de *Rhizopus sp.* sobre *Toxoptera aurantii* (pulgón del cítrico) es relativamente baja, resultados similares observó. Mesen E. (2015). Quien realizó la evaluación de la actividad entomopatógena de diversos aislamientos de hongos y cepas de *Bacillus thuringiensis* para el potencial desarrollo de un bioformulado contra las hormigas cortadoras de hojas de la especie *Atta cephalotes*.

VI. CONCLUSIONES

- I. Se demostró la actividad entomopatógena de *Rhizopus* sp. sobre *Toxoptera aurantii* (pulgón del cítrico) en condiciones de laboratorio mediante los bioensayos aplicados.
- II. El bioensayo aplicado con suspensión de esporas a una concentración de 1×10^{-3} conidia/mL de *Rhizopus* sp. muestra una mayor mortandad en comparación al testigo y demás tratamientos.
- III. En el módulo de modelos lineales generalizados y mixtos del programa infostat que se usó para demostrar diferencias entre los tratamientos, se observó diferencia estadística entre los tratamientos en estudio destacando la concentración con mayor número de conidias/mL.
- IV. En la prueba de dosis letal medio en la cual se usó el método de regresión probit se encontró que la dosis letal media para esta suspensión es baja, confirmando su capacidad patogénica de la cepa estudiada en condiciones de laboratorio.

VII. RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS

De acuerdo a las conclusiones obtenidas en el presente trabajo se recomienda lo siguiente:

1. Realizar investigaciones sobre los hongos entomopatogenos en campo de cultivo de la ciudad de Ica debido a que es una zona agrícola en aumento.
2. Repetir el presente experimento en otros insectos plagas que sean de importancia agrícola en el valle de Ica, a fin de obtener información más detallada sobre las plagas a las cuales esta cepa estudiada pueda controlar.
3. De acuerdo al análisis estadístico realizado se sugiere incorporar la cepa estudiada en el control de *Toxoptera aurantii* en base a los resultados obtenidos.
4. Difundir la importancia de la incorporación de hongos entomopatogenos en el manejo de plagas por ser de naturaleza biológica, mejorando el bienestar de la comunidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1. Argueta, I. 2011.** “Evaluación del hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii* (zimmerman) viegas como bicontrolador de garrapatas en perros (*Canis domesticus* L)”. Consultado el 23 de Diciembre del 2018
Recuperado de:

<http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/606/1/10137208.pdf>
- 2. Barahona, J. & Campos, I. 2008.** Evaluación de la patogenicidad y esporulación (Cepa Bisa-01-Metarhisa) de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin Sobre ninfas de salivita (*Aeneolamia varia*) en el laboratorio de hongo entomopatógeno del campus agropecuario, UNANLEÓN, 2008. (En línea)

Consultado el 07 de mayo del 2018. Disponible en:

<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/2709/1/216980.pdf>
- 3. Barreto, N. 1996.** Estudios básicos para el manejo de poblaciones de la Chinche de los pastos *Collaria columbiensis* Carvalho (Hemiptera: Miridae) en la sabana de Bogotá: Tesis, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá. 69p.
- 4. Barreto, N. 2011.** Informe técnico final del proyecto Desarrollo de un sistema de manejo y alerta temprana para la chinche de los pastos *Collaria scenica* Stal, en relación con la variabilidad y el cambio climático

en el altiplano Cundiboyacense. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. 120p.

