

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**ESTUDIO DE LA FAUNA DE ENTOMOPATÓGENOS DE  
LEPIDOPTEROS EN EL CULTIVO DE QUINUA, EN LA REGIÓN  
DE PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Br. FRANKS DARWIN MAMANI CARITA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**ESTUDIO DE LA FAUNA DE ENTOMOPATÓGENOS DE LEPIDOPTEROS  
EN EL CULTIVO DE QUINUA, EN LA REGIÓN DE PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Br. FRANKS DARWIN MAMANI CARITA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

Aprobado por el jurado revisor:

**PRESIDENTE:**

Dr. ALVARO GABINO SARMIENTO MENA

**PRIMER MIEMBRO:**

Mg. MARTHA ELIZABETH APARICIO SAAVEDRA

**SEGUNDO MIEMBRO:**

Ing. M.Sc. EDWIN FEDERICO ORNA RIVAS

**DIRECTOR DE TESIS:**

M.Sc. ALFREDO LUDWIG LOZA DEL CARPIO

**ASESOR DE TESIS:**

M.Sc. PEDRO DELGADO MAMANI

**Área:** Ciencias Biomédicas  
**Sub Línea:** Conservación y aprovechamiento de recursos naturales  
**Temas:** Recursos naturales y manejo ecológico de plagas: Entomología

## DEDICATORIA

*“Dios por darme la oportunidad de vivir, por iluminar mi camino, por ser mi guía y darme la fuerza de voluntad para culminar mis estudios.”*

*A mis queridos padres: Balvino y Emiliana por el amor, comprensión, confianza, apoyo sacrificio y tolerancia que me demostraron en todo momento.*

*A mi hermano Wilson por darme ese apoyo de hermano y amigo en cada circunstancia y adversidad de la vida, donde aprendimos que la familia no es la que vive juntos, sino la que está unida.*

*Y a mi compañera de vida Janneth por darme el apoyo en todo momento, cuidarme, enseñarme y darme su amor sincero e incondicional, siendo la testigo de esta gran aventura.*

*Y a mi hijo Fabian Santiago, quien fue mi fortaleza e inspiración para acabar lo más rápido posible.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional de Altiplano por acogerme durante toda mi carrera universitaria.*

*Mi enorme gratitud a todos los Docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a los docentes de la especialidad de Ecología, quienes me brindaron sus enseñanzas.*

*A mi Director de Tesis M.Sc. Alfredo Loza del Carpio, por su acompañamiento durante la ejecución de esta investigación.*

*A mi Asesor de Tesis Dr. Pedro Delgado Mamani, por brindarme su apoyo confianza de ejecutar la tesis.*

*A mis miembros de jurado Dr. Álvaro Sarmiento, Mg. Martha Elizabeth y M. Sc. Edwin Orna, por sus aportes en la mejora de este trabajo de investigación.*

*A mis amigos Jhon, Ing. Julio; Señor Luchito y a Edu por su apoyo en las labores de campo que fueron gratos momentos en las que se compartió.*

*“Solo somos una raza de primates en un planeta menor de una estrella ordinaria, pero podemos entender al universo”*

*-Stephen Hawking-*

## INDICE GENERAL

RESUMEN.....	10
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>12</b>
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos .....	12
<b>II. REVISION LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1. Antecedentes.....	13
2.1.1. Estudio sobre identificación de los entomopatógenos .....	13
2.1.2. Estudios sobre prospección de entomopatógenos.....	13
2.1.3. Estudios sobre los niveles de patogenicidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros cultivo de quinua .....	14
2.2. Marco teórico .....	15
2.2.1. Insectos plaga de la quinua .....	15
2.2.2. Lepidópteros asociados al cultivo de la quinua .....	15
2.2.3. Polilla de la quinua.....	15
2.2.4. <i>Copitarsia turbata</i> Herrich-Schaeffer, 1855 (Lepidoptera: Noctuidae).....	18
2.2.5. Control Biológico .....	20
2.2.6. Entomopatógenos.....	21
2.3. Marco conceptual .....	30
<b>III. METODOS .....</b>	<b>31</b>
3.1. Área de Estudio .....	31
3.2. Ubicación del estudio de campo .....	31
3.3. Tipo de estudio .....	33
3.4. Población y muestra.....	33
3.5. Metodología.....	33
3.5.1. Identificación taxonómica de entomopatógenos en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua.....	33
3.5.1.2. Procedimiento para identificar Virus en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua .....	35
3.5.2. Prospección de entomopatógenos en cultivo de quinua .....	38
a. Factor de estudio .....	38
b. Unidad de Observación.....	39
c. Diseño de muestreo o experimento .....	39
d. Variables en estudio .....	40
e. Métodos Estadísticos (Análisis de datos).....	40
3.5.3. Procedimientos para determinación de la incidencia de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros en cultivos de quinua en la región de Puno. ....	41

<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	44
4.1.	Identificación de los entomopatógenos de larvas de lepidópteros en cultivo de quinua.....	44
4.2.	Prospección de la presencia de entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua. ....	49
4.3.	Determinar la incidencia de la patógenicidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua en la región de Puno. ....	60
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	72
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	73
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	74
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	80

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Zonas Agroecológicas. Fuente Tapia, 1988. ....	27
<b>Tabla 2.</b> Ubicación de localidades muestreados en campañas de quinua 2015-2016 y 2016-2017. ....	31
<b>Tabla 3.</b> Numero de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y <i>B. thuringiensis</i> . en la región de Puno 2016. ....	50
<b>Tabla 4.</b> Prueba de medias de Tukey al 0.05 de probabilidad para localidades, en la región de Puno 2016. ....	52
<b>Tabla 5.</b> Análisis de varianza del total de entomopatógenos recolectados en las localidades de la región de Puno, 2016. ....	53
<b>Tabla 6.</b> Prueba de Tukey para el porcentaje del total de entomopatógenos. ....	53
<b>Tabla 7.</b> Número de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y <i>Bacillus thuringiensis</i> en la región de Puno 2017. ....	55
<b>Tabla 8.</b> Prueba de medias de Tukey al 0.05 de probabilidad para localidades, de la región de Puno en la región de Puno 2017. ....	57
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza del total de entomopatógenos recolectados en las localidades de la región de Puno. 2017. ....	58
<b>Tabla 10.</b> Total de entomopatógenos en Zona Circunlacustre y Zona Suni. ....	58
<b>Tabla 11.</b> Promedio general del porcentaje de mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> . Bajo diferentes dosis de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) en la región de Puno 2017. ....	60
<b>Tabla 12.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 3er día en la región de Puno 2017. ....	62
<b>Tabla 13.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN. Al 4to día en la región de Puno 2017. ....	63
<b>Tabla 14.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 5to día en la región de Puno 2017. ....	65
<b>Tabla 15.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 6to día en la región de Puno 2017. ....	66
<b>Tabla 16.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 7mo día en la región de Puno 2017. ....	67
<b>Tabla 17.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 8vo día en la región de Puno 2017. ....	68
<b>Tabla 18.</b> Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN al 9no día en la región de Puno 2017. ....	69
<b>Tabla 19.</b> Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> del instar III, bajo diferentes dosis de VPN. en la región de Puno 2017. ....	70
<b>Tabla 20.</b> Anva de mortalidad larval de <i>Eurisaca q.</i> producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 3er día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	80
<b>Tabla 21.</b> Anva de mortalidad larval de <i>Eurisaca q.</i> producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 4to día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	80
<b>Tabla 22.</b> Anva de mortalidad larval de <i>Eurisaca q.</i> producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 5to día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	80
<b>Tabla 23.</b> Anva de mortalidad larval de <i>Eurisaca q.</i> producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 6to día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	81
<b>Tabla 24.</b> Anva de mortalidad larval de <i>E. quinoa</i> . Producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 7mo día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	81
<b>Tabla 25.</b> Anva de mortalidad larval de <i>E. quinoa</i> producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 8vo día de tratamiento en la región de Puno 2017. ....	81

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>E. quinoa</i> , fuente Barrantes (2016). .....	15
<b>Figura 2.</b> Larva de <i>E. quinoa</i> .....	16
<b>Figura 3.</b> Arriba Ala anterior de <i>E. quinoa</i> . Abajo Ala anterior <i>E. melanocampta</i> , (Barrantes, 2016)...	17
<b>Figura 4.</b> Adulto <i>C. turbata</i> .....	19
<b>Figura 5.</b> Larvas y pupa de Noctuides.....	20
<b>Figura 6.</b> Mapa de zonas Agroecológicas de la región de Puno. Fuente Tapia, 1987. ....	29
<b>Figura 7.</b> Mapa de la región de Puno zonas muestreadas 2015-2016 y 2016-2017.....	32
<b>Figura 8.</b> Izquierda Laboratorio de entomopatógenos SENASA- Lima, derecha Sala de Liofilización Lima-2017.....	35
<b>Figura 9.</b> Larvas entomopatógenos, B) triturado de larvas en un mortero, c) Extracción del sobrenadante de las larvas entomopatógenos. Lima- 2017.....	36
<b>Figura 10.</b> Purificación del virus (A) larvas infectadas en tubos Eppendorf con agua destilada antes de la centrifugación, (B) aspecto después de la centrifugación, (la flecha indica la localización de la banda donde se encuentra la mayor concentración de virus. ....	37
<b>Figura 11.</b> Realizando la identificación de Virus. SENASA-Lima.....	37
<b>Figura 12.</b> Recolección de larvas en forma de "W".....	38
<b>Figura 13.</b> Prospección de larvas de entomopatógenos en cultivos de quinua.....	38
<b>Figura 14.</b> Recolección de larvas en bandejas de plástico, de polilla de la quinua ( <i>E. quinoa</i> ). ....	39
<b>Figura 15.</b> Recolección de larvas de <i>C. turbata</i> .....	40
<b>Figura 16.</b> Selección de larvas de III instar en la cámara de Flujo laminar .....	41
<b>Figura 17.</b> Tapers con arena y panoja de quinua para los tratamientos con VPN .....	41
<b>Figura 18.</b> Larvas de <i>E. quinoa</i> para los tratamientos con virus de la poliedrosis nuclear.....	42
<b>Figura 19.</b> Realizando respectivas observaciones en los tapers .....	42
<b>Figura 20.</b> Rompimiento de tegumento en larva de <i>C. turbata</i> .....	44
<b>Figura 21.</b> A) Cuerpos de inclusión de los aislamientos nativos de VPN de <i>S. frugiperda</i> detectados en la hemolinfa de larvas infectadas. B) VPN detectado en <i>C. turbata</i> en la región de Puno 2016. ....	45
<b>Figura 22.</b> Larvas de <i>E. quinoa</i> con virus de la granulosis (VG) recolectados en la región de Puno 2017. ....	46
<b>Figura 23.</b> Larvas hinchadas de <i>E. quinoa</i> a causa del virus de la granulosis (VG) en la región de Puno 2017.....	47
<b>Figura 24.</b> Muestra de bacteria del genero <i>B. thuringiensis</i> en la región de Puno 2017. ....	48
<b>Figura 25.</b> Larva de <i>E. quinoa</i> con manchas de <i>B. thuringiensis</i> en la región de Puno 2016.....	48
<b>Figura 26.</b> Numero de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y <i>B. thuringiensis</i> en la región de Puno 2016. ....	51
<b>Figura 27.</b> Número de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y <i>B. thuringiensis</i> .....	56
<b>Figura 28.</b> Total de entomopatógenos.....	59
<b>Figura 29.</b> Total de larvas colectadas en campañas agrícolas 2015-2016 y 2016-2017 en la Region de Puno .....	59
<b>Figura 30.</b> Tiempo después de la aplicación de las diferentes dosis de VPN en la región de Puno 2017. ....	60
<b>Figura 31.</b> Mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> bajo diferentes dosis de VPN en la región de Puno 2017. ....	61
<b>Figura 32.</b> Mortalidad de larvas de <i>E. quinoa</i> al 3er día en la región de Puno 2017. ....	62
<b>Figura 33.</b> Promedio de Mortalidad al 4to día en la región de Puno 2017. ....	64
<b>Figura 34.</b> Promedio de Mortalidad al 5to día en la región de Puno 2017. ....	65
<b>Figura 35.</b> Promedio de Mortalidad al 6to día en la región de Puno 2017. ....	66
<b>Figura 36.</b> Promedio de Mortalidad al 7mo día en la región de Puno 2017. ....	67
<b>Figura 37.</b> Promedio de mortalidad al 8vo día en la región de Puno 2017.....	68
<b>Figura 38.</b> Promedio de mortalidad al 9no día en la región de Puno 2017.....	69
<b>Figura 39.</b> Cultivo de Quinua Salcedo – Puno 2017.....	82
<b>Figura 40.</b> Larvas de <i>C. turbata</i> colectas en campos de cultivos de Quinua campaña 2016.....	82
<b>Figura 41.</b> larvas con entomopatógenos en la campaña 2016.....	83



<b>Figura 42.</b> Rotulado de muestras de entomopatógenos colectados en campaña 2016-2017.....	83
<b>Figura 43.</b> Pupa de <i>C.turbata</i> colectada en la región de Puno 2017. ....	84
<b>Figura 44.</b> Polilla de la quinua <i>E. quinoa</i> .....	84
<b>Figura 45.</b> <i>Bacillus thuringiensis</i> encontradas en larvas de <i>E. quinoa</i> .....	85
<b>Figura 46.</b> Larvas de lepidópteros muertas con entomopatógenos .....	85
<b>Figura 47.</b> Mapa de Puno, distribución de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN). Elaboración propia.	86
<b>Figura 48.</b> Mapa de Puno, distribución de Virus de la Granulosis (VG).Elaboración propia .....	87

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó proponiendo nuevas alternativas para el control de plagas agrícolas, se desarrolló durante las campañas 2015-2016 y 2016-2017 y las de provincias de Yunguyo, Chucuito, El Collao, Moho y Puno pertenecientes a la zona Circunlacustre, y las provincias de San Román, Lampa, Huancané, San Antonio de Putina, Lampa, Melgar y Azángaro pertenecen a la zona Suni. Los objetivos fueron: a) Identificar taxonómicamente los entomopatógenos en larvas de lepidópteros en cultivo de quinua. b) Prospeccionar la presencia de entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua y c) Determinar la incidencia de patogenicidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros cultivo de quinua. El estudio se realizó en dos fases, en la **primera fase**; se realizó la prospección de larvas de *E. quinoa*, en campos de cultivos de quinua de las diferentes localidades. Se recolectó las larvas de diferentes instares, y se empleó el método de golpeteo y sacudida en la planta, utilizando bandejas de plástico para amortiguar su caída, seguidamente fueron depositadas en tapers que estaban debidamente rotuladas con fecha, lugar y nombre del recolector; **la segunda fase** realizó en el laboratorio de la Est. Exp. Agr. Illpa, Puno del INIA, se identificó Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG) y una bacteria del género *Bacillus thuringiensis*, como entomopatógenos de larvas de lepidópteros plaga del cultivo de quinua del altiplano Peruano. Se evaluó 31 parcelas de quinua ubicadas en 31 localidades, ubicadas en 11 provincias; Melgar, Azángaro, San Antonio de Putina, Huancané, Moho, Puno, San Román, Chucuito y Yunguyo se colectó (VPN), en San Antonio de Putina, Moho, Puno, San Román, Chucuito y Yunguyo se colectó (VG); Azángaro, Moho, Puno, San Román, Chucuito y Yunguyo se colectó *Bacillus thuringiensis*, en Lampa y El Collao no se registraron entomopatógenos, las colectas se distribuye en dos zonas agroecológicas Circunlacustre y zona Suni. En la prueba de patogenicidad el mejor tratamiento en producir la mortalidad de larvas de *E. quinoa* produciendo el 100% al 7<sup>mo</sup> día fue la dosis de 8mg/100ml., en comparación con las otras dosis de 2mg/100ml, 4mg/100ml, y 6mg/100ml. La velocidad de acción del virus depende de la dosis ingerida y más importante aún, el estadio larval, siendo las larvas pequeñas afectadas mucho más rápido que las de mayor tamaño.

**PALABRAS CLAVE:** Cuerpo de oclusión, Entomopatógenos, Patogenicidad Prospección, Virulencia.

## ABSTRACT

The present research work was carried out proposing new alternatives for the control of agricultural pests, it was developed during the campaigns 2015-2016 and 2016-2017 and those of the provinces of Yunguyo, Chucuito, El Collao, Moho and Puno belonging to the Circunlacustre zone, and the provinces of San Román, Lampa, Huancané, San Antonio de Putina, Lampa, Melgar and Azángaro belong to the Suni zone. The objectives were: a) To identify taxonomically the entomopathogens in larvae of lepidoptera in quinoa culture. b) Prospect the presence of entomopathogens in lepidopteran larvae of the quinoa crop and c) Determine the incidence of pathogenicity of entomopathogens in lepidopteran larvae quinoa cultivation. The study was carried out in two phases, in the first phase; The prospection of *E. quinoae* larvae was carried out in fields of quinoa crops of the different localities. The larvae of different instars were collected, and the method of knocking and shaking was used in the plant, using plastic trays to cushion their fall, then they were deposited in tapers that were properly labeled with date, place and name of the collector; the second phase was carried out in the laboratory of the Est. Exp. Agr. Illpa, Puno of INIA, was identified Nuclear Polyhedrosis Virus (VPN), Granulosis Virus (VG) and a bacterium of the genus *Bacillus thuringiensis*, as entomopathogens of lepidopteran larvae plague of the Peruvian highland quinoa crop. 31 quinoa plots located in 31 localities, located in 11 provinces, were evaluated; Melgar, Azángaro, San Antonio de Putina, Huancané, Moho, Puno, San Román, Chucuito and Yunguyo were collected (VPN), in San Antonio de Putina, Moho, Puno, San Román, Chucuito and Yunguyo were collected (VG); Azángaro, Moho, Puno, San Román, Chucuito and Yunguyo were collected *Bacillus thuringiensis*, in Lampa and El Collao were not registered entomopathogens, the collections are distributed in two agroecological zones Circunlacustre and Suni zone. In the pathogenicity test, the best treatment to produce the mortality of *E. quinoae* larvae producing 100% to 7% was the dose of 8mg / 100ml, compared with the other doses of 2mg / 100ml, 4mg / 100ml, and 6mg / 100ml. The speed of action of the virus depends on the dose ingested and, more importantly, the larval stage, with the small larvae affected much faster than the larger larvae.

**KEYWORDS:** Occlusion body, Entomopathogens, Pathogenicity Prospecting, Virulence.

## I. INTRODUCCION

La quinua es un cultivo nativo de la región andina, la mayoría de los investigadores coinciden en indicar que la quinua es originaria del altiplano peruano – boliviano (Granadillas, 1979). En los centros de origen de la mayoría de las plantas cultivadas, generalmente existe una gran diversidad de seres vivos endémicos. Los insectos dañinos de la quinua, conjuntamente con sus controladores naturales o biocontrolador, probablemente hayan evolucionado en el cultivo (Vavilov, 1951).

En el Perú, Puno es el primer productor de quinua, en esta región, y específicamente en el altiplano peruano, se cultivan 32,261 ha que corresponde al 52% del total de la superficie cultivada en el país (MINAGRI, 2014). Sin embargo los rendimientos son los más bajos (1.1t/ha), comparando con el promedio nacional (1.5t/ha). Una de las razones, entre otras, este cultivo es atacado por varias especies de insectos; siendo las más importantes las larvas de lepidópteros, entre ellos de las familias Noctuidae y Gelechiidae, que ocasionan pérdidas del orden de 40% de la producción (Apaza y Delgado, 2005; Rasmussen *et al.*, (2003). En esta zona se ha registrado la presencia natural de un número relativamente alta de larvas de lepidópteros infectadas por un agente entomopatógenos nativo, del que se tiene incipiente conocimiento (INIA, 2014), y por su recurrente y agresiva patogenicidad, como lo indica Alves (1986), pertenezcan al tipo de metodologías de multiplicación masiva poco complicadas.

Por tales razones se buscan alternativas de solución menos costosas y más amigables con el medio ambiente, una de las alternativas sería el uso de entomopatógenos, pues en muchas investigaciones han demostrado ser excelentes biocontrolador de muchos organismos plaga.

En consecuencia, con el presente trabajo se pretende generar información de entomopatógenos en lepidópteros, con el fin de incrementar información para desarrollar alternativas para su manejo integrado, y registrar datos para futuras investigaciones.

### **Objetivo General**

- Determinar la fauna de entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua.

### **Objetivos Específicos**

- Identificar taxonómicamente los entomopatógenos encontrados en larvas de lepidópteros en cultivo de quinua en la región de Puno.
- Prospeccionar la presencia de entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua en la región de Puno.
- Determinar la incidencia de la patogenicidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua en la región de Puno.

## II. REVISION LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Estudio sobre identificación de los entomopatógenos

El trabajo realizado por Calero (2007), menciona que se observa un cambio de color del integumento y el reblandecimiento del mismo, el cual se torna blanquecino, se rompe y se libera un fluido blanco, que presenta los cuerpos de inclusión, en mayor cantidad generalmente finalmente la larva muerta se sostiene de las propatas en una posición de V invertida lo cual favorece la dispersión del virus en el medio (Belda, 2009).

Por otro lado Alcázar *et al.*, (1992), informa que las larvas infectadas con virus muestran un cambio de color verde violáceo, propio de las larvas sanas, a blanco o crema de aspectos lechoso, y que el cambio de coloración se observa a partir del segundo estadio de este manera Borges *et al.*, (1999) menciona que los VPN tienen más de 100 viriones por cuerpo de inclusión y pueden llegar a 200 según el tipo de virus.

La infección viral en los insectos ocurre por vía oral, a través de la ingestión del alimento contaminado con cuerpos de inclusión virales (CI). La multiplicación del virus en los tejidos de los insectos se desintegran las larvas son blandas y demasiado sensibles (Borges 1981). Según Alves (1986), los insectos afectados por virus tienen la presencia de falta de apetito, cambios en la color y alargamiento del tiempo del estado larval. Por otro lado Agudelo *et al.*, (1983) menciona que el cuerpo de inclusión del Virus de la Poliedrosis Nuclear de *S. frugiperda* (VPNSf) mide 1,65  $\mu\text{m}$ .

#### 2.1.2. Estudios sobre prospección de entomopatógenos

En los estudios realizados por Miller y Friesen (1996), de prospección de entomopatógenos son pocos los estudios realizados en el Perú, lo cual me motiva a investigar a los entomopatógenos. En 1949 se comenzó a utilizar patógenos como plaguicidas biológicos. Desde entonces, los baculovirus se han considerado candidatos para el control, ya que en 1930 son los que regularon las plagas de insectos en Europa y Norte América. Por otro lado Rodríguez, D. (2000) su muestreo fue en zonas del Ecuador en las cuales se recolectaron larvas de *Tecia solanívora* que fueron encontradas muertas o con síntomas de enfermedad, cuyos reportes ayudan al éxito claramente las potencialidades de esta estrategia es el del granulovirus (GV) usado para controlar a la polilla de la papa *Phthorímaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Vásquez *et al.*, (2002) en sus estudios relecto *Spodoptera frugiperda* con síntomas de VPN en el distrito de Tarapoto, región San Martín, y fue identificado en el Centro Internacional de la Papa (CIP), en larvas de *S. frugiperda* infectadas con entomopatógenos..

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria de la Región San Martín (SENASASM) detectó, en 1997, en el distrito de Tarapoto, región de San Martín, la presencia de un microorganismo benéfico catalogado por Zeddám *et al.*, (1997), como un baculovirus (Virus de Poliedrosis Nuclear-SfVPN), el cual podría ser capaz de matar al “cogollero del maíz” *S. frugiperda*, sin ocasionar daño alguno a los insectos benéficos. No es tóxico para

el hombre ni contamina el medio ambiente La determinación ha sido hecha en base a los cuerpos de inclusión que presentan formas poliédricas características de este grupo de virus, los cuales son fácilmente observables en un microscopio compuesto

### **2.1.3. Estudios sobre los niveles de patógenidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros cultivo de quinua**

En estudios realizados por Iván y Alcázar (1995), menciona que la susceptibilidad de la polilla *P. operculella* al virus, que la concentración letal media (CL, 50) fue de 0,16 larvas por litro. El tiempo letal medio (TL, 50) va de 14,16 a 16,50 días. Las larvas enfermas tienen una coloración blanco cremoso de aspecto lechoso. Larvas enfermas y sanas tienen igual capacidad de movimiento y consumen área foliar semejante. Las larvas enfermas pueden prolongar su período larval. Las larvas enfermas consumen menor área foliar que las sanas. (Rizo y Narváez, 2001)

En el trabajo realizado por Dennehy *et al.*, (2006), en su estudio menciona que la muerte de las larvas se da en un período promedio de siete días después de la ingestión de VPN reduciendo su alimentación en un 93% a partir de la ingestión hasta la muerte de la larva. Por otro lado Alcázar y Raman (1992), en su estudio demostró que 20mg. De virus purificado o el equivalente larval de 20 larvas infectadas en un litro de agua es suficiente para ocasionar 100% de mortalidad larval, de la misma manera Alves (1989), en su estudio realizado manifiesta que las larvas después de la ingestión, los poliedros que contienen las partículas de virus (viriones), en condiciones alcalinas (pH>7.5) del tubo digestivo (mesenterio) son disueltos liberando los viriones. Los viriones en contacto con el micro vellosidades intestinales liberan capsides en las células epiteliales del intestino. En estas células, ellas se multiplican con la producción acentuada de cristales caracterizando el que es coronado por “infección primaria”. Posteriormente, las partículas de virus pueden alcanzar otros tejidos susceptibles del hospedero. En las células de esos tejidos ocurre la producción de cristales dentro de las células caracterizando a la “infección secundaria”, provocando el rompimiento de la pared celular.

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Insectos plaga de la quinua

Varios insectos atacan al cultivo de la quinua reportándose 57 especies de insectos fitófagos, de los cuales 24 pertenecen al orden Lepidóptera, 15 a Coleóptera, 4 a Homóptera, 10 a Hemíptera, 2 Thysanoptera, 1 Díptera y 1 Ortóptero (Saravia et al., 2014), insectos que están distribuidos de manera diferencial a lo largo del ciclo del cultivo (Valoy *et al.*, 2011).

### 2.2.2. Lepidópteros asociados al cultivo de la quinua

Saravia *et al.*, (2014), hace una actualización taxonómica de los lepidópteros asociados a la quinua donde mencionan que en el Altiplano son varias las especies de lepidópteros asociados al cultivo de quinua, de los cuales 5 fueron catalogadas como plagas claves: *E. melanocampta*, *E. quinoa*, *Copitarsia incommoda*, *Helicoverpa titicacae* y *Helicoverpa quinoa*.

### 2.2.3. Polilla de la quinua *E. quinoa*

#### 2.2.3.1. Taxonomía

Según Delgado (1989) y Rasmussen *et al.*, (2001), la polilla de la quinua presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Mandibulata
Clase	: Insecta
Subclase	: Pterigota
Orden	: Lepidóptera
Sub Orden	: Frenatae
Super Familia	: Gelechoidea
Familia	: Gelechiidae
Tribu	: Gnorimoschemini
Género	: Eurysacca
Especie	: <i>E. quinoa</i>
Nombre común:	“polilla de la quinua” (español), Kcona Kcona (Aymara)



Figura 1. *E. quinoa*, fuente Barrantes (2016).

En el Perú las especies más comunes son *E. quinoa* y *E. melanocampta* (Rasmussen *et al.*, 2001). Se encuentran distribuidos en todo el área Andina, y en Puno, tanto por su intensidad como por su continuidad, ocasiona pérdidas entre 20 a 40% de la producción (Apaza y Delgado, 2005). En esta zona la población de *E. quinoa* es de 98% y *E. melanocampta* en 2% (Mendoza y Delgado, 2004).

#### 2.2.3.2.Huevo

Huevos, epifitas y pequeñas, miden de 0.4 a 0.5 mm de longitud y 0,3 mm de ancho, de forma ovoide con superficie liza (Ochoa y Franco, 2013) tiene en principio una coloración blanco brillante semejándose a perlas, a punto de eclosionar los huevos son de color café claro debido a la formación de la cabeza del embrión (Avalos, 1996).

#### 2.2.3.3.Larvas

Las recién eclosionadas son diminutas de color blanco pálido o crema, con la capsula cefálica café y mide 0.8 a 1,2 mm de longitud (Saravia y Quispe, 2003), a medida que van creciendo la coloración varia de un amarillo opaco a una tonalidad verde oscuro, sobre todo en la región del pronoto, pero esto varía de acuerdo al alimento suministrado y las variedades que se les dé a comer (Avalos, 1996). Las larvas pasan por cinco estadios, las larvas de último estadio son de colores claros.



*Figura 2. Larva de E. quinoa*

#### 2.2.3.4.Pupa

La pupa mide en promedio una longitud de 6,5 a 8,1 mm y 1,9 mm de ancho (Avalos, 1996), de coloración marrón oscuro, aspecto subcilíndrico, comprimido dorso ventralmente en la parte cefálica e intersticial, ojos subcirculares, primer par de podotecas son pequeños que los palpos labiales. También las podotecas, ceratotecas y pterotecas llevan más de la mitad del quinto segmento abdominal en los machos y el sexto segmento abdominal en las hembras. En la parte terminal del caudal dilatado, cremaster indiferenciable, podrían estar completadas por numerosas cerdas alargadas (Ochoa y Franco, 2013).



### 2.2.3.5. Adulto

Los adultos son polillas pequeñas su tamaño varía entre 6 a 9 mm de longitud y 14 a 16 mm de expansión alar (Saravia y Quispe, 2005), es de color gris pardusco a amarillo pajizo y cuerpo cubierto con abundante escamas. Cabeza pequeña, pieza bucal tipo sifón



**Figura 3.** Arriba Ala anterior de *E. quinoa*. Abajo Ala anterior *E. melanocampa*, (Barrentos, 2016)

con palpos labiales bien desarrollados curvados hacia adelante y arriba, estos apéndices son bien desarrollados, presentan palpos maxilares sumamente pequeños los cuales también están recubiertos por escamas, antenas filiformes largas que sobrepasan la mitad de la longitud del cuerpo (Saravia *et al.*, 2014 ), las alas anteriores son alargadas con manchas negruzcas en la región banal, con una estrecha banda central más oscuro a lo largo, con dos manchas oscuras ovoides en el centro de la ala, nítidamente rodeada por escamas claras alas posteriores triangulares de color pajizo ( Povolný, 1997; Rasmussen *et al.*, 2001).

### 2.2.3.6. Comportamiento

La infestación de los adultos de polilla en los campos de quinua ocurre cuando la polilla emerge de la pupa y los adultos de polilla existentes de campo despiertan de la diapausa Quispe *et al.*, (2014). Los mismos autores, señalan que esta especie tiene una actividad nocturna y crepuscular, que la postura de huevos la realiza en los glomérulos tiernos y axilas de las inflorescencias de la quinua, los cuales son colocados en grupos de 2 hasta 12 huevos, los que permanecen unidos por una sustancia mucilaginosa. El número de huevos es de 200 huevos por hembra (Ochoa y Franco, 2013; Saravia y Quispe, 2005), Quispe *et al.*, (2014), quien determina que el número máximo de postura de cada hembra es de 300 huevos, por otro lado Mujica (2006), afirma que el promedio de huevos por postura es de 30 a 40.

Entre los 8 a 11 días de la oviposición, se produce la eclosión de las pequeñas larvitas, las que empiezan a alimentarse ya sea minando el parénquima de las hojas destruyendo el ovario de las flores o los órganos lechosos. La “kcona kcona” presenta cinco estadios larvales en su período de crecimiento y desarrollo. Las larvas I y II son minadoras, mientras que las larvas III, IV y V son masticadores, anidan en el limbo foliar, en los brotes, botones florales o dentro de los glomérulos de las inflorescencias formando un estuche sedoso blanquecino y pegajoso dentro del cual se alimentan. La duración promedio del período larval es de 36 días (Quispe, 1979).

Todos los estadios larvales tienen la capacidad de producir en finísimo hilo de seda de color blanquecino, siendo este material utilizado para trasladarse de los órganos apicales a las basales de la planta, así como para construir los escondrijos o estuches de cobijo. Las larvas de “Kcona Kcona” son muy activas, cuando se les molesta mueven la parte caudal del abdomen semejante a la cola del pescado. Al finalizar su desarrollo las larvas se dirigen al suelo donde buscan pequeñas grietas o si se trata de suelos arenosos se abren paso desapareciendo rápidamente, a una profundidad promedio de 3 mm, formando un cocón o cámara en cuyo interior empupan, pero pueden hacerlo también adherido a la parte inferior de los tallos, hojarascas, terrones o desperdicios, el período de prepupa y pupa dura un promedio de 3 y 25 días respectivamente. (Ochoa y Franco, 2013)

#### **2.2.3.7. Dinámica poblacional**

Las poblaciones de adultos y larvas de *Eurysacca* son muy variables, desde la preparación del suelo hasta la cosecha ocurren altas y bajas densidades de poblaciones. Sin embargo, anualmente se evidencia una tendencia marcada, tanto de las poblaciones de adultos como de larvas, las poblaciones de la primera generación (setiembre a diciembre) es inferior a la segunda generación (enero a marzo), aparentemente influenciados por los factores meteorológicos y edáficos (Ortiz *et al.*, 2004).

#### **2.2.4. *Copitarsia turbata* Herrich-Schaeffer, 1855 (Lepidoptera: Noctuidae)**

El grupo de Noctuidae incluye a un gran número de especies que son importantes por los daños que ocasionan a cultivos para el consumo humano. Son especies cosmopolitas y polífagas, en el cultivo de quinua, además de *C. turbata*, se puede encontrar a *Pseudaletia unipuncta* quechua Fr., *Feltia* spp. y *Pseudoleucania* spp.

Comúnmente a la larva se conoce como “ticuchi”, “panojero” o “gusano ejército”, relacionado a su hábito alimentario y comportamiento migratorio. Ataca también, a Chenopodaceas (*Chenopodium quinoa*; *C. pallidicaule*), Solanaceas (*Solanum curtilobum*, *S. tuberosum* y *S. juzepczukii*), Leguminosas (*Vicia faba* L. *Lupinus mutabilis* Sweet) y Amarantaceas (*Amarantus caudatus* L.). Al estado adulto se le conoce como “padresito” o “rafaelito”.

##### **2.2.4.1. Adulto**

Los adultos de *C. turbata* son mariposas nocturnas de color castaño claro a castaño grisáceo y cuerpo robusto tapizado de escamas. Cabeza relativamente pequeña, aparato bucal con palpos labiales pronunciados, ojos grandes y brillantes en la noche y dos ocelos presentes; antenas fusiformes y no sobrepasan la longitud del cuerpo; alas anteriores castaño claro a oscuro con ligero brillo dorado, mancha orbicular circular castaño claro

lleva un pequeño punto central bordeado ligeramente castaño oscuro y la mancha reniforme castaño oscuro con bordes castaño; alas posteriores ventralmente hialinas con



*Figura 4. Adulto C. turbata*

borde castaño claro a oscuro; mancha discal pequeña y venas oscuras. Abdomen castaño grisáceo. Expansión alar de 38 a 40 mm. (Calderón, 1991).

#### **2.2.4.2.Huevo**

Son epífitas o edáficas, pequeñas y de forma esférica algo aplanado con finas estrias longitudinales, miden de 0.5 a 0.6 mm de diámetro, color blanco a blanco perlado (Delgado 1989).

#### **2.2.4.3.Larva**

Son de tipo eruciformes de cuerpo alargado y grueso, color variable de verde claro a verde oscuro, café claro a oscuro, gris claro a oscuro, región pleural y esternal amarillento pálido a amarillo o marrón negruzco, tamaño de larvas en V estadio entre 30 a 40 mm de longitud (Ortiz et al, 2004).

#### **2.2.4.4.Pupa**

De tipo obtecta o momificada, miden de 20 a 25 mm de longitud, color bruno o marrón rojizo a marrón oscuro (Ortiz et al, 2004).

#### **2.2.4.5.Comportamiento**

Son de hábitos nocturnos, las hembras adultas depositan sus huevos en pequeños grupos o aisladamente sobre las hojas, principalmente en el envés, en los tallos y en el suelo. La capacidad de oviposición promedio es entre 450 a 500 huevos por hembra.

Las larvas eclosionadas son gregarias y sobreviven entre ellos por canibalismo. Los estadios IV, V y VI son migratorias y polífagas voraces. En quinua, son cortadoras de plantas tiernas, defoliadores y destructor de panojas.

La longevidad de imagos varía de 35 a 40 días, preoviposición y oviposición de 15 a 16 días respectivamente, incubación de 8 a 16 días, estado larval abarca de 45 a 50 días con seis estadios, período prepupa y pupa 40 días. El ciclo vital total es de 90 a 100 días con dos generaciones por ciclo estacional (Ortiz et al, 2004).



Figura 5. Larvas y pupa de Noctúideos

### Dinámica poblacional

Las poblaciones de adultos es constante cada año, y la erupción larval es variable en las diferentes campañas agrícolas, por ello, si la relación fluctuación de población y grado de infestación larval de *C. turbata* evidencia condición de plaga ocasional puede causar perjuicio económico al cultivo (Ortiz et al, 2004).

#### 2.2.5. Control Biológico

En la actualidad, el uso indiscriminado de moléculas químicas para el control de plagas ha provocado la contaminación y desequilibrio de los ecosistemas. Por otro lado, la resistencia generada a dichas moléculas por parte de estos organismos se ha incrementado considerablemente (Cardeño, 2001).

Rodriguez (2000), menciona que el control biológica “Es la acción de parásitos, depredadores y patógenos destinada a mantener la densidad poblacional de otro organismo a un nivel inferior al que se mantendrá en su ausencia”; a su vez acota que, “El control biológico depende de un funcionamiento efectivo del antagonista apropiado para cada ecosistema particular planta- patógeno”.

Por lo mencionado anteriormente el control biológico pretende ser una alternativa que busca generar niveles de control de plagas para mantener un umbral económico bajo, por lo que puede ser utilizado en un ecosistema de manejo integrado donde las moléculas químicas han perdido su capacidad de control debido a la resistencia obtenida por parte de los insectos plaga (Cardeño, 2001), Identifico enemigos naturales para *N. elegantallis*, entre los cuales se registraron bacterias como *Bacillus cereus*, *Paenibacillus polymyxa* y hongos entomopatógenos como: *Beauveria sp*, *Verticillum sp.*, y *Aspergillus sp*. A su vez menciona virus y parasitoides (Sosa, 2009),

### ➤ **Ventajas y Limitantes del Control Biológico.**

Una de las ventajas más sobresaliente del control biológico es que los organismos utilizados son amigables con el ambiente y no destruyen la vida silvestre, sim embargo al ser una alternativa donde los resultados se apreciaran a futuro, el interés de la mayoría de agricultores es mínimo debido a que para ellos la erradicación de los organismos perjudiciales para sus cultivos debe presentarse de manera inmediata (Nicholls, 2008).

### **2.2.6. Entomopatógenos**

#### **2.2.6.1. Hongos entomopatógenos**

De todos los posibles microorganismos utilizados para el control de plagas los hongos entomopatógenos son aquellos que poseen un mecanismo de invasión único que les permite atravesar de manera directa la cutícula del insecto, por lo que su efecto biocida es de contacto (Rogf, 2004).

##### **2.2.6.1.1. Ciclo**

- Las esporas germina sobre el tegumento, rara vez es ingerida de vía oral
- Las hifas colonizan todo el hemocele del insecto.
- En condiciones favorables se producen estructuras que salen del insecto y se produce la fructificación

##### **2.2.6.1.2. Condiciones**

Desarrollo muy dependiente de las condiciones ambientales (alta humedad, temperatura cálida) y con alta densidad del huésped.

Dentro de los hongos más utilizados a nivel mundial se encuentran *Metarhizium anisopliae* (33.9%), *Beauveria bassiana* (33.9%), *Isaria fumosorosea* (5.8%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%), (Telléz *et. al.*, 2009).

#### **2.2.6.2. Bacterias entomopatógenas**

De todos los posibles controladores microbiológicos las bacterias son las más exitosas en los programas de biocontrol. El género *Bacillus* es el más utilizado en dichos programas dentro de las especies más importantes se encuentran: *B. popilliae*, *B. thuringiensis* incluyendo las variedades *B. thuringiensis kurstaki*, *B. thuringiensis israelensis* y *B. thuringiensis tenebrionis* y *B. sphaericus* (Rogf, 2004).

Las bacterias, en especial las diferentes subespecies de *B. thuringiensis*, han sido patógenos de insectos más usados en programas de control de insectos ya que matan la plaga con facilidad en alrededor de 48 horas (Nicholls, 2008).

El conocimiento de enfermedades de tipo bacteriana es de larga data, siendo inicialmente observada en poblaciones de insectos benéficos. Luis Pasteur en 1870 realizo importantes ensayos en patología de insectos, describiendo enfermedades en el gusano de seda provocadas por estos microorganismos. Las bacterias entomopatógenas están presentadas por una gran cantidad de especies con capacidad propia para matar insectos,

así como también un alto número de especies que se comportan como patógenos oportunistas (Faulkner y Boucias,1985).

#### **2.2.6.2.1. Clasificación**

Estas bacterias entomopatógenas se clasifican en tres grupos: potenciales, facultativas y obligatorias. Siendo las potenciales, aquellas que luego de invadir al hospedante pueden multiplicarse en el homocelo produciendo septicemia letal. Son en general incapaces de desarrollarse en el aparato intestinal, teniendo poca capacidad invasiva. No presenta especificidad y crecen en bien en medios artificiales. Las bacterias patógenas facultativas pueden multiplicarse en el intestino de los hospedantes, producir toxinas y/o enzimas y luego invadir el homocelo. Son habitantes naturales de los suelos generalmente aeróbicas y crecen bien en medios artificiales (Bennintende *et al.*2003)

Las bacterias obligatorias se encuentran en la naturaleza solamente asociadas al hospedante. Son causantes de enfermedades específicas es muy limitado en insectos, muy exigentes en sus requerimientos para multiplicarse y en general no desarrollan bien en medios artificiales. La clasificación más utilizada en la patología de insectos, es la que agrupa las bacterias en dos categorías: las formadoras de esporas y las que no esporulan. Las especies esporulantes a su vez incluyen todas las potenciales y apenas una especie facultativa (Nicholls, 2008).

#### **2.2.6.2.2. Bacterias entomopatógenos no eporulantes.**

En general son comunes en el tracto digestivo de los insectos, pero raramente tienen capacidad invasiva intrínseca. Usualmente son capaces de multiplicarse en un amplio rango de sustratos, siendo frecuentemente aisladas a partir de suelo. A esta categoría pertenecen especies de las familias: pseudomonadaceae, streptococcaceae y enterobacteriaceae (Nicholls, 2008).

##### ➤ **Familia Pseudomonaceae**

Sus miembros se caracterizan por presentar forma de bastones curvos o rectos, móviles con flagelos polares y a veces laterales. Son aeróbicas, gran-negativas y productoras de pigmentos fluorescentes. Tienen un metabolismo respiratorio no fermentativo. No fijan nitrógeno y son generalmente catalasa y oxidasa positiva. Las especies más importantes asociadas a insectos, pertenecen al género *pseudomonas* (Bennintende *et al.*2003).

##### ➤ **Familia enterobacteriaciae**

Esta familia se caracteriza por presentar la forma de pequeños bastones, Gram negativos, móviles gracias a los flagelos peritricos. Son proteolíticos, catalasa positiva y oxidada negativa. Son anaerobias facultativas Fermentan la glucosa, maltosa, sucrosa, fructuosa, galactosa, manosa, trialosa manitol, adonitol, glicerol y otros azúcares, hidrolizan la caseína y descomponen la gelatina. Estas especies actúan de un modo particular ya que no invaden directamente el homocelo. Las bacterias ingeridas se adhieren a la superficie de células intestinales a través de las fimbrias, colonizando esta región. Después de 2 a 5 días las larvas infectadas cesan su alimentación y se observan de color ámbar, pudiendo permanecer en este estado por periodos de hasta tres meses, antes que produzcan la invasión del homocelo y la muerte del insecto (Nicholls, 2008).

➤ **Familia steptococcaceae**

Agrupar bacterias que cuando se cultivan en medios líquidos, aparecen de a pares o cadenas. Se caracterizan por tener células esféricas u ovaladas, menores de 2µm de diámetro. Son Gram positivas, inmóviles y anaeróbicas facultativas. Tienen reacción variable para la catalasa, generalmente negativas (Nicholls, 2008).

**2.2.6.2.3. Consideraciones de la categoría**

Los insectos son generalmente resistentes al ataque de bacterias entomopatógenas potenciales. Aunque estas bacterias tienen plena capacidad de matar los potenciales. Aunque estas bacterias tienen plena capacidad de matar los hospedantes una vez que han accedido al hemocele, carecen de habilidad para generar grandes poblaciones a nivel intestinal. Esta forma de transmisión es rara y solo se manifiesta bajo condiciones extremas de estrés. Por ello el potencial de estos microorganismos como agentes de control microbiano es limitado. En condiciones naturales estas bacterias pueden ser asistidas para acceder al hemocele, por la acción de otros insectos (enemigos naturales por ejemplo), que favorecen la ocurrencia de estas bacteriosis (Steimhaus, 1968).

**2.2.6.2.4. Bacterias entomopatógenas esporulantes**

Este grupo es el más estudiado incluyendo todas las bacterias patógenas obligatorias y la mayoría de las facultativas. Todas ellas pertenecen a la familia bacillaceae. Por su capacidad de formar esporas poseen una alta persistencia en el ambiente. Son altamente virulentas y tienen una gran capacidad invasiva y de producción de toxinas. Poseen una alta persistencia, siendo un pre requisito para que puedan ser producidas en escala comercial (Steimhaus, 1968).

➤ **Genero *Bacillus***

Las especies del género bacillus están representadas por células en forma de bastones, que pueden aparecer simple o en cadenas. Gram positivas, aeróbicas o anaeróbicas facultativas. Producen catalasa positiva. Las células de bacillus producen una endospora resistente a altas temperaturas, al completar su crecimiento. Pueden atacar substratos diferentes, debido a que las células producen un complejo enzimático. A pesar de la gran variación entre las diferentes especies del género, hacen a estos patógenos ocupar un lugar privilegiado entre los agentes altamente promisorios en el control de insectos perjudiciales (Alves, 1986).

**2.2.6.3. Virus entomopatógenos**

En la naturaleza, los virus de insectos tienen un rol importante como reguladores de poblaciones. La diversidad de virus entomopatógenos se ha vuelto más evidente a medida que ha incrementado el número de estudios que buscan virus aptos para ser controladores biológicos de plagas, se han registrados 23 familias y un género de virus invertebrados. De estas, algunas familias agrupan virus que infectan exclusivamente a artrópodos, y otras incluyen representantes que infectan a vertebrados, plantas y hongos. Una característica presente en algunas familias de virus entomopatógenos es la presencia de cuerpos de oclusión (OB) por sus siglas en inglés (Oclusión body) (Murphy *et al.*, 1995).

#### 2.2.6.4. Características

Para clasificar los virus se toman en cuenta principalmente dos factores: el tipo de ácido nucleico y la presencia o ausencia de cuerpos de inclusión (Castillo *et al.*, 1995).

Los virus se denominan después del binomio Latino del insecto del cual han sido aislados, por ejemplo, *Autographa californica* VPN y *Choristoneura fumiferana* VPN (Castaño y Zapata, 1994).

##### ➤ Familia Baculoviridae

La familia Baculoviridae, según Castaño y Zapata (1994), contiene solo un género, Baculovirus, dentro del cual se encuentran los Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) y los Granulovirus (GV), los que tienen un gran potencial como agentes de control biológico. Castillo *et al.* (1995) mencionan que esta familia es considerada como la más importante en el control de insectos ya que, ataca muchas de las plagas de importancia económica en varios cultivos. Las principales características de esta familia son:

- El genoma de estos virus está compuesto de una partícula de ADN.
- El ácido nucleico se encuentra envuelto por una capa proteica llamado cápsido.
- El cápsido y la molécula de ADN forman la unidad infectiva denominada virión.
- Los viriones envueltos en una matriz proteica forman el conjunto conocido como cuerpos poliédricos de inclusión.

##### ➤ Modo de acción del VPN

Los Baculovirus contaminan a los insectos por vía oral, los viriones son ingeridos con el alimento después de la ingestión, los poliedros del VPN que contienen los viriones se disuelven en condiciones alcalinas ( $\text{pH} > 7.5$ ) del intestino medio y se liberan los 6 Virus Poliedro-Derivados (VPD). Los VPD pasan a través de la membrana peritropica, una capa proteica-quitinica que es secretada por las células del intestino medio, que protege el epitelio del contacto directo con el material ingerido. Después de adherirse a las microvellosidades del epitelio del intestino medio, los nucleocapsides penetran el lumen de las células o por fusión de los viriones envueltos con la membrana epitelial, donde el virus normalmente realiza su primera vuelta de replicación. Los microcapsides son transportados, más comúnmente dentro de las envolturas de las estructuras microtubulares de las células, a los núcleos y llegan a liberarse en los poros nucleares o en los núcleos donde el ADN viral es liberado, la expresión y replicación es iniciada. Las siguientes etapas y las infecciones secundarias inician por el crecimiento de viriones en los tejidos hospederos. En las primeras etapas (8 horas post infección) de infección los núcleos desarrollan hipertropismo y un estroma virogenico es formado cuando la replicación del ADN y la liberación de los nucleocapsides suceden. La síntesis de las proteínas de las células hospederas es completada 24 horas post infección (OECD, 2002). Posteriormente, el virus afecta otros tejidos susceptibles del hospedero, donde continua reproduciéndose y multiplicándose. Otros tejidos atacados son principalmente cuerpo graso, epidermis del intestino, hemocitos, tráqueas y glándulas de seda (Cave, 1995).



➤ Síntomas de infección por VPN

El primer síntoma es un hinchamiento de los segmentos, seguido por una anorexia y el insecto cesa de alimentarse. Las larvas infestadas por VPN suben a las partes superiores de las hojas y se cuelgan de las propatas permaneciendo con la cabeza hacia abajo. El integumento se vuelve blando y de un color oscuro. Al momento de la muerte ocurre una licuefacción de los tejidos internos por lo que la larva queda con una textura blanda, lo que facilita la diseminación del virus al permitir un fácil rompimiento de las membranas y la liberación de los viriones (Castillo *et al.*, 1995).

➤ Diseminación del virus

Los cadáveres de las larvas muertas representan una fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes en un cultivo. Cuando las membranas corporales de la larva se rompen liberan una gran cantidad de poliedros (cuerpos de inclusión) al ambiente (Hostetter, 1985) tanto el agua de lluvia, como las larvas caídas al suelo, transportan las partículas virales hasta el suelo, donde permanecen y serán el inóculo inicial para futuras infecciones. La diseminación de estos virus puede darse por factores bióticos y abióticos ya sea verticalmente (de una generación a otra) u horizontalmente (de un hospedero susceptible a otro) (Van Driesche, 1996).

La transmisión vertical se da principalmente al momento de la ovoposición y por la contaminación de la superficie de los huevos y puede darse de tres formas que son: por la contaminación directa de la superficie de los huevos (transovum), la infección de huevos dentro del sistema reproductivo de la hembra (transovarial) y cuando el patógeno (virus) pasa a través de algunas fases o por todo el ciclo de vida del hospedante (transtadial). La transmisión horizontal se da principalmente por los adultos del hospedero y por otros organismos como depredadores y parasitoides; también puede haber diseminación por factores abióticos como la lluvia, el viento (en forma de polvo y aerosoles) y movimientos de cuerpos naturales de agua (Hostetter y Bell, 1985).

Los OBs de los baculovirus pueden sobrevivir fuera del huésped por periodos largos periodos de tiempo, especialmente cuando se encuentran protegidos de la degradación por radiación ultravioleta. La distribución espacial de los OBs varía en función del tipo de ecosistema, de las diferentes combinadas baculovirus-insectos y de las distintas plantas sobre las que se alimentan los insectos huéspedes-baculovirus se ha propuesto la existencia de ecosistemas permisivos y no permisivos (Fuxia, 2004).

Se ha comprobado que los cuerpos de inclusión juegan un rol muy importante en la protección ambiental de las partículas virales, preservando su infectividad. Esto está indirectamente sustentado por el hecho de que los hospedantes de los virus ocluidos son casi exclusivamente los estados larvales de insectos holometábolos. (Murphy *et al.*, 1995).

### **2.2.7. Region y Zonificación Agro Ecológica**

Tapia, (1988), teniendo en cuenta los estudios climáticos de Grace (op cit) y el ensayo de regionalización transversal del Perú de Pulgar Vidal 1946, quien emplea el conocimiento y la nomenclatura campesina de los pisos ecológicos y su correlación con la distribución de cultivos y ganadería, hace una propuesta de categorización jerárquica de la región Sierra peruana, o los –andes, en seis Subregiones y dentro de estas diferencia Zona Agro ecológicas (ZA) y, a una escala local, Zonas Homogéneas de Producción (ZHP). Para el caso específico de la Region Altiplano del Titicaca propone seis Zonas Agro ecológicas las mismas que son:

- Zona Agro ecológica Circunlacustre
- Zona Agro ecológica Suni Baja
- Zona Agro ecológica Suni Alta
- Zona Agro ecológica Puna Húmeda
- Zona Agro ecológica Puna Seca
- Zona Agro ecológica Cordillera

#### **2.2.7.1. Zona Agro ecológica Circunlacustre**

En la Zona Agro ecológica Circunlacustre, a pesar de la elevada altitud (3800m.s.n.m.), se practica una agricultura continua, Semi intensiva y esta densamente poblada. Los límites de la Zona Agro ecológica Circunlacustre varían de 1 a 6 Km. De distancia al lago, según existían cerros colinas y el efecto termorregulador del lago Titicaca permite un número suficiente de días sin heladas (150 – 180), con menor riesgo de pérdida de la cosecha con respecto a las otras Zona Agro ecológica. Se caracteriza por presentar, en promedio, una temperatura máxima de 19°C, una mínima de 5°C, y una mínima absoluta de 2°C bajo cero. La precipitación anual acumulada alcanza 700mm. (Tapia, 1988).

#### **2.2.7.2. Zona Agro ecológica Suni**

La presencia de pastizales de buena calidad hace que esta zona sea potencialmente productiva en ganadería extensiva, Asimismo, los suelos tienen aptitud para la producción de papa y quinua. El efecto termorregulador del Lago Titicaca es mínimo. Toda la zona agroecológica Suni está influenciada por la presencia de las subcuencas de los ríos Ayaviri, Azángaro, Pucará, que luego son depositarios del Río Ramis; y la subcuenca del río llave. La densidad poblacional es menor a la zona agroecológica Circunlacustre (Tapia, 1988).

*Tabla 1. Zonas Agroecológicas. Fuente Tapia, 1988.*

<b>Zona Agroecológica</b>	<b>Altitud m.s.n.m</b>	<b>Precipitación (mm)</b>	<b>Periodo Libre de Heladas</b>
<b>Circunlacustre</b>	3800 - 3900	700 – 737	150 – 180
<b>Suni</b>	3830 - 4500	600 - 850	90 – 145
<b>Puna seca</b>	4000 – 4800	540 – 600	30 – 60
<b>Puna Húmeda</b>	4200 – 4300	800 – 1000	20 – 60
<b>Quechua</b>	2300 – 3500	2000 – 1200	60 – 110
<b>Selva</b>	2300	3400	180 – 270
<b>Cordillera</b>	Mas de 4800		30 – 15

### **2.2.7.3.Zona Agroecológica del Altiplano (Subtipo climático C)**

En esta zona por no tener masas de agua circundantes y por los rangos extremos de temperatura se tiene mayores restricciones para la agricultura. La explotación agrícola se encuentra limitada a áreas abrigadas o protegidas de ladera. Se encuentra una mayor orientación de la producción hacia la ganadería ovina y vacuna. Se da relativa importancia a la explotación de papa amarga, papa dulce (ladera), quinua, kañihua y cebada (Tapia, 1988).

### **2.2.7.4.Zona Agroecológica de Puna (Subtipo climático D)**

#### ➤ **Puna Seca**

Sin aptitud agrícola por las temperaturas mínimas extremas. Supera actitudes de 4100 m.s.n.m. Está ubicada en el flanco occidental de los Andes y a más de 80 Km del Lago Titicaca. La humedad ambiental es baja (60%) y por lo tanto las precipitaciones estacionales son reducidas. (Prodasa, 1997).

#### ➤ **Puna húmeda**

Ubicada en la cordillera oriental de los andes. Tiene influencia de la evapotranspiración de la cuenca amazónica y las precipitaciones pluviales son mayores que en la puna seca. Las principales explotaciones son de ovinos y alpacas. En las laderas, puede producirse cebada y papa amarga (Tapia, 1988).

#### ➤ **El agroecosistema y sus componentes**

Un agroecosistema es un sistema artificial que cuenta por lo menos con una población de utilidad agrícola, y su desempeño está regulado por la intervención del hombre; y aunque no son exactamente ecosistemas naturales, todavía pueden considerarse ecosistemas, y los conceptos tales como flujo de energía, ciclaje de materiales, competencia, depredación y otros, son aplicados en su estudio (Tapia, 1988).

Los agroecosistemas son menos complejos que los ecosistemas naturales y por consiguiente menos estables. Aun así, mantienen una serie de interacciones complejas entre sus componentes de modo que cualquier cambio biológico, físico o químico en un componente generalmente afecta a otros componentes del ecosistema (Tapia, 1988).

➤ **La influencia del clima**

Es sabido que uno de los factores que influyen en la distribución y abundancia de los insectos es el clima siendo la temperatura uno de los factores físicos importantes (Andrewartha y Birch 1954, Krebs 1978).

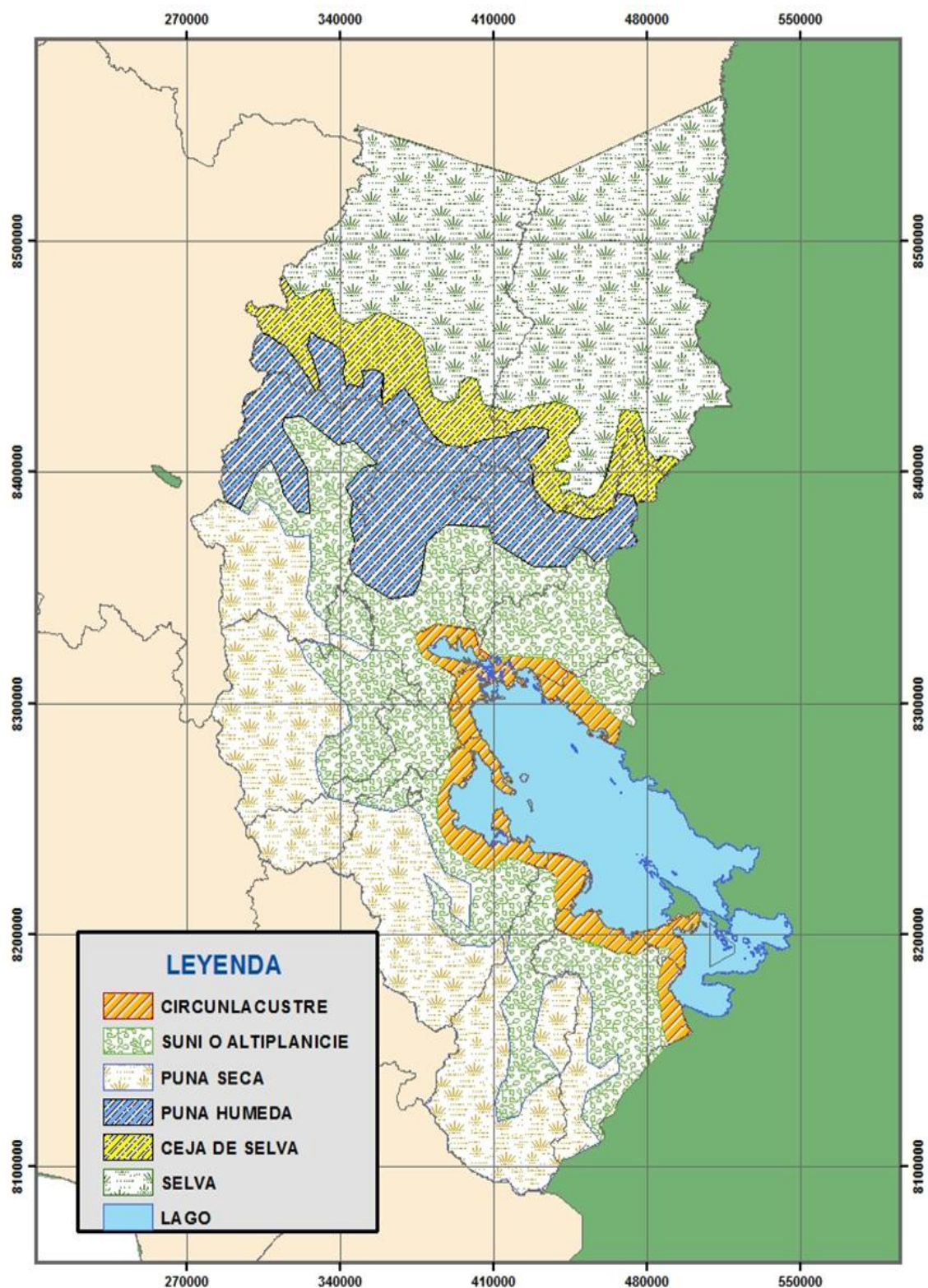


Figura 6. Mapa de zonas Agroecológicas de la región de Puno. Fuente Tapia, 1987.

### 2.3. Marco conceptual

**Acción patógena:** Se refiere a todos aquellos daños que de manera directa o indirecta ocasiona el parásito sobre el hospedador (Parnell et al., 2002).

**Baculovirus:** Son virus patógenos de insecto, forman parte del ecosistema y pueden jugar un rol importante en el control de poblaciones de sus hospederos. (Rohroman, 2008)

**Cuerpos de inclusión (CI):** Son llamados poliedros debido a que la mayoría de los VPN manifiestan una forma poliédrica (triangular, cuboide, pentagonal, hexagonal) cuando son observados al microscopio (Adams y Wilcox, 1982).

**Entomopatógenos:** Tal como lo indica su nombre (entomon: insecto, pathos: enfermedad, gennân: engendrar), se trata de enfermedades de los insectos causadas por bacterias, hongos, virus, protozoos y nematodos (Steimhaus, 1968).

**Factores climáticos:** los factores climáticos son los relacionados con las características climáticas de cada zona. Ejemplo, precipitación pluvial, la temperatura etc.

**Infección:** Invasión de un organismo vivo por microorganismos (bacterias y virus) que tienen como objetivo su reproducción en el organismo infectado, causando en muchas ocasiones la muerte del mismo (Steimhaus, 1968).

**Incidencia:** El conocimiento sobre la presencia o ausencia de un entomopatógenos en un área Zona o región determinada. La incidencia de una enfermedad describe la proporción de individuos infectados dentro de una población de hospederos (Steimhaus, 1968).

**Patógenecidad:** La patógenecidad es la capacidad de un agente infeccioso de producir enfermedad en un huésped susceptible (Perea et al. 1992).

**Prospección:** Es una actividad orientada a la búsqueda y detección de agentes dañinos. Generalmente, las detecciones de insectos y están orientadas a determinar la presencia de una plaga e identificar situaciones de riesgo, antes de que ocurran daños significativos o de importancia económica (Pérez, 2013).

**Virulencia:** Es el grado en que un patógeno puede causar enfermedad; esto a menudo está relacionado con el número de microorganismos que se requieren para causar la infección o la frecuencia de infección en una población dada y los determinantes de virulencia de la cepa (Perea et al. 1992).

**Virus de la Poliedrosis Nuclear:** Las enfermedades debidas a los VPN son más conocidas bajo el término general de poliedrosis nuclear, la propiedad de estos agentes de inducir dentro de los núcleos donde se multiplican (Rohroman, 2008).

**Viriones.-** Los viriones son unos de los principales elementos infecciosos de los baculovirus, tanto en la dispersión del virus entre los individuos de una población como en los tejidos y órganos de un mismo hospedero. El virión maduro se forma cuando este adquiere una membrana que tiene una estructura trilaminar, compuesta por dos capas de proteínas y una de lípidos (Rohrmann, 2008).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Área de Estudio

La investigación se realizó en dos fases, la primera fase se desarrolló en campos de cultivo de quinua, en las diferentes localidades de la región de Puno (Tabla 2), en las campañas agrícolas 2015-2016 y 2016-2017 y la segunda fase se llevó a cabo en el laboratorio de la Est. Exp. Agr. Illpa, Puno del INIA. Los lugares de Ubicación en la Zona Agroecológica Suni y Zona Circunlacustre del lago Titicaca.

#### 3.2. Ubicación del estudio de campo

*Tabla 2. Ubicación de localidades muestreados en campañas de quinua 2015-2016 y 2016-2017.*

N°	Localidad	Distrito	Provincia	Zona Agroecológica	Altitud (m.s.n.m.)	Ubicación Geografica	
						ESTE	NORTE
1	Villapampa	Ayaviri	Melgar	Suni	4096	344569	8355482
2	Curani	Asillo	Azángaro	Suni	3896	361358	8365429
3	Collana	Asillo	Azángaro	Suni	3905	361333	8365406
4	Punta Sahuacasi	Azángaro	Azángaro	Suni	3873	371962	8344470
5	Santiago de Pupuja 1	Santiago de Pupuja	Azángaro	Suni	3880	37069	8339689
6	Santiago de Pupuja 2	Santiago de Pupuja	Azángaro	Suni	3945	362065	8335608
7	Putina	Putina	San Antonio de Putina	Suni	3880	410131	8351338
8	Cayacaya	Putina	San Antonio de Putina	Suni	3862	409157	8343788
9	Yanaoco	Huancané	Huancané	Suni	3832	410383	8315144
10	Azangarillo	Huancané	Huancané	Suni	3858	413996	832277
11	Lacasani	Moho	Moho	Circunlacustre	3831	944521	8298891
12	zona Lago	Moho	Moho	Circunlacustre	3866	439645	8303592
13	Cc'amjata	Capachica	Puno	Circunlacustre	3843	409382	8224095
14	Chapa	Capachica	Puno	Circunlacustre	3843	406043	8277020
15	Coata	Coata	Puno	Circunlacustre	3839	399557	8280130
16	Pukara	Pukara	Lampa	Suni	3940	356056	8252982
17	Huataquita	Cabanillas	San Román	Suni	3949	364659	8260453
18	Llapuscachi	Cabana	San Román	Suni	3922	358673	8270682
19	Cabana	Cabana	San Román	Suni	3903	360310	8272562
20	Llantamoko	Cabana	San Román	Suni	3882	363408	8270539
21	Cabana	Cabana	San Román	Suni	3914	359518	8270539
22	Llungo	Atuncolla	Puno	Suni	3908	364710	8265174
23	Mañazo	Mañazo	Puno	Suni	3940	356056	8252982
24	Illpa	Paucarcolla	Puno	Suni	3835	385016	8265465
25	Atuncolla	Atuncolla	Puno	Suni	3884	376892	8263992
26	Yunguta	Ilave	El Collao	Suni	3850	438120	8224829
27	Challapampa	Juli	Chucuito	Circunlacustre	3850	463602	8201678
28	Chuacasuyo	Pomata	Chucuito	Circunlacustre	3895	455537	8208166
29	Tahuaco	Copani	Yunguyo	Circunlacustre	3825	492152	8198835
30	Ingabe chinumani	Yunguyo	Yunguyo	Circunlacustre	3869	490395	8198827
31	Chatuma	Yunguyo	Yunguyo	Circunlacustre	3865	477587	8200788

En la (Figura 7) se muestra todas las localidades muestreadas en las campañas 2015-2016 y 2016-2017 en la región de Puno.

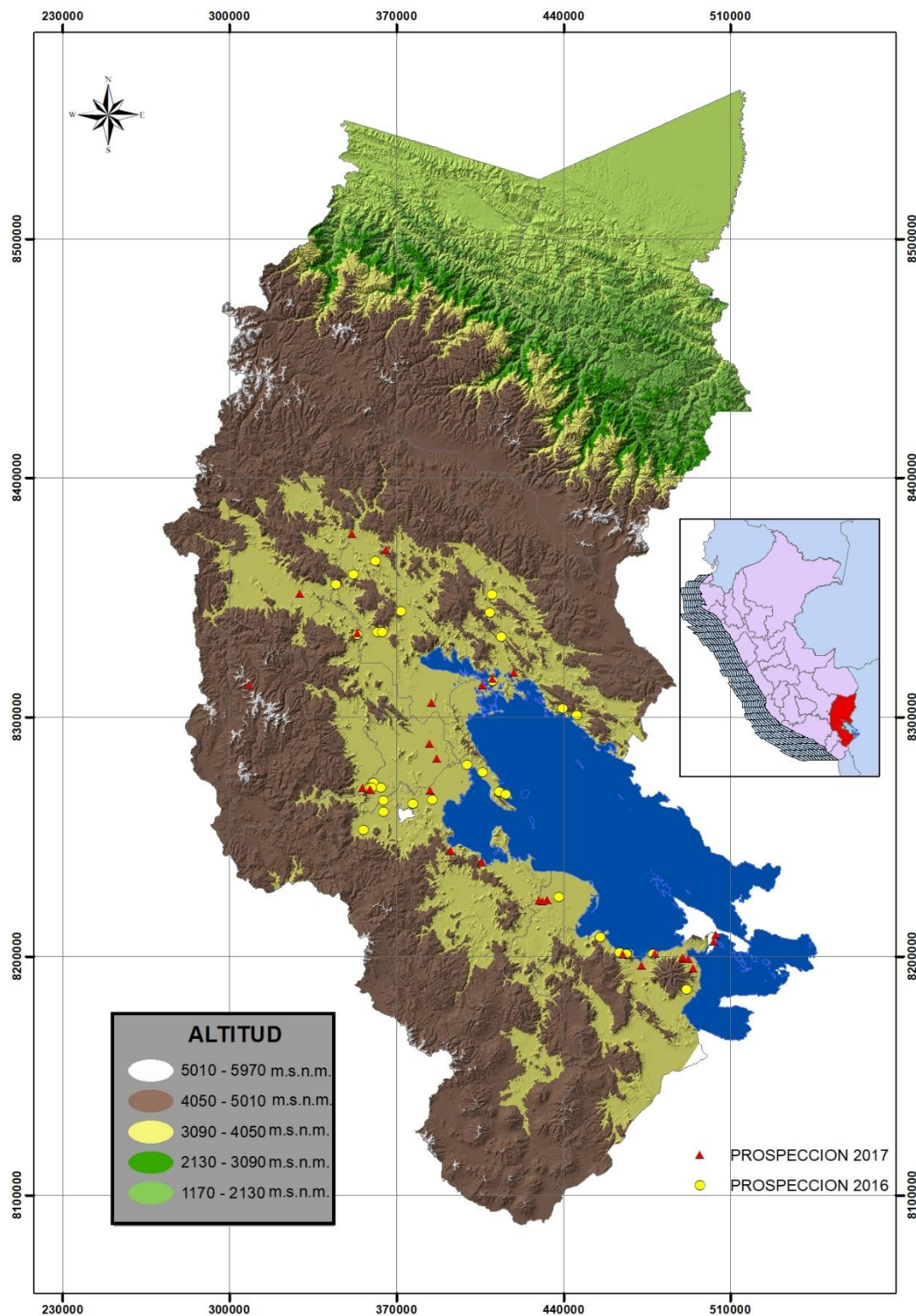


Figura 7. Mapa de la región de Puno zonas muestreadas 2015-2016 y 2016-2017.



### 3.3. Tipo de estudio

El presente es trabajo es descriptivo y experimental

### 3.4. Población y muestra

Población fueron los campos de cultivo de quinua ubicadas en las provincias de Yunguyo, Puno, El Collao, San Román, Huancané, Azángaro, Lampa, Chucuito, San Antonio de Putina, Melgar y Moho.

La toma de muestras se realizó en campos de cultivo de quinua de las diferentes localidades de la región de Puno.

### 3.5. Metodología

#### 3.5.1. Identificación taxonómica de entomopatógenos en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua

Para la identificación se procedió a separar y contar las muestras colectadas de campo separó por estadios larvas, pupas y síntomas que presentaron algunas larvas para lo cual se tomara referencia de las siguientes características:

- Bacterias: Los síntomas de enfermedades bacteriales son variables, sin embargo, la decoloración, el cese del alimento, la parálisis, los vómitos, el fuerte mal olor y disminución en el tamaño de la larva son aspectos comunes
- Virus: Muestran el cuerpo flácido, los movimientos hacia arriba y posición colgante, el fluido del cuerpo escapando el integumento

Las muestras de larvas que no presentaron síntomas se las colocaron en cámaras de cría, que consisten de recipientes plásticos con una ventana de tul en la tapa para facilitar la aireación. De esta forma el insecto al encontrarse en un ambiente no óptimo para su normal crecimiento (condiciones climáticas y alimento diferente), los posibles entomopatógenos o parasitoides puedan desarrollarse, porque el sistema inmunológico o de defensa del insecto se debilita y permite que al patógeno (bacteria o virus) encuentre lo necesario para su normal desarrollo. En estas condiciones existen muy pocas barreras de defensa de parte del hospedante.

##### 3.5.1.1. Procedimiento para identificación de bacterias en larvas de lepidópteros

Las muestras se desinfectaron usando hipoclorito de sodio al 5% durante un minuto, seguidamente se realizaron tres lavados con agua destilada y finalmente se secó sobre papel absorbente esterilizado. Cada espécimen fue colocado en cámara húmeda, la misma que consistió en placas Petri, sobre la cual se colocó la muestra afectada por una posible bacteria. La cámara húmeda se llevó a incubadora a 22°C. Por dos días o más. Se observó la sintomatología que causa la bacteria.

Los insectos afectados por Bacterias demuestran los siguientes síntomas:

- Parálisis del intestino y las partes bucales que conducen al cese de la alimentación
- Regurgitación y diarrea que indica el efecto de la endotoxina en el epitelio intestinal

- El tegumento pierde su brillo y se torna opaco
- Se detiene la alimentación y hay acumulado de alimento mal digerido en el intestino que revela parálisis intestinal
- La larva pierde agilidad y el tegumento adquiere una coloración marrón oscuro
- La larva se torna flácida y sin movimientos
- La muerte ocurre entre las 18 y 72 horas.
- Finalmente, la larva afectada toma un color negro y hay deterioro de los tejidos sin romperse el tegumento.

#### a. Aislamiento y purificación de la bacteria

Al espécimen que presento flacidez, húmedo y que desprende mal olor se le dio un tratamiento especial para lograr el aislamiento de la bacteria.

#### b. Identificación de la bacteria

La investigación se dirigió a las bacterias de la familia Bacillaceae, (bacterias esporulantes) y se descartó de las posibles bacterias no esporulantes pertenecientes a las familias Pseudomonaceae, Streptococcaceae y Enterobacteriaceae, ya que los insectos son comúnmente resistentes al ataque de estas bacterias; careciendo de habilidades para generar poblaciones a nivel intestinal. Las bacterias mencionadas se manifiestan solo en condiciones extremas de estrés, Otro punto es que algunas son patógenas de vertebrados lo cual limita su utilización como bioinsecticida. Las bacterias de la familia Bacillaceae son altamente virulentas, tienen gran capacidad invasiva y de producción de toxinas; por tanto la identificación se dirigió a esta familia.

#### c. Tinción

Se prepararon las soluciones para la tinción, que fueron 4:

- Cristal violeta 1 minuto
- Lugol 30 segundos
- Alcohol 15 segundos
- Safranina 1 a 2 minutos

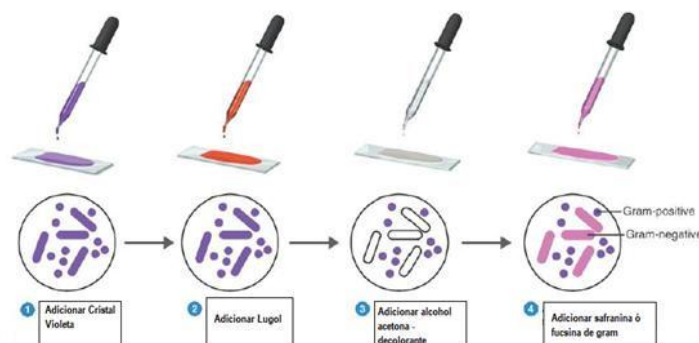


Figura 7. Tinción de bacterias

### 3.5.1.2. Procedimiento para identificar Virus en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua

Este objetivo se realizó en la ciudad de Lima en Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) para que pueda ser certificado por un especialista en entomopatógenos.

#### a. Acondicionamiento de las muestras colectadas

Se colocó a los especímenes que tenían sintomatología viral en tubos de eppendorf se los rotulo con el código respectivo y se los coloco en la refrigeradora a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Para conservarlos para su análisis respectivo.

#### b. Uso de virus

El proceso de multiplicación del virus se inicia con larvas infectadas colectadas en campos se colocan en agua y luego se trituro en un mortero para homogenizar la suspensión. Para aplicarlo en el laboratorio bajo condiciones controladas, la suspensión se filtra con el fin de separar las partes grandes del insecto; también, es conveniente agregar un agente dispersante.



*Figura 8. Izquierda Laboratorio de entomopatógenos SENASA- Lima, derecha Sala de Liofilización Lima-2017.*

#### c. Preparación de la muestras

Se homogenizó a los insectos contenidos en los tubos de Eppendorf con una pipeta se colocó de 5 a 10ml. En cada muestra dependiendo del volumen respectivo. Seguidamente se predio centrifugar los tubos Eppendorf a 10000 r.p.m.

El virus colectado en el campo también se puede también liofilizar por periodos largos de hasta dos años por periodo de refrigeración, La liofilización se constituye en uno de los más económicos y efectivos métodos de preservación a largo plazo para bacterias y otros microorganismos. Muchas especies bacterianas diversas fisiológicamente y algunos bacteriófagos, han sido exitosamente preservados por esta técnica, y permanecen viables por cerca de 50 años.

#### d. Purificación del EurVPN

Para realizar la purificación del EurVPN se consiguió el método descrito por (Alves, 1986), y se modificaron algunos pasos.

Las muestras obtenidas que se encontró en el primer objetivo se descongelaron las larvas muertas por infección con EurVPN, que se conservaron a  $-10^{\circ}$  y este procedimiento se realizó con un especialista en entomopatógenos del SENASA – Lima.

#### e. Triturado de muestras

Se descongelaron las larvas muertas por infección con EurVPN que se tenían congeladas a  $-10^{\circ}$  y en un mortero se realizó el triturado de 2, 4, 6 y 8 larvas en agua destilada, para poder preparar la dosis se filtró para separar las partes gruesa del insecto del insecto distribuyéndose es material en tubos de centrifugados a 10000rpm durante 10 minuto este procedimiento se realizó para noctuides y polillas de la quinua.

Se eliminó el sobrenadante y se conservó el sedimento que contenía los cuerpos de inclusión para suspenderlo y proceder a una nueva centrifugación



*Figura 9. Larvas entomopatógenos, B) triturado de larvas en un mortero, c) Extracción del sobrenadante de las larvas entomopatógenos. Lima- 2017.*

#### f. Centrifugación permitió la observación de diferentes bandas

Se logró reconocer la banda blanca que correspondía a una alta concentración de EurVPN, localizada a media altura en los tubos y se procedió a recuperar aspirándola con una pipeta.

La banda donde se encuentra el virus, se extrajo una gota de la banda y se llevó al microscopio para poder identificar.



**Figura 10.** Purificación del virus (A) larvas infectadas en tubos Eppendorf con agua destilada antes de la centrifugación, (B) aspecto después de la centrifugación, (la flecha indica la localización de la banda donde se encuentra la mayor concentración de virus).

#### g. Identificación de los virus

Los baculovirus fueron identificados por observación directa los cuerpos de oclusión o poliedros, rompimiento del tegumento, hinchamiento, cambio de color y falta de apetito, que se presentan en los especímenes infectados.



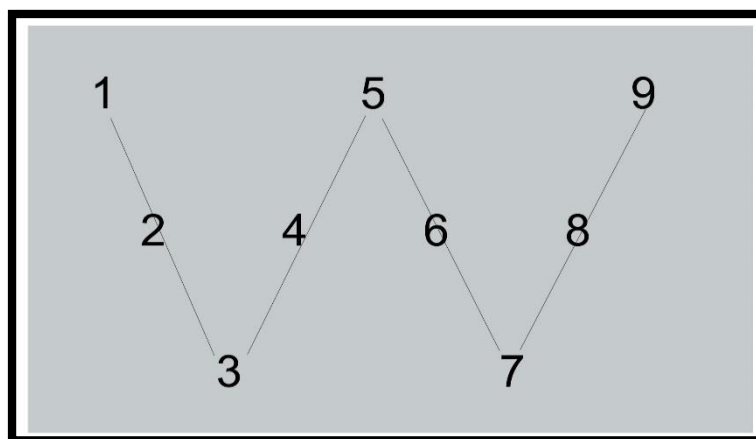
**Figura 11.** Realizando la identificación de Virus. SENASA-Lima.

### 3.5.2 Prospección de entomopatógenos en cultivo de quinua

La prospección se realizó en los meses de Marzo, Abril y Mayo, iniciándose con las campañas de 2015-2016 y 2016-2017, en 31 localidades la recolección de larvas de *E. quinoa*, luego se identificaron en el laboratorio de la Est. Exp. Agr. Illpa, INIA-Puno de entomopatógenos.

#### 3.5.2.1 Recolección de larvas de entomopatógenos en cultivos de quinua.

La recolección de larvas fue en forma de "W" en los campos de cultivo como se muestra en la siguiente figura:



*Figura 12. Recolección de larvas en forma de "W"*

Las larvas con síntomas y muertas con características de entomopatógenas fueron recogidