

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS DE SUELOS
AGRÍCOLAS DE ICA Y SU EFECTIVIDAD IN VITRO EN EL CONTROL DE**

***Spodoptera frugiperda* (SMITH), ENERO - MARZO 2013**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

BIÓLOGO

PRESENTADO POR:

Bach. Cecilia Rosa, CARBONERO PEÑALOZA

Bach. Milton Wilmer, CÓRDOVA SOTO

ICA – PERÚ

2014

A Dios que ha dado la vida y fortaleza.

A Sara y Víctor, por brindarme su apoyo incondicional.

A Cindy, mi hermana y amiga.

A toda mi familia, que es mi orgullo.

Cecilia C. P.

*A mis padres,
Por su continuo esfuerzo y apoyo.
A mis queridas Erika y Roxana.
A mis primos, casi hermanos.
A toda mi familia, el motor de mi esfuerzo.
A mis maestros,
Por su sabiduría y paciencia.*

Milton C. S.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no se habría podido realizar sin la colaboración de muchas personas que nos han brindado su ayuda, conocimientos y su apoyo. Queremos agradecerles a todos ellos cuanto han hecho por nosotros, para que este trabajo se hiciera de la mejor manera posible.

A Dios, por las personas que puso en nuestro camino.

A la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica y a la Escuela Académico Profesional de Biología, por el soporte institucional dado para la realización de este trabajo. A los Docentes que participaron en nuestro desarrollo profesional durante la carrera brindándonos su ayuda y conocimientos.

A la B.Mblga Marianella Salinas Fuentes, por su asesoramiento. Agradecerle sus comentarios, direcciones, sugerencias y las correcciones con las que se elaboró un adecuado trabajo.

Y, finalmente, queremos expresar el agradecimiento a nuestros padres por su comprensión, por sus constantes muestras de ánimo, apoyo y cariño, tras tanto esfuerzo dedicado a esta tesis.

RESUMEN

En la naturaleza existen alrededor de 700 especies de hongos con capacidad de parasitar a insectos, con un promisorio uso como controladores biológicos en la agricultura, por lo cual se realizó el presente trabajo con el objetivo de aislar hongos entomopatógenos en suelos agrícolas y evaluar su efectividad *In Vitro* en *Spodoptera frugiperda*, distrito de San José de los Molinos, de enero a marzo del 2013.

Se recolectaron 30 muestras de suelos agrícolas para ser procesadas mediante el método del "cebo-insecto". Se identificó las cepas aisladas mediante las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), Humber (2005) y Gilman (1963). Asimismo se evaluó la mortalidad causada por el hongo entomopatógeno utilizando 4 tratamientos de 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 conidias/mL, en larvas de cuarto estadio de *Spodoptera frugiperda*.

Se logró aislar e identificar hongos en 15 muestras de suelo, correspondiendo a *Beauveria bassiana* el 3.33%, siendo la única especie entomopatógena identificada. *Beauveria bassiana* tuvo efecto *In Vitro* sobre *Spodoptera frugiperda* siendo la concentración de 10^6 conidias/mL la que causó mayor mortalidad.

Se concluye que la cepa aislada de *Beauveria bassiana*, constituye el primer registro de hongo entomopatógeno aislado en suelos agrícolas de Ica.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, *Baeuveria bassiana*, suelos agrícolas, *Spodoptera frugiperda*, mortalidad.

ABSTRACT

In nature there are about 700 species of mushrooms ability to parasitize insects, with a promising use as biological control agents in agriculture. Therefore this study aimed to isolate entomopathogenic fungi in agricultural soils and evaluate their effectiveness *In Vitro* in *Spodoptera frugiperda*, in the district of San José de los Molinos, during January to March 2013 was performed.

Thirty agricultural soil samples to be processed by the method of "bait-insect" were collected. Isolates using taxonomic keys of Barnett and Hunter, 1998 Humber, 2005 and Gilman, 1963 the mortality caused by the entomopathogenic fungus treatments using four 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 conidia / mL was identified was also assessed in fourth instar larvae of *Spodoptera frugiperda*.

It was possible to isolate and identify fungi in 15 soil samples, corresponding to *Beauveria bassiana* 3.33%, being the only identified entomopathogenic species. *Beauveria bassiana* took effect *In Vitro* on *Spodoptera frugiperda* with the concentration of 10^6 conidia/mL which caused increased mortality.

We conclude that the isolated strain of *Beauveria bassiana*, is the first record of entomopathogenic fungus isolated in agricultural soils of Ica.

Keywords: entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, agricultural soils, *Spodoptera frugiperda*, mortality.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. ANTECEDENTES.....	03
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	06
3.1. Material.....	06
3.2. Métodos.....	07
3.3. Efecto <i>In Vitro</i> del hongo entomopatógeno aislado.....	09
IV. RESULTADOS.....	14
V. DISCUSIÓN.....	18
VI. CONCLUSIONES.....	22
VII. RECOMENDACIONES.....	23
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
IX. ANEXOS.....	29

I. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen microorganismos (bacterias, hongos, nemátodos) y virus capaces de parasitar y reducir poblaciones de insectos, razón por la cual son denominados entomopatógenos (Cuadra y Col., 2002). Se ha descrito a los hongos como los parásitos más frecuentemente hallados en insectos, debido a que poseen características muy especiales permitiéndoles sobrevivir en forma parasítica y en forma saprofita sobre material vegetal en descomposición (Luna y Lecuona, 2002). Según Rodríguez y col. (2004); existen alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos en casi 100 géneros aproximadamente, distribuidos en las clases Entomophthorales, Hymphomycetes y Zoosporales. Muchas de estas especies como *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumoroseus*, *Paecilomyces farinosus*, *Hyphomyces sp.*, *Beauveria bassiana*, *Entomophthora sp.* han sido evaluadas para el control de insectos, obteniendo altos porcentajes de mortalidad, debido a la eficiencia de su mecanismo de infección (Chan, 2009) describen tres fases para la infección del insecto por el hongo entomopatógeno: adhesión, mediante la cual la quitina del insecto y enzimas del hongo interactúan para propiciar la germinación de la conidia, penetración, en la que el tubo germinativo penetra la cutícula del insecto hasta el hemocele, segregando una gama de toxinas para finalmente expandirse por el cuerpo del insecto mediante las hifas y blastocelos, dando lugar a estructuras de propagación aérea una vez culminado el proceso de infección (Hegedus y Kachatourians, 1995 citado por Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011).

Arguedas y col. (2008), Barriga y col. (2002) señalan que los hongos entomopatógenos son considerados agentes de control biológico más promisorios contra insectos que ocasionan daños en la agricultura, como el caso de los áfidos, cicadélidos y lepidópteros. Sus múltiples mecanismos de acción les confieren una

alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia (Villalobos, 1992) que hacen posible su utilización como control biológico en cultivos de importancia agrícola, contra especies como *Spodoptera frugiperda*. En el Perú *Spodoptera frugiperda* es considerada una plaga importante, especialmente para el cultivo del maíz en la costa norte y sur, mermando la actividad productiva de pequeños y medianos agricultores. Esto lleva al uso indiscriminado de pesticidas e insecticidas artificiales que son dañinos para el medio ambiente, además de generar resistencia en la plaga (Devotto y col., 2000; Zambrano y col., 2003).

Por lo antes expuesto se considera muy importante el uso de métodos de control alternativos, como lo es el control biológico, cuya acción es específica para las diversas especies de insectos plaga como *Spodoptera frugiperda*.

Hasta la fecha, en el departamento de Ica, no se cuenta con estudios referentes a la identificación de hongos entomopatógenos provenientes de muestras de suelos, cuya importancia radica en su adaptación a las condiciones ambientales de los lugares de cultivo, situación que permite plantear una alternativa de solución eficaz basado en el control biológico de *Spodoptera frugiperda*.

Motivados por esta necesidad y existiendo cultivos de maíz afectados por esta plaga en las localidades de La Aurora, El Palto y La Huantina del distrito de San José de los Molinos (Ica), se realizó el presente trabajo con el objetivo de aislar especies de hongos entomopatógenos procedentes de muestras de suelo y determinar su efectividad en el control *In Vitro* de *Spodoptera frugiperda*, de enero a marzo del 2013.

II. ANTECEDENTES

Para el presente trabajo se tienen las siguientes investigaciones:

Asencio y col. (2003). En España, colectaron 61 muestras de suelos procedentes de campos cultivados, bosques y matorrales, en la provincia de Alicante. Con un éxito de aislamiento del 32,8 %. Se identificaron 4 especies de hongos entomopatógenos, cuya frecuencia de ocurrencia fue de 21% para *Beauveria bassiana*, 6,4% para *Metarhizium anisopliae*, 4,8% para *Lecanicillium lecanii* y 1,6% para *Lecanicillium psalliotae*.

Meyling y Eilenberg (2006). En Dinamarca, durante los años 2001 al 2003, colectaron 614 muestras de suelos procedentes de campos cultivados y áreas aledañas a campos cultivados, en la localidad de Tasstrup, Copenhagen. Con un éxito de aislamiento del 12,06% (campos cultivados) en el año 2001, 14,6% (campos cultivados) y 51,3% (bosques de setos) en el año 2002, 37,6% (bosques de setos) en el año 2003. Identificaron 8 especies de hongos entomopatógenos: *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviridae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces farinosus*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Hirsurtella nodulosa*, *Lecanicillium lecanii* y *Conidiolobus coronatus*, siendo *Beauveria bassiana* la especie con mayor frecuencia de ocurrencia en las muestras colectadas.

Sun y Liu (2008). En China, recolectaron 425 muestras de suelos procedentes de campos cultivados, bosques y montañas en 10 provincias de China. Con un éxito de aislamiento en el 55% de las muestras colectadas, se identificaron 377 cepas, correspondientes a 6 especies de hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *Paecilomyces fumosoroseus*,

Lecanicillium lecanii y *Typocladium inflatum*; 21 especies de hongos oportunistas y 19 especies de hongos colonizadores secundarios.

Hernández-Velázquez y col. (2011). En México, colectaron 44 muestras de suelos cultivados y no cultivados en el estado de Morelos. Con un éxito de aislamientos del 68% en las muestras de suelo, se identificaron 48 cepas correspondientes a 3 especies de hongos entomopatógenos: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces sp.* La frecuencia de ocurrencia fue de 60,8% para *Beauveria bassiana*, 21,7% para *Metarhizium anisopliae* y 6,5% para *Paecilomyces sp.* en el total de muestras colectadas.

García y col. (2011). En México, recolectaron 39 muestras de suelos cultivados e insectos infectados en campo, procedentes de los distritos de Guadalupe Victoria y Francisco I, estado de Morelos. Aislaron 97 cepas de las cuales el 58,7% correspondió a *Beauveria bassiana*, 37,11% a *Metarhizium anisopliae* y 4,12% a *Isaria fumosorosea*, procedentes de las muestras de suelo. Evaluaron la efectividad de 2 cepas de *Beauveria bassiana* (Bb18 y Bb42) a concentraciones de 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , y 10^9 conidias/mL, sobre larvas de II estadio de *Spodoptera frugiperda*, las cuales produjeron una mortalidad del 69,3% para la cepa Bb18 y 96,6% para Bb42, a concentraciones de 1×10^9 conidias/mL.

Vásquez y Martos (2003). En Perú, en el Laboratorio de Crianza de Insectos de la Universidad Nacional Agraria de la Molina, evaluaron la efectividad de una cepa de *Beauveria bassiana* CCB-E 211, a concentraciones 10^6 , 10^7 , 10^8 y 10^9 conidias/mL sobre estadios larvales II, III y IV de *Spodoptera frugiperda*. Obtuvieron el máximo porcentaje de mortalidad 76,6% a una concentración de 1×10^9 conidias/mL, y el

estadio larval II de *Spodoptera frugiperda* fue el más susceptible con un 53,3% de mortalidad.

Para la localidad de Ica no se registraron trabajos relacionados al aislamiento de hongos entomopatógenos procedentes de suelos agrícolas. No se cuentan con trabajos realizados en la provincia de Ica referentes a enfrentamiento de hongos entomopatógenos aislados en suelos, contra *Spodoptera frugiperda*, es por eso que el presente trabajo está dirigido al aislamiento de cepas de hongos entomopatógenos en los suelos de Ica y comprobar su potencial como controlador biológico de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Consistió en 30 muestras de suelos agrícolas colectadas en el ámbito de las localidades La Aurora, El Palto y La Huantina, distrito de San José de los Molinos, mes de Enero del 2013 (Anexos, Fig. 1).

3.1.2 OTROS MATERIALES

Se utilizó el insecticida Clorpirifos TIFON 4 (IUPAC: O, O-dietil O-3,5,6-trichloropyridin-2-il fosforotioato) como control positivo en el bioensayo. Asimismo una dilución de tween 80 (Polisorbato), como control negativo.

3.1.1.1 Muestra

Parcelas con cultivos de maíz en las cuales se verificó la presencia de *Spodoptera frugiperda*.

Se empleó el muestreo no aleatorio por conveniencia para seleccionar las parcelas con cultivos de maíz infestadas con *Spodoptera frugiperda*, teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- **Criterios de inclusión**

Parcelas que presenten una capa superficial húmeda de aproximadamente 15 centímetros de profundidad.

Parcelas cultivadas cuyo pH fluctuaron entre los valores de 3 – 11, en la escala de medición del pH.

- **Criterios de exclusión**

Parcelas cultivadas donde se haya aplicado anteriormente tratamientos con hongos entomopatógenos.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Recolección de las muestras de suelo

Se determinaron cuatro puntos en los lugares de muestreo seleccionados, cada punto se ubicó a una distancia de un metro del lugar seleccionado. Se colectó 500 gramos de suelo por punto, para luego homogeneizarlos en una muestra compuesta, colocándola en una bolsa estéril rotulada, para su preservación; técnica modificada por Almeyda y col, 1997 citado por Priscila, 2010. Las bolsas con muestras de suelo fueron transportadas y preservadas en un cooler a 4°C, para su procesamiento en el laboratorio.

3.2.2 Aislamiento de hongos entomopatógenos mediante la técnica “Cebo – Insecto”

El aislamiento de los hongos entomopatógenos de las muestras de suelo colectadas se realizó mediante el método del “cebo-insecto”, metodología propuesta por Zimmermann, 1986 citado por Meyling, 2007. Se utilizaron larvas de cuarto estadio de *Galleria mellonella*, criadas en condiciones de asepsia. Se colocó 150 gramos de muestra de suelo en un recipiente plástico de primer uso, para luego colocar 11 larvas del cuarto estadio de *Galleria mellonella*, realizándose 2 réplicas por muestra, los cuales fueron sellados, rotulados y almacenados para el proceso de infección durante 7 días a temperatura ambiente.

Luego de siete días del proceso de infección, se evaluaron y separaron aquellas larvas muertas que presentaron o no, signos de micosis. Para acondicionar las larvas muertas, estas fueron desinfectadas en un recipiente conteniendo 30 mL de solución hipoclorito de sodio al 1 % del producto activo durante 5 minutos. Luego de desinfectarlas fueron sumergidas y lavadas 4 veces con agua destilada estéril.

Las larvas desinfectadas fueron colocadas en recipientes plásticos de 500 mL de capacidad, sobre una base de papel de filtro humedecido con agua destilada estéril; luego se procedió a rotular y sellar los recipientes plásticos con parafilm. Se incubó a temperatura ambiente durante 7 días o hasta observar el crecimiento del micelio sobre las larvas muertas.

Luego de la incubación en cámara húmeda, se seleccionaron aquellas larvas que presentaron crecimiento de micelio sobre la cutícula; tomando una asada del micelio y mediante siembra por puntura se replicó los aislamientos en medio de cultivo (PDA) + cloranfenicol (50 mg/mL), incubadas a temperatura ambiente durante siete días o hasta el crecimiento de colonias sobre el medio de cultivo (Cañedo y Ames, 2004).

3.2.3 Identificación

Se caracterizaron macroscópicamente las colonias que crecieron en las placas con medio de cultivo, determinando la pigmentación, textura, borde, superficie, elevación, etc. Se observó a 100 y 400 aumentos, mediante un microscopio óptico para la caracterización microscópica, identificando las estructuras reproductivas, forma y color de las hifas, forma y pigmentación de conidias, etc.; para una mejor descripción de las estructuras microscópicas, se utilizó la técnica de microcultivo (Cañedo y Ames, 2004). Comparando las características macroscópicas y microscópicas, con la ayuda de claves taxonómicas de Barnett y Hunter, 1998, Humber, 2005 y Gilman, 1963, se identificaron las especies y géneros de las cepas aisladas.

3.3 EFECTO *IN VITRO* DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO AISLADO

3.3.1 Obtención y recuento de conidias

Luego de la identificación de la cepa de hongo entomopatógeno fue replicado en placas con medio de cultivo PDA + cloranfenicol (50

mg/mL) + levadura 10% (levadura de cerveza) para facilitar la esporulación y almacenadas durante 15 días a temperatura ambiente.

Para la obtención de conidias se colocaron 5 perlas de vidrio de 5 mm de diámetro en las placas + 20 mililitros de solución tween 80 al 0,001%, se agitó suavemente con el fin de suspender las conidias y facilitar su extracción. Las suspensiones extraídas se almacenaron en tubos estériles de 16 x 100 mm para realizar el conteo de las mismas y ajustar la concentración a aplicar en los tratamientos (Cañedo y Ames, 2004).

Para el recuento de conidias, se depositó 10 μ L de la suspensión sobre una Cámara de Neubauer, observando los cuadrados de la cámara con un microscopio óptico, a 400 aumentos. Se contaron en total 5 cuadrados, uno en cada extremo y el cuadrado central, (Cañedo y Ames, 2004).

Se calculó el número de conidias/mL y el número total de conidias, utilizando las siguientes fórmulas:

Conidias/mL = # conidias contadas x 25,000 x factor dilución

Conidias total = conidias/mL x Vol. de la suspensión de conidias

3.3.2 Preparación de los tratamientos

Luego de la obtención y recuento de conidias, la solución extraída fue ajustada para preparar las concentraciones de conidias/mL: 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 .

Se acondicionaron cuatro frascos aspersores con capacidad de 30 mL conteniendo las diferentes concentraciones a aplicar.

Adicionalmente se prepararon 2 soluciones a ser utilizadas como control negativo y positivo; la solución a aplicar en el control positivo se compuso de agua destilada estéril + insecticida Clorpirifos TIFON 4 (IUPAC: O, O-dietil O-3,5,6-trichloropyridin-2-il fosforotioato) ajustada a una concentración final de 0,0025 mL/L de producto activo. Para el control negativo se preparó 30 mL de solución de tween 80 al 0,001% en agua destilada estéril.

Se acondicionaron unidades de tratamiento, cada una constituida por 33 larvas de *Spodoptera frugiperda* del 4to instar larval, las cuales se dispusieron en número de 11 por envase plástico con capacidad para 1,5 L. Las larvas fueron alimentadas con hojas frescas de *Ricinus communis* en la duración de los tratamientos.

3.3.3 Aplicación de los tratamientos

Se aplicaron 30 mL de cada concentración respectiva a las unidades de tratamiento, de la siguiente manera:

- 10^6 conidias/mL + larvas de *Spodoptera frugiperda*
- 10^5 conidias/mL + larvas de *Spodoptera frugiperda*
- 10^4 conidias/mL + larvas de *Spodoptera frugiperda*

- 10^3 conidias/mL + larvas de *Spodoptera frugiperda*
- Control positivo:
0,0025 mL/L Clorpirifos + larvas de *Spodoptera frugiperda*
- Control negativo o testigo:
Tween 80 al 0,001%. + larvas de *Spodoptera frugiperda*

Se realizaron 3 repeticiones por unidad de tratamiento incluyendo el control positivo y negativo.

3.3.4 Evaluación de la mortalidad de *Spodoptera frugiperda* ante los tratamientos del hongo entomopatígeno

Se contaron los individuos muertos cada 24 horas a partir de la aplicación de los tratamientos, hasta obtener el 100% de larvas muertas o completar el estadio de adulto.

La mortalidad de los tratamientos fue ajustada mediante la fórmula de Abbott (1925), citado por Cañedo y Ames (2004):

$$MC = \frac{\% \text{ mortalidad del tratamiento} - \% \text{ mortalidad del testigo}}{100 - \% \text{ mortalidad del testigo}} \times 100$$

Se determinó el tiempo de mortalidad de los tratamientos, mortalidad diaria y acumulada en los tratamientos.

Las larvas muertas fueron separadas e incubadas en cámaras húmedas individuales para facilitar la esporulación y posterior

confirmación de la cepa de hongo entomopatógeno aplicada (Cañedo y Ames, 2004).

El análisis estadístico se realizó utilizando el software estadístico SPSS versión 16 en español y la hoja de cálculo Excel, en el cual se elaboró tablas y gráficos según fue el caso.

IV. RESULTADOS

Tabla 1 Porcentaje de presencia de hongos en muestras de suelos agrícolas, distrito de San José de los Molinos, enero del 2013.

Hongos aislados	Huantina	El Palto	Aurora	Total muestras	Total %
Entomopatógenos <i>Beauveria bassiana</i>	0	1	0	1	3,33
Presencia Otros hongos	5	6	3	14	46,67
Ausencia	8	3	7	15	50,00
TOTAL	13	10	7	30	100,00

Tabla 2 Proporción de cepas de hongos aislados en las muestras de suelos agrícolas, distrito de San José de los Molinos, enero del 2013.

Hongos	AISLAMIENTOS ^b	
	(n)	%
Entomopatógenos		
<i>Beauveria bassiana</i>	4	6,56
Otros		
<i>Alternaria sp.</i>	26	42.62
<i>Cladosporium sp.</i>	6	9.84
<i>Fusarium sp.</i>	10	16.39
<i>Penicillium sp.</i>	15	24.59
TOTAL	61	100

^b: Total de cepas aisladas e identificadas en larvas de *Galleria mellonella* infectadas mediante el método del "insecto-trampa".

- Ver Anexos: Tabla 8.

Tabla 3 Porcentaje de mortalidad promedio de los tratamientos aplicados de *Beauveria bassiana* sobre *Spodoptera frugiperda*.

Tratamientos (conid./ml)	Mortalidad promedio	
	n ^a	% ^b
10 ⁶	6,47	19,62
10 ⁵	2,59	7,84
10 ⁴	3,45	10,47
10 ³	2,13	6,45
control negativo (tween 0,001%)	0,00	0,00
control positivo (Clorpirifos 0,0025 mL/L)	32,25	95,90

^a: Número promedio de larvas de *Spodoptera frugiperda* muertas por la aplicación de los tratamientos.

^b: Porcentaje promedio de la mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* por la aplicación de los tratamientos.

Tabla 4 Diferencia de medias de mortalidades de *Spodoptera frugiperda*, entre tratamientos de *Beauveria bassiana* y el control negativo

Tratamientos (conid./mL)	Testigo ^a	Porcentaje de mortalidad (%)	Número de muertos (larvas)	Nivel de Significancia (p)
10 ⁶	control negativo	19,62	6,47	0,000*
10 ⁵	control negativo	7,84	2,59	0,036*
10 ⁴	control negativo	10,47	3,45	0,003*
10 ³	control negativo	6,45	2,13	0,063
control positivo	control negativo	95,90	32,25	0,000*

H₀: Las medias de la mortalidad del grupo control negativo y el tratamiento son iguales

H₁: Las medias de la mortalidad del grupo control negativo y el tratamiento no son iguales

p < 0,05 Si hay diferencia significativa

p > 0,05 No hay diferencia significativa

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control (testigo) y lo comparan con todos los demás grupos (tratamientos).

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05

- Ver Anexos: Tabla 11, 12 y 13.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación para la búsqueda de hongos entomopatógenos, mediante la técnica del “cebo-insecto”, se obtuvieron aislamientos en 15 de 30 muestras de suelo colectadas en 3 localidades del distrito de San José de los Molinos, representando el 50% (Anexo: Tabla 1), esto se debe a la susceptibilidad de las larvas de *Galleria mellonella*, a infecciones fúngicas bajo condiciones favorables de humedad, temperatura, como lo refiere Meyling, 2007; además de considerar como frecuente, aislamientos hasta en el 10% de muestras colectadas. Solo se logró aislar e identificar 1 especie de hongo entomopatógeno, *Beauveria bassiana* (Anexo: Tabla 8, Figura 9); no fueron aisladas otras especies como *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces sp*, *Verticillium lecanii*, *Hirsurtella sp.*, *Entomophthora sp.*, debido posiblemente a que factores como la humedad relativa del 76% y temperatura de hasta 30 °C, registrados en el distrito de los Molinos, hayan limitado su aislamiento; ya que estas especies generalmente necesitan humedades relativas superiores al 80% y temperaturas inferiores a 25°C, propios de climas cálidos - templados y húmedos - subtropicales (Elósegui y col., 2004). Asimismo Sun y Liu, 2008, resaltan la importancia de la variedad de pisos altitudinales para el aislamiento de dichos hongos en muestras de suelos, observando que algunas especies son más frecuentes a altitudes entre 1400 – 3000 msnm; sin embargo la localidad El Palto, distrito de San José de los Molinos, se encuentra a una altitud de 800 msnm. Al aislarse solo *Beauveria bassiana* en el presente trabajo, se sustenta con lo referido por Meyling y Eilenberg, 2006, Navas, 2011, que esta especie muestra mayor tolerancia a la variación de los parámetros ambientales que otros hongos entomopatógenos, siendo una especie cosmopólita.

Esta especie generalmente soporta humedades relativas inferiores al 80% y temperatura superiores a 27°C, para la germinación de sus conidias. Cabe resaltar que *Beauveria bassiana*, constituye el primer registro de hongo entomopatógeno aislado en Ica, asimismo la baja frecuencia registrada, se debe posiblemente a que la cepa, aún está en proceso de adaptación a estos suelos. Además según Posada y col. 2010, se ha demostrado que esta especie muestra capacidad endofítica en diferentes cultivos agrícolas, entre ellos el maíz.

Otra razón por la cual no se aislaron otras especies de hongos entomopatógenos, posiblemente se deba a que solo encontraron cultivos de maíz en las localidades el Palto, San José de los Molinos, y eso influye en la reducción de diversidad de especie de insectos, que los hongos puedan parasitar, si como refiere Sun y Liu, 2008.

Se aislaron 61 cepas de hongos procedentes de larvas muertas de *Galleria mellonella*, siendo *Beauveria bassiana* la única especie entomopatógena identificada, en proporción del 6,56 %, procedente de la localidad El Palto. Asimismo se identificaron cepas de otros hongos: *Alternaria sp.* con el 42,62% del total de cepas aisladas, *Penicillium sp.* con 24,59%, *Fusarium sp.* con 16,40% y *Cladosporium sp.* con 9,84% (Anexo: Tabla 2). Estas especies son descritas como contaminantes o colonizadores secundarios y la gran proporción aislada se debería al rápido crecimiento presentado respecto al de los hongos entomopatógenos, esto explica la facilidad con la que llegan a colonizar la cutícula de insectos muertos o infectados por otros microorganismos; algunas de estas especies son descritas como fitopatógenos frecuentes en cultivos agrícolas, como el de maíz, ampliando así, las posibilidades de sobrevivir frente a condiciones ambientales adversas (Sun y Liu, 2008).

Respecto a la evaluación del efecto *In Vitro*, los tratamientos aplicados de la cepa de *Beauveria bassiana* aislada si tuvieron efecto sobre larvas del cuarto estadio de *Spodoptera frugiperda*, ocasionando mortalidades de 19,62 % a concentración de 10^6 conidias/mL, 7,84 % a concentración de 10^5 conidias/mL, 10,47 % a concentración de 10^4 conidias/mL y 6,45 % a concentración de 10^3 conidias/mL (Anexo: Tabla 3). Estos resultados difieren de los obtenidos por Vásquez y Martos, 2003, quienes ensayaron diferentes concentraciones, entre ellas 10^6 conidias/ml con la cual obtuvieron mortalidades del 33% sobre larvas del cuarto estadio de *Spodoptera frugiperda*, posiblemente se debe a que la cepa de *Beauveria bassiana* ensayada fue obtenida directamente de insectos infectados en campo, determinando así cierta especificidad sobre *Spodoptera frugiperda*. La germinación de las esporas durante el proceso de infección depende del insecto hospedero, la penetración del hongo entomopatógeno es precedida de la formación de un apresorio que se fija en la cutícula y sirve de apoyo a los procesos físicos y enzimáticos; esto sugiere que el origen de los aislamientos determina el grado de patogenicidad (Srisukchayakul y col. 2005, citado por García y col. 2011). Cabe señalar que las cepas de hongos entomopatógenos tiene eficiencia específica sobre ciertas especies de insectos, debido a que sufren procesos de selección natural y coevolución, factores que pueden generar en las cepas una mayor especificidad en la infección del insecto blanco (Luna y Lecuona, 2002). Los resultados también se diferencian de lo obtenido por García y col. 2011, que evaluaron 2 cepas de *Beauveria bassiana* a diferentes concentraciones, obteniendo mortalidades de 41,3% y 96% respectivamente, sobre larvas de II estadio de *Spodoptera frugiperda*. Estadios incipientes como el II estadio de *Spodoptera frugiperda*, son más propensas a ser infectadas por hongos

entomopatógenos, debido a que estas aun no completan el desarrollo de su sistema inmune (Molina y Espinal, 2000).

Los resultados obtenidos sobre la mortalidad de *Spodoptera frugiperda* fueron contrastados mediante un análisis de varianza, lo cual definió que las mortalidades de las concentraciones 10^6 , 10^5 y 10^4 conidias/mL diferían significativamente entre si y la mortalidad del testigo, determinando que la concentración 10^6 conidias/mL, produjo el porcentaje más alto de mortalidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*, con 19,62% en un tiempo promedio de 8 días (Anexo: Tabla 4). Sin embargo la cepa aislada en el presente trabajo no es la adecuada para ser utilizada como un eficiente controlador de *Spodoptera frugiperda*, bajo las concentraciones ensayadas. Mortalidades mayores al 60% de poblaciones ensayadas son aceptables, considerándose altamente efectivas a partir de 70 a 80% de mortalidad, esto refiere a la factibilidad del uso de hongos entomopatógenos como control eficiente de plagas, a fin de que pueda competir resultados obtenidos mediante la aplicación de insecticidas sintéticos (Vasquez y Martos, 2003; Delgado y Murcia-Ordoñez, 2011; Lezama y col., 1998).

VI. CONCLUSIONES

1. Se aisló *Beauveria bassiana* (HE - 016) en un 3,33% de muestras de suelos agrícolas, en la localidad El Palto, distrito de San José de los Molinos, provincia y departamento de Ica.
2. Los tratamientos de la cepa aislada de *Baeuveria bassiana* tuvieron efecto sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda*, a concentraciones 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 conidias/mL obteniendo mortalidades entre 19,62% y 6,45%. Las concentraciones de 10^6 conidias/mL, 10^5 conidias/mL, 10^4 conidias/mL difirieron estadísticamente entre sí y con el control negativo ($p < 0,05$).
3. La mortalidad más alta obtenida fue de 19,62% sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* a una concentración de 10^6 conidias/mL de la cepa de *Beauveria bassiana*.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para la búsqueda de especies de hongos entomopatógenos en suelos agrícolas, se recomienda, programar un muestreo anual que abarque las temporadas del cultivo de maíz y secano, a fin de evaluar su presencia y distribución.
2. Evaluar presencia de hongos entomopatógenos en suelos de policultivos agrícolas.
3. Evaluar concentraciones mayores a 10^6 conidias/mL de la cepa de *Beauveria bassiana* aislada, a fin de conseguir porcentajes de mortalidad elevados, así como ensayar en los diferentes instares larvales de *Spodoptera frugiperda*.
4. Ensayar la efectividad de la cepa aislada en otras especies de insectos, a fin de determinar su posible uso como control de las mismas.
5. Se recomienda seguir con el aislamiento de hongos entomopatógenos y estudiar su ecología a fin de establecer medidas eficientes que garanticen su uso como alternativas inocuas al medio ambiente, para el control de insectos plaga.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Arguedas M., V. Álvarez, y R. Bonilla.** Eficacia del hongo entomopatógeno *Metharrizium anisopliae* en el control de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Agronomía Costarricense* 32(2): 137-147. 2008.
2. **Asencio L., T. Carbonell, J. López-Jiménez, L. López-Llorca,** Entomophatogenic fungi from soils of Alicante province. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1(3): 37-45. 2003.
3. **Barajas G., E. Minel, M. Rodríguez, A. Palacios y J. Hermosillo.** Aislamientos fungosos nativos del estado de Chihuahua, patógenos de *Brachystola magna*. Memoria Tercera Reunión Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación 2005 – 2010; 2008.
4. **Barnett H. and B. Hunter.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4ta ed., Division of Plant Sciences West Virginia University Morgantown, West Virginia, Burgess Publishing Company, EEUU. 1998
5. **Barriga E., P. Landázuri, P. Gallegos y R. Williams.** Evaluación en laboratorio de la patogenicidad de aislamientos nativos de *Beauveria* sp. y *Metarhizium anisopliae* para el control de *Premnotrypes vorax*. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 13:104-111. 2002
6. **Cañedo V. y T. Ames.** Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos., Centro Internacional de la Papa – CIP, Lima – Perú. 2004.

7. **Chan W.** Caracterización fisiológica y molecular de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y su patogenicidad en estadios inmaduros de *Bemisiatabaci* (Gennadius), Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura, Instituto de Conkal, México. 2009.
8. **Cuadra R., R. Castañeda y N. Rodríguez.** Patogenicidad de una cepa cubana de *Paecilomyces fumosoroseus* sobre *Meloidogyne incognita*. Revista Protección Vegetal 15(2):114-117. 2002.
9. **Delgado P. y B. Murcia-Ordoñez.** Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. Tabauté, Colombia, Revista Ambiente & Agua, 6(2): 77-90. 2011.
10. **Devotto L., R. Gerding y A. France.** Informativo agropecuario Bioleche - INIA Quilamapu. "Hongos entomopatógenos: una alternativa para la obtención de biopesticidas", Informativo Agropecuario Bioleche INIA Quilamapu v. 13(1). 2000.
11. **Elósegui O., J. Jiménez y A. Carr.** Aislamiento, identificación y caracterización morfológica de aislados nativos de hongos mitosporicos con potencialidad para el control de especies de insectos plaga. Fitosanidad, 10(4):265-272. 2004.
12. **García C., M. González, N. Bautista.** Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epilachna variavestis* (Coleoptera: Coccinellidae). Revista Colombiana de Entomología 37 (2): 217-222. 2011.

13. **Gilman J.** Manual de los hongos del suelo. 2da ed., Edit. Cont., S.A. México. 1963
14. **Hernández-Velázquez V. M., Z. Cervantes Espíndola, F. J. Villalobos; L. L. García y G. Peña Chora.** Aislamiento de hongos entomopatógenos en suelo y sobre gallinas ciegas (Coleoptera: Melolonthidae) en agroecosistemas de maíz. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 27(3): 591-599. 2011.
15. **Humber R. A.** Entomopathogenic fungal identification, workshop. USDA-ARS Plant Protection Research Unit, Plant Unit, Soil & Nutrition Laboratory. 2005.
16. **Luna J. y R. Lecuona.** Selección de cepas de hongos entomopatógenos nativos para el control de la tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae), *Revista de Investigación Agraria, INTA*, 31 (1):67-84. 2002
17. **Lezama R., J. Molina; M. López, A. Pescador, E. Galindo, C. Ángel y A. Michel.** Efecto del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* sobre el control del gusano cogollero del maíz en campo., *Revista de investigación y difusión científica*, 1998. [Online] [fecha de acceso 11 de julio 2012], disponible en: <http://www.ucol.mx/reviaia/antiores/antiores/2005/VOL.1/Efecto%20del%20hongo%20entomopatogeno%20Metarhizium%20anisopliae%20sobre.pdf>
18. **Meyling N.** Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment, laboratory manual. Department of Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark. 2007.

19. **Meyling N. and J. Eilenberg.** Occurrence and distribution of soil borne enthomopatogenic fungi whitin a single agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Enviroment* 113: 336-341. 2006.
20. **Molina J. y J. Espinal.** Evaluación de *Beauveria bassiana* para el combate de insectos plaga en maíz almacenado. *Revista de Agronomía Mesoamericana* 11 (2): 15 – 23. 2000.
21. **Navas J.** Eficacia de *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillemin 1912 como controlador biológico de *Cosmopolites sordidus* Germar 1824 (Coleoptera: Dryophthoridae) en una plantación de banano en la región Caribe de Costa Rica. Tesis para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Costa Rica, Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar, Escuela de Ciencias Agrarias. 2011.
22. **Posada F., F. Chaves., T. Gianfagna., M. Pava –Ripoll., P. Hebbar.** Establecimiento del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* como endófito en frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13(2):71-78. 2010.
23. **Priscilla A.** Evaluación del potencial de hongos entomopatógenos para el control de saltahojas plaga (Hemiptera: *Cicadellidae*), en plantaciones de *Dracaena marginata* (Agavaceae), Tesis para obtener la Licenciatura en Biología con mención en Manejo Integrado de Plagas, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Costa Rica. 2010.

24. **Rodríguez M., M. Gerding y A. France.** Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultura Técnica* 66 (2). 2004.
25. **Sun B. and X. Liu.** Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology* 39: 100-108. 2008.
26. **Vásquez J. y A. Martos.** Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)(Lepidoptera:Noctuidae) a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Moliniales:Moliniaceae), en Lima, Perú. *Revista Peruana de Entomología* 43: 95-100. 2003.
27. **Villalobos F.** The potential of entomopathogens for the control of white grub pests of corn in Mexico, *In*: T. A. Jackson & T. R. Glare (Eds.), *Use of pathogens in scarab pest management*. Intercept. England. 1992.
28. **Zambrano C., M. Sepúlveda, E. Zambrano y N. Molina.** Hongos entomopatógenos en Venezuela: *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. Caracterización, formulación, producción y aplicación. 2003. [Online] [Fecha de acceso 10 de Julio 2012], disponible en: <http://pegasus.ucla.edu.ve/CCC/RESUMEN/agronomia /c1-32-ag.htm>

IX. ANEXOS



Fig. 1 Mapa de ubicación de los puntos de muestreo, San José de los Molinos, Ica.

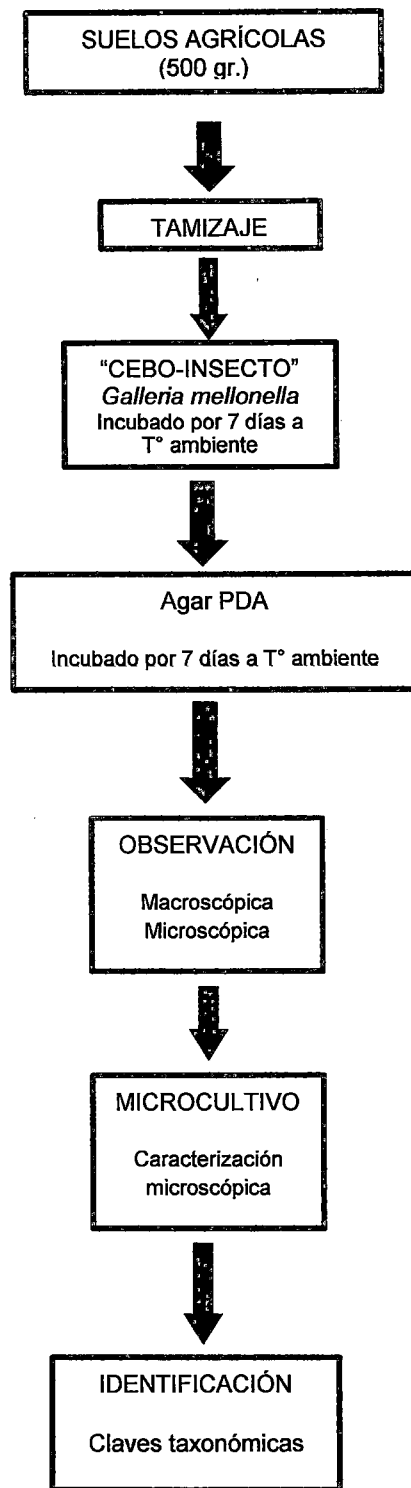


Fig. 2 Diagrama de flujo del aislamiento e identificación de los hongos en suelos agrícolas.

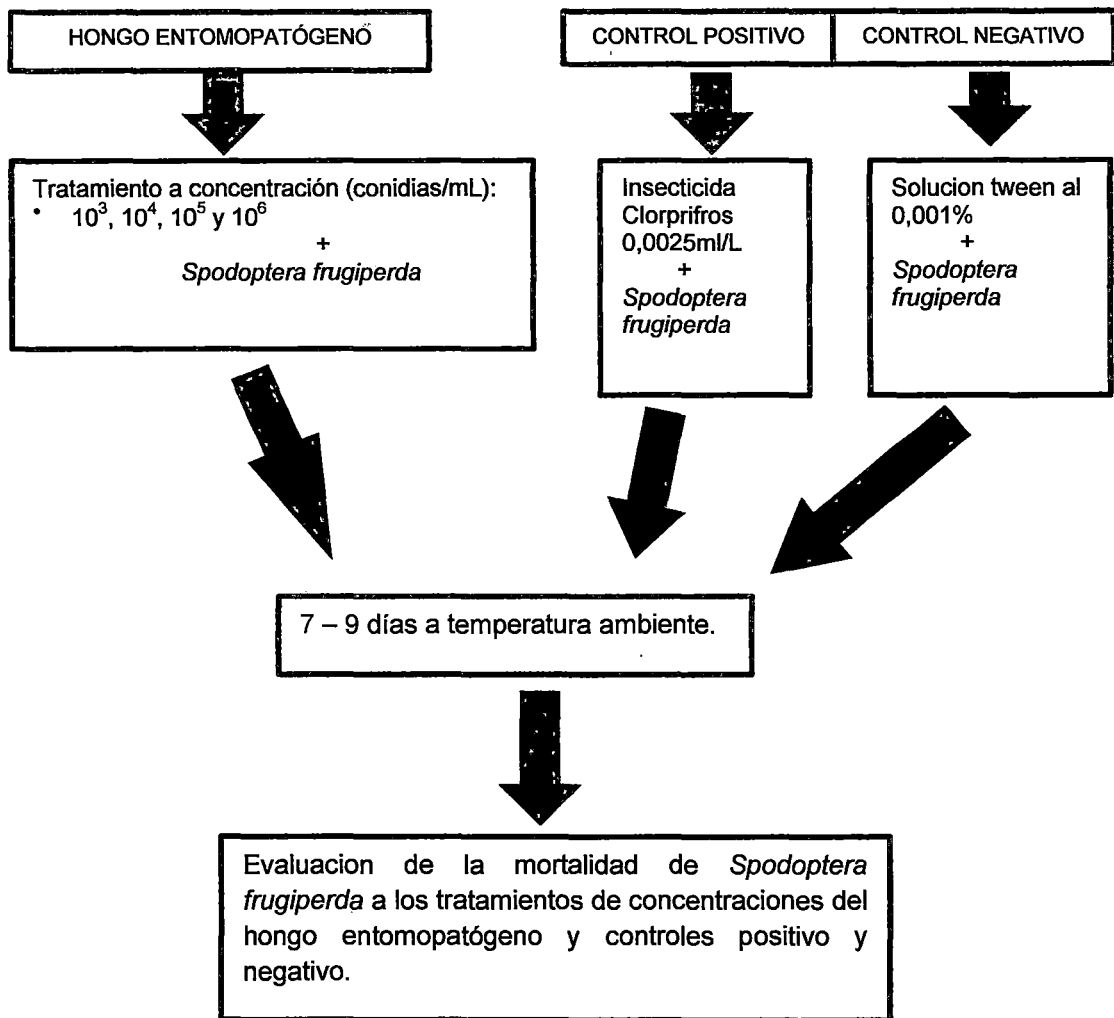


Fig. 3 Diagrama de flujo del efecto *in vitro* del hongo entomopatógono sobre *Spodoptera frugiperda*

Tabla 5 Temperatura y humedad relativa aproximada durante la colecta de muestras de suelos, San José de los Molinos, enero del 2013.

FECHA	T° MAX	T° MIN	Humedad relativa
15/01/2013	30,4	20,2	75,50%
16/01/2013	28,4	19,2	78,30%

Fuente: SENAMHI, Estación Tacama, Salas Guadalupe, Ica Altitud: 432 msnm; Enero del 2013

Tabla 6 Coordenadas geográficas y pH de los puntos de muestreo, San José de los Molinos, enero del 2013.

CODIGO	ESTE	NORTE	pH	Cultivo
HE-001	427417	8460036	6	
HE-002	427451	8460064	6	
HE-003	427420	8460088	6	
HE-004	427380	8460102	6	
HE-005	427324	8460116	6	
HE-006	427287	8460108	6	
HE-007	427490	8460126	7	
HE-008	427705	8459996	6	
HE-009	427695	8460106	6	
HE-010	427571	8460184	7	
HE-011	427592	8460284	6	
HE-012	427687	8460220	6	
HE-013	427738	8460278	6	
HE-014	427658	8460346	6	
HE-015	427900	8460186	6	MAIZ
HE-016	427782	8460266	6	
HE-017	428161	8461768	7	
HE-018	428294	8461746	6	
HE-019	428085	8461550	6	
HE-020	428179	8461326	6	
HE-021	427973	8461374	6	
HE-022	427746	8461280	8	
HE-023	427861	8461204	6	
HE-024	427622	8461123	6	
HE-025	427750	8461038	6	
HE-026	427520	8461042	8	
HE-027	427678	8460914	6	
HE-028	427902	8460804	6	
HE-029	428250	8460746	6	
HE-030	427765	8460488	6	

Tabla 7 Larvas de *Galleria melonella* infectadas mediante la técnica de “insecto-trampa” en suelos agrícolas del distrito de San José de los Molinos.

CODIGO	LARVAS MUERTAS	ESPORULACIÓN EN CÁMARA HÚMEDA	DÍAS
HE - 009	6	5	5
HE - 010	2	2	3
HE - 011	6	4	5
HE - 012	2	1	5
HE - 013	2	2	5
HE - 014	9	7	6
HE - 015	7	3	5
HE - 016	11	9	4
HE - 018	1	1	5
HE - 019	4	4	5
HE - 020	10	8	4
HE - 021	12	10	3
HE - 022	3	3	6
HE - 026	1	1	5
HE - 029	1	1	5
TOTAL	86	61	*

Tabla 8 Cepas de hongos aisladas en muestras de suelos agrícolas, San José de los Molinos, enero del 2013.

CODIGO	ESPECIE	CEPAS AISLADAS	LOCALIDAD
HE – 009	<i>Fusarium sp.</i>	3	
	<i>Alternaria sp.</i>	2	
HE – 010	<i>Penicillium sp.</i>	2	
HE – 011	<i>Fusarium sp.</i>	1	Huantina
	<i>Penicillium sp.</i>	2	
	<i>Alternaria sp.</i>	1	
HE – 012	<i>Penicillium sp.</i>	1	
HE – 013	<i>Alternaria sp.</i>	2	
HE – 014	<i>Cladosporium sp.</i>	2	
	<i>Alternaria sp.</i>	4	
	<i>Penicillium sp.</i>	1	
HE – 015	<i>Alternaria sp.</i>	3	
HE – 016	<i>Beauveria bassiana</i>	4	
	<i>Alternaria sp.</i>	5	
HE – 018	<i>Penicillium sp.</i>	1	El Palto
HE – 019	<i>Fusarium sp.</i>	1	
	<i>Penicillium sp.</i>	3	
HE - 020	<i>Fusarium sp.</i>	3	
	<i>Penicillium sp.</i>	4	
	<i>Alternaria sp.</i>	1	
HE – 029	<i>Alternaria sp.</i>	1	
HE – 021	<i>Fusarium sp.</i>	2	
	<i>Penicillium sp.</i>	1	
	<i>Alternaria sp.</i>	4	La Aurora
	<i>Cladosporium sp.</i>	3	
HE – 022	<i>Alternaria sp.</i>	3	
HE – 026	<i>Cladosporium sp.</i>	1	
TOTAL		61	

Tabla 9 Características macroscópicas y microscópicas del hongo entomopatógeno aislado en muestras de suelo agrícola, enero del 2013.

Características	Código de Muestra : HE-016	Especie:	<i>Beauveria bassiana</i>
MACROSCÓPICAS	Aspecto	Superficie elevada homogénea	
	Borde	indefinido	
	Pigmentación	Anverso: blanca (a los 15 días de la siembra), blanco cremosa(después de los 15 días de la siembra)	
		Reverso: Ligeramente rojiza en la base de las colonias, amarillenta en los bordes de las colonias	
	Forma	circular	
	Textura	aterciopelada	
MICROSCÓPICAS	Forma de las Hifas	alargadas y ramificadas alternadamente, nucleadas	
	Septos	presencia de septos	
	Tipo de Estructura Reproductiva	conidias esféricas acuminadas en un extremo	
	Forma y Disposición de las Estructuras Reproductivas	forma esférica, la disposición de las conidias es lateral, conidióforos ensanchados en la base, (Forma de botella),	
	Otros	hifas hialinas, conidias oscuras	

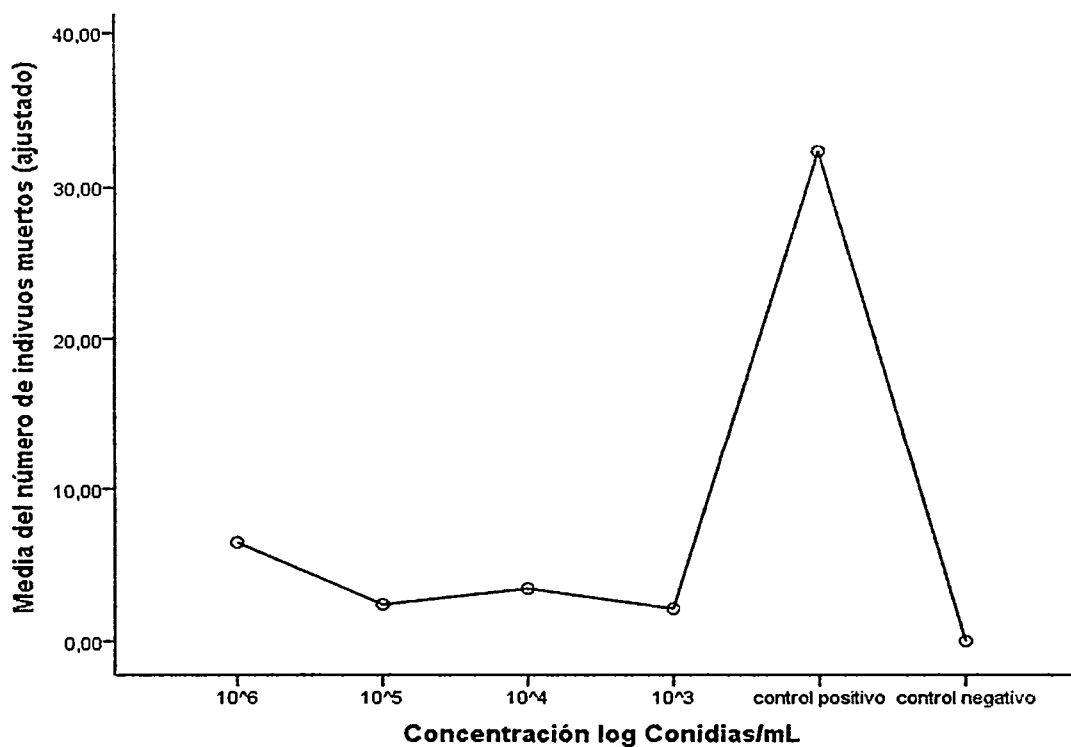


Fig. 4 Medias de mortalidades entre tratamientos de *Beauveria bassiana* y el control negativo.

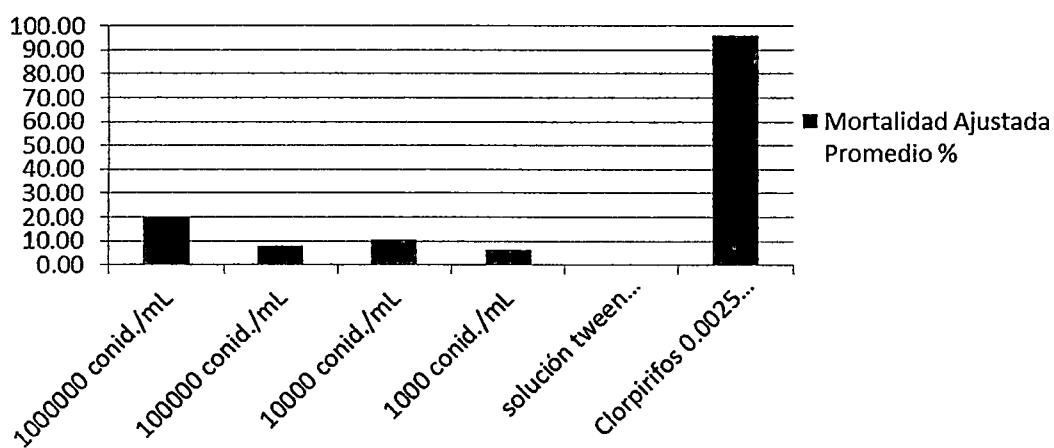


Fig. 5 Mortalidad acumulada promedio de los tratamientos (*Beauveria bassiana*) aplicados a larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Tabla 10 Test de homogeneidad de varianza de la mortalidad ajustada acumulada de los tratamientos de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda*.

Mortalidad Absoluta total acumulada			
ESTADÍSTICO DE LEVENE	GL1	GL2	SIG.
0,529	5	18	0,751

Homogeneidad de varianzas de los tratamientos:

$p = 0,751$

$p > 0,05$

No hay diferencia significativa

Tabla 11 Análisis de varianzas de la mortalidad ajustada acumulada de los tratamientos de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda*.

	SUMA DE CUADRADOS	GL	MEDIA CUADRÁTICA	F	SIG.
Inter-grupos	942,708	5	188,542	301,667	0,000
Intra-grupos	11,250	18	0,625		
Total	953,958	23			

ANOVA de la mortalidad absoluta de tratamientos

H₀: Las medias de la mortalidad de tratamientos son iguales

H₁: Las medias de la mortalidad de tratamientos no son iguales

p = 0,00000000000000011 p < 0,05 Si hay diferencia significativa

Tabla 12 Test de diferencia de medias entre los tratamientos y el grupo control negativo- mortalidad ajustada acumulada de los tratamientos de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda*.

(I) Concentración log	(J) Concentración log	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig. (p)	Intervalo de confianza al 95% límite inferior
10 ⁶	control negativo	3,750 [*]	0,559	,000	2,40
10 ⁵	control negativo	1,500 [*]	0,559	,029	0,15
10 ⁴	control negativo	2,000 [*]	0,559	,005	0,65
10 ³	control negativo	1,250	0,559	,069	-0,10
control positivo	control negativo	18,250 [*]	0,559	,000	16,90

H₀: Las medias de la mortalidad del grupo control negativo y el tratamiento son iguales

H₁: Las medias de la mortalidad del grupo control negativo y el tratamiento no son iguales

Para concentración 10⁶:

p = 0,00006 p < 0,05 Si hay diferencia significativa

Para concentración 10⁵:

p = 0,029 p < 0,05 Si hay diferencia significativa

Para concentración 10⁴:

p = 0,005 p < 0,05 Si hay diferencia significativa

Para concentración 10³:

p = 0,069 p > 0,05 No hay diferencia significativa

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

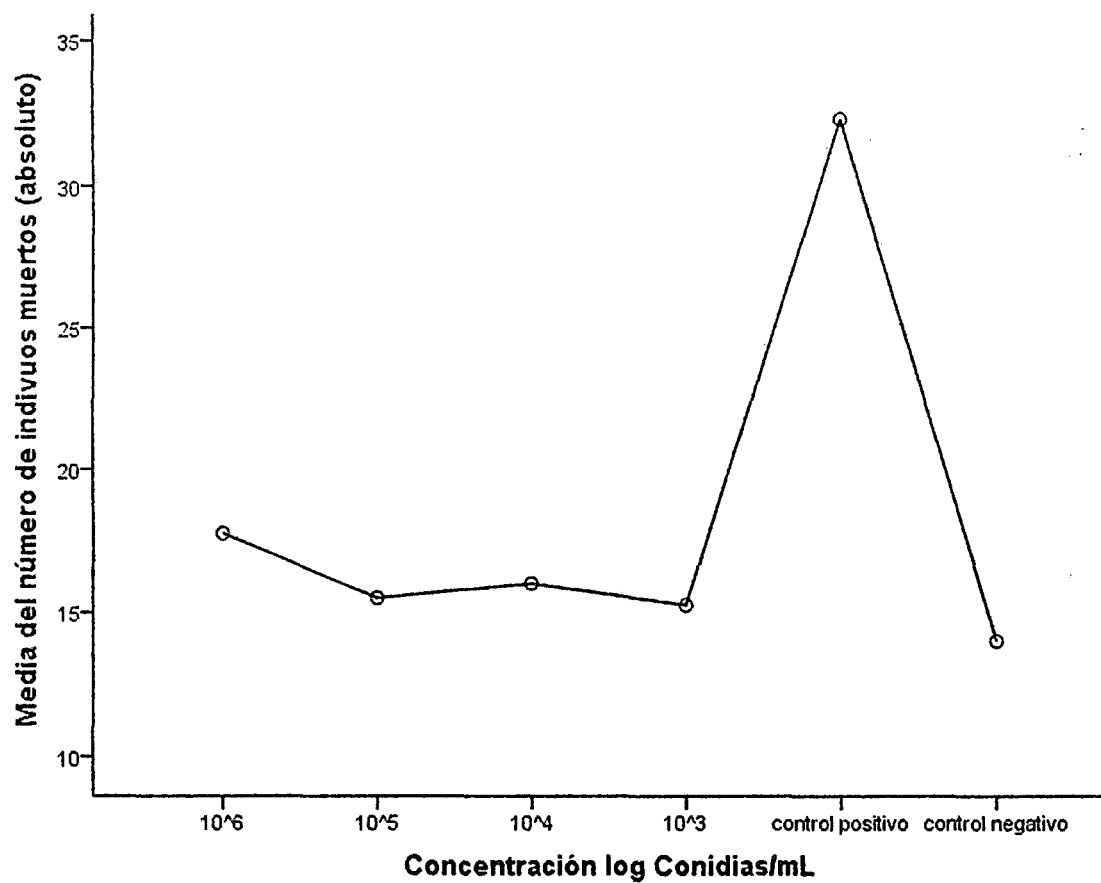


Fig. 6 Medias de mortalidades entre tratamientos de *Beauveria bassiana* y el control negativo.

Tabla 13 Test de homogeneidad de varianzas de la mortalidad absoluta acumulada de los tratamientos de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda*.

ESTADÍSTICO DE LEVENE	GL1	GL2	SIG.
1,781	5	18	0,168

Homogeneidad de varianzas de los tratamientos:

$p = 0,751$

$p > 0,05$

No hay diferencia significativa

Tabla 14 Análisis de varianzas - mortalidad absoluta acumulada de los tratamientos de *Beauveria bassiana* frente a *Spodoptera frugiperda*.

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.(p)
Inter-grupos	2962,216	5	592,443	341,128	,000
Intra-grupos	31,261	18	1,737		
Total	2993,477	23			

ANOVA de la mortalidad ajustada de tratamientos:

H₀: Las medias de la mortalidad de tratamientos son iguales

H₁: Las medias de la mortalidad de tratamientos no son iguales

p = 0,000000000000000036

p < 0,05

Si hay diferencia significativa

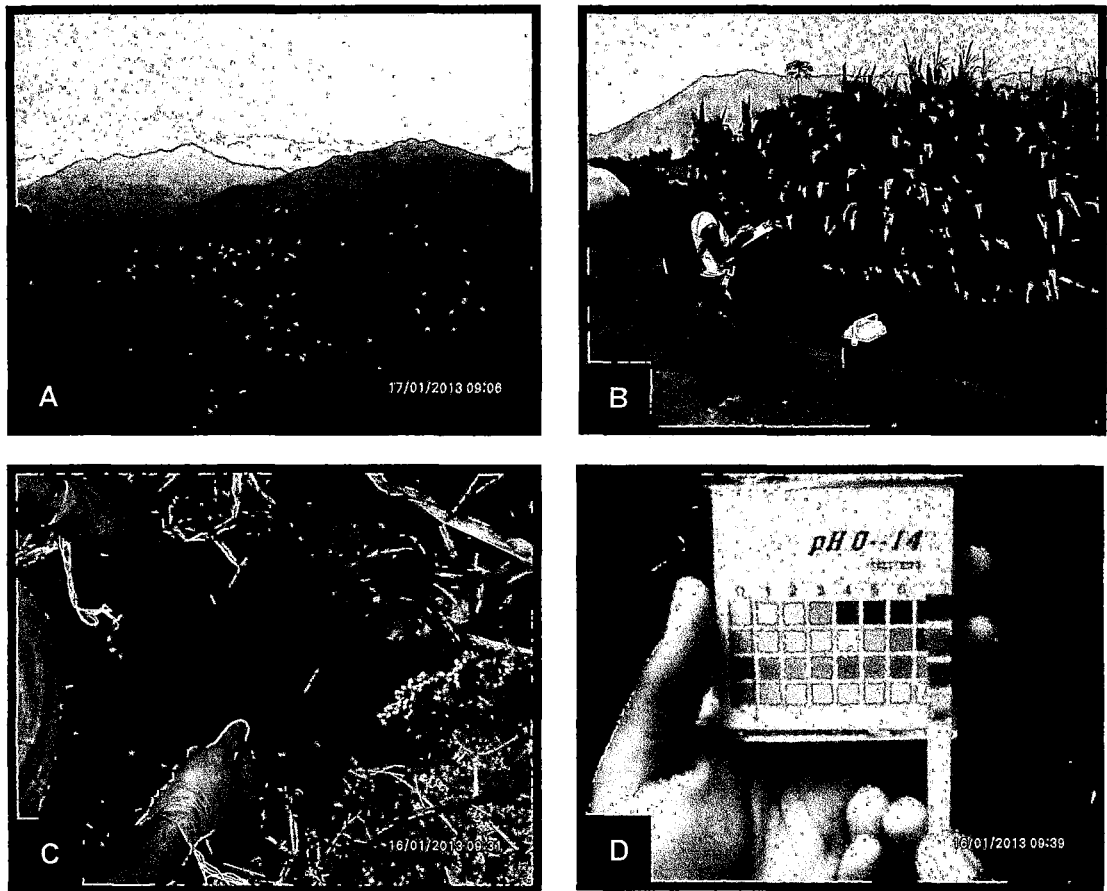


Fig. 7 Recolección de Muestras

A.- Campos de Cultivo de Maíz - San José de los Molinos, Ica; **B.-** Ubicación de los puntos de muestreo; **C.-** Colecta de las muestras de suelo; **D.-** Determinación del pH en los puntos de muestreo.

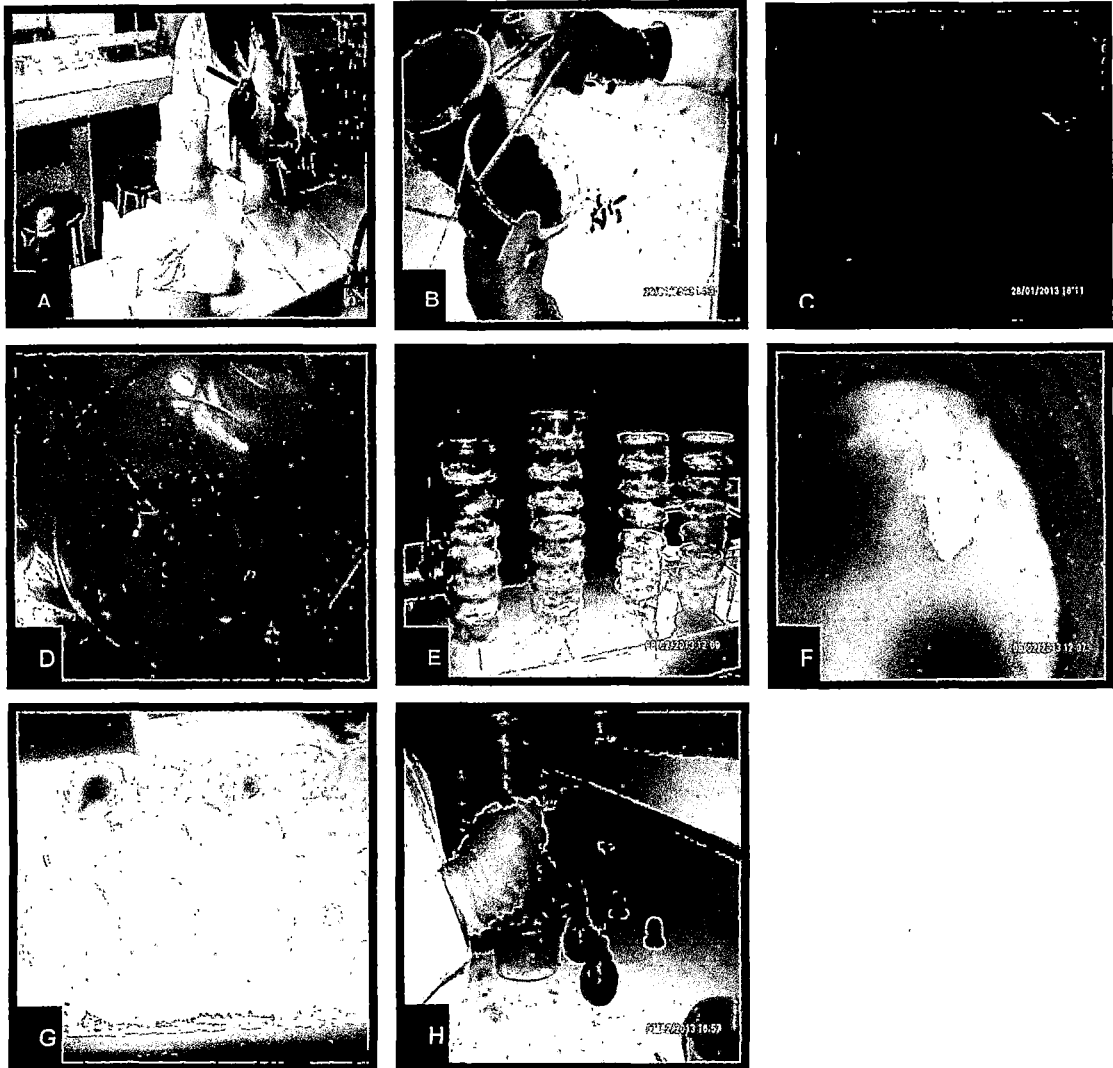


Fig. 8 Aislamiento e identificación de hongos

A.- Preparación de las unidades de infección “Cebo – Trampa”; **B y C.-** Unidades de infección, larvas de *Galleria mellonella* en las muestras de suelo colectadas; **D.-** Selección de larvas de *Galleria mellonella* infectadas. **E.-** Acondicionamiento de larvas de *Galleria mellonella* infectadas en cámaras húmedas; **F.-** Crecimiento micelial sobre larvas de *Galleria mellonella* acondicionadas en cámaras húmedas; **G.-** Hongos replicados en medio PDA; **H.-** Preparación de los microcultivos para la identificación de hongos replicados.

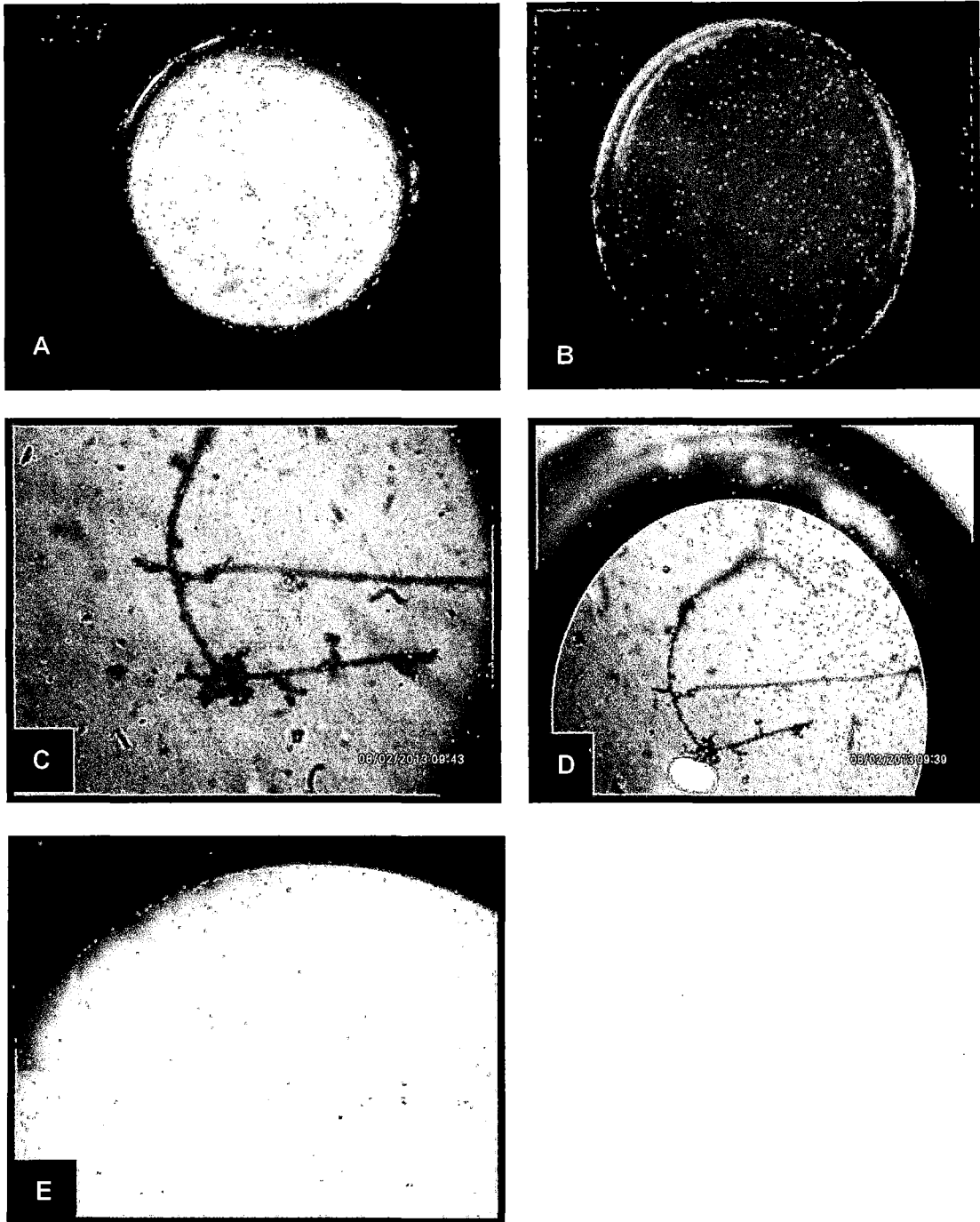


Fig. 9 *Beauveria bassiana*

A y B.- Observación macroscópica de *Beauveria bassiana* sobre medio PDA (anverso y reverso, respectivamente); **C y D.-** *Beauveria bassiana*, al microscopio óptico, 1000X; **E.-** Recuento de conidias de *Beauveria bassiana*, 400X.