5. **Bautista, L.; Cardona, J.; Soto, A. & Vélez, P. 2014.** Actividad entomopatógena de tres hongos sobre *Hortensia similis* (Hemiptera: Cicadellidae) y *Collaria scenica* (Hemiptera: Miridae) en sistemas silvopastoriles. Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas, 18 (1): 188-196.
6. **Bustillo, A. 2008.** Los insectos y su manejo en la caficultura Colombiana. Centro Nacional de Investigaciones del café “Cenicafé”, Colombia. 466p.
7. **Cañedo, V. & Ames, T. 2004.** Manual de laboratorio para el manejo de hongos patógenos Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima-Perú.
8. **Di Rienzo, J.; Macchiavelli R.; Casanoves F. 2017.** Modelos lineales generalizados mixtos: aplicaciones en InfoStat . 1a edición especial – Córdoba.
9. **Di Rienzo, J. 2010.** Análisis de Regresión Probit. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.
10. **Donoso, E.; Tobar, B. y Jiménez-Guridi, M. 2011.** Desarrollo tecnológico y adopción de insumos ecológicos: línea base 2010 y perspectiva 2030. Fitonova Ltd., Comisión Nacional de Agricultura Orgánica, Talca, Chile, 211 p. Consultado el 28 de marzo del 2018
Recuperado de:
<http://www.fia.cl/Portals/0/BancoMundial/estudios%20complementarios/insumos%20Ecol%C3%B3gicos%20FIA-BM.pdf>
11. **Falconí, F. 2009.** Evaluación in vitro de hongos entomopatógenos como agentes potenciales para el control de *Dysdercus peruvianus* Guérin-

Méneville 1831 (Hemíptera: Pirrhocoridae) plaga del cultivo del algodón (en línea) Consultado el 07 de mayo del 2018. Disponible en:

<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/902>

12. **García, G.; González, M. 2010.** Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. Ra Ximhai, v. 6, n. 1, p. 17-22, 2010.
13. **García C., González M. 2010.** Uso de bioinsecticidas para el control de plagas de hortalizas en comunidades rurales. Ra Ximhai, 6(1): 17-22.
14. **Goettel, M. S., & Inglis, G. D. 1997.** Fungi: hyphomycetes. Manual of techniques in insect pathology, 5, 213-248.
16. **Hernández. A. 2016** “Evaluación de hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*) para el control de hormigas cortadoras de hojas (*Atta* spp) en eucalipto” santa lucía cotzumalguapa, escuintla. Consultado el 28 de marzo del 2018, Recuperado de:
<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2016/06/17/Hernandez-Alex.pdf>
17. **Kaya, H.K. y Vega, F.E. 2012.** Scope and basic principles of insect pathology. En: F.E. Vega y H.K. Kaya (Eds.). Insect Pathology (2nda edición, p. 1-12). New York: Academic Press.
18. **Mesen E. 2015.** Evaluación de la actividad entomopatógena de diversos aislamientos de hongos y cepas de *Bacillus thuringiensis* para el potencial desarrollo de un bioformulado contra las hormigas cortadoras de hojas de la especie *Atta cephalotes*, Ciudad de Cartago, Costa Rica.

- 19. Morales V., Garay B., Romero A., Sánchez J. 2009.** Insecticidas biológicos en el control de insectos plaga: agrícolas, forestales, de almacén y urbanas en México. Artículo científico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp 1-5..
- 20. Parral, C. 2012.** Científicos desarrollan insecticidas naturales contra plagas agrícolas. Portal de la Investigación de la Universidad de Costa Rica. Consultado el 30 de julio del 2018 Recuperado de http://www.vinv.ucr.ac.cr/index.php?option=com_content&view=article&id=1331:cientificos-desarrollan-insecticidas-naturales-contra-plagas-agricolas&catid=1&Itemid=68
- 21. Reátegui, F.; Krugg, J.; Ayquipa, G & Paredes, S. 2009.** Actividad entomopatógena de cuatro especies de hongos sobre *Prodidiplosis longifila* (Díptera: Cecidomyiidae) REBIOL. Vol. 29
- 22. Restrepo, J. 2011.** Estadísticas del sector agropecuario Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Consultado el 19 de Octubre Del 2018. Disponible:http://www.minagricultura.gov.co/archivos/estadisticas_agropecuarias_25_jul_2011.pdf
- 23. Roberts, D. W. 1981.** Toxins of Entomopathogenic Fungi. In. Microbial Control of Pests and Plant Diseases. 1970-1980. (Burges, H. D. Ed.). Academic Press. London. 441-464p. (Tomado de Evaluación de la eficiencia de diez cepas nativas del hongo *Paecilomyces* sp. Como controlador biológico de “mosca blanca” (*Bemisia tabaci*), a nivel de laboratorio, por Solano Ávila, María Gabriela)

- 24. Tanada, Y. & Kaya, H. K. 2012.** Insect pathology: Academic Press.
- 25. Téllez, A.; Cruz, M.; Mercado, Y.; Torres, A. & Arana, A. 2009.**
Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología* 30 (1): 73-80.
- 26. Villamil, J. y Martínez, J. (2014).** Evaluación de aislamientos nativos de *beauveria* spp. Sobre *Tecia solanivora* (lepidoptera: gelechiidae) in vitro (en línea) Consultado el 28 de marzo del 2018. Disponible en <file:///C:/Users/COORPMAX/Downloads/1940-6955-1-PB.pdf>
- 27. Zimmermann, G. 2007a.** Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596.
- 28. Zimmermann, G. 2007b.** Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(9), 879-920.

IX. ANEXOS



Figura 04: cepas de hongo *Rhizopus sp*



Figura 05: reactivación de *Rhizopus sp.*



Figura 06: replicación de la cepa reactivada

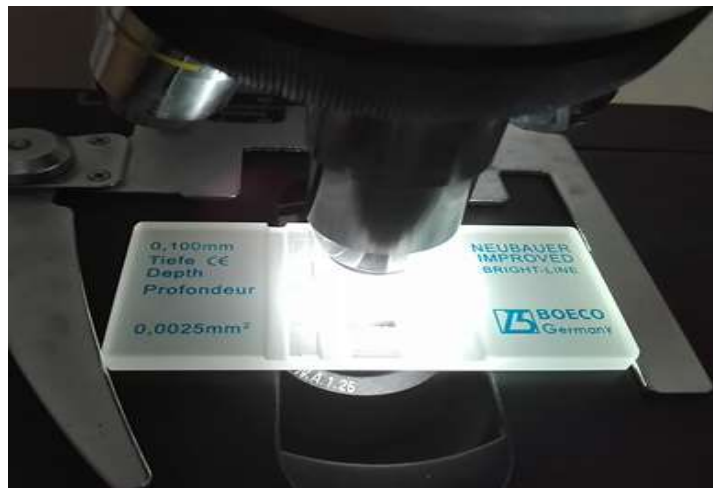


Figura 07: recuento en cámara de neubauer



Figura 08: bioensayo de la concentración 1×10^{-3}



Figura 09: bioensayo de la concentración 1×10^{-6}



Figura 10: bioensayo de la concentración 1×10^{-5}

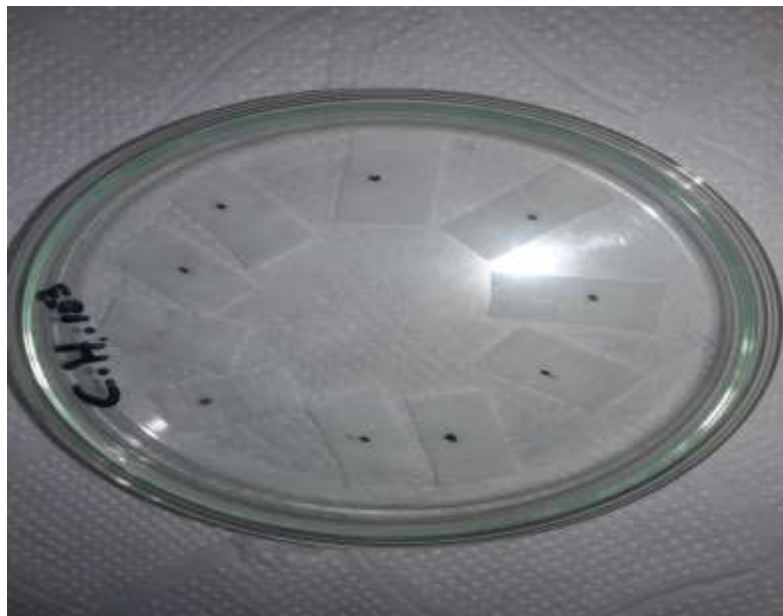


Figura 11: cámara húmeda de la concentración 1×10^{-3}

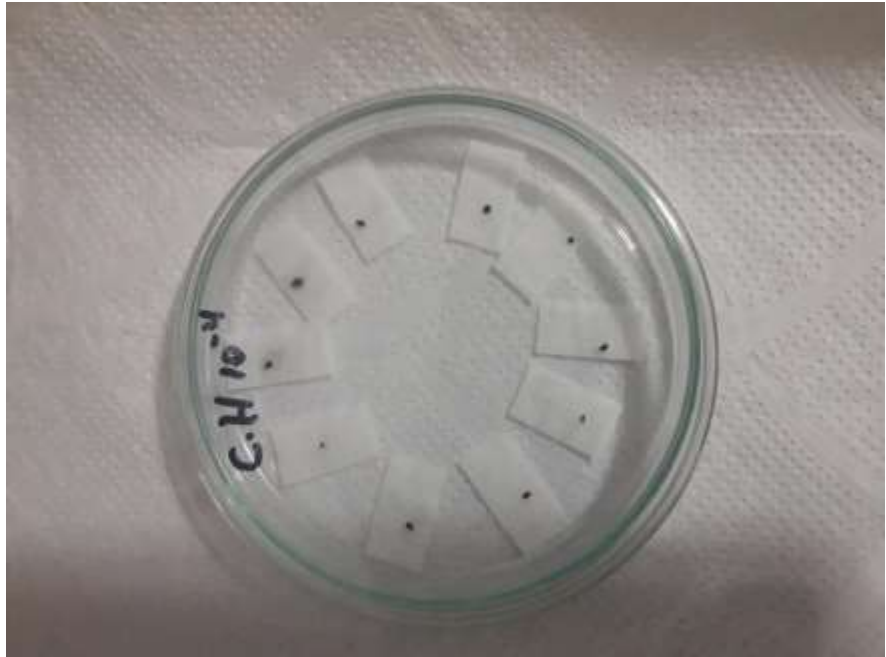


Figura 12: cámara húmeda de la concentración 1×10^{-4}

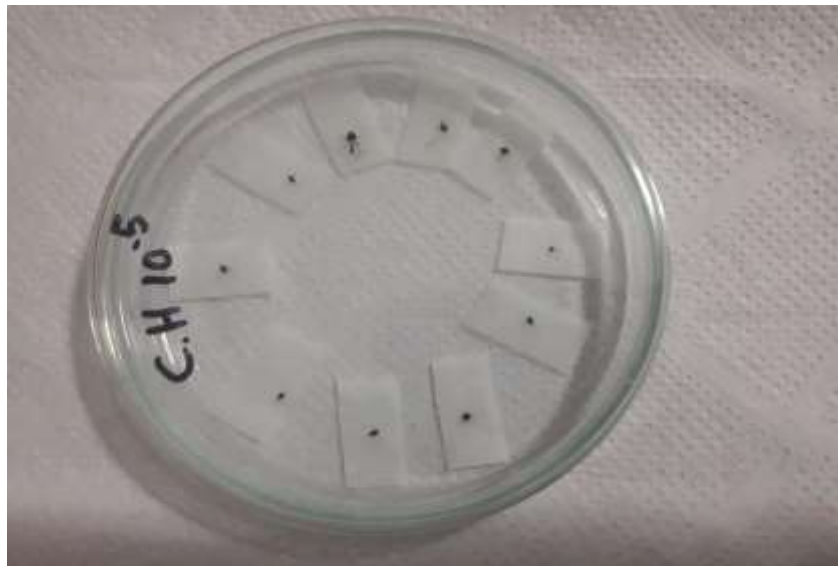


Figura 13: cámara húmeda de la concentración 1×10^{-5}



Figura 14: cámara húmeda de la concentración 1×10^{-6}



Figura 15: crecimiento micelial en cámara húmeda de la concentración 1×10^{-4}



Figura 16: crecimiento micelial en cámara húmeda de la concentración 1×10^{-5}



Figura 17: crecimiento micelial en cámara húmeda de la concentración 1×10^{-6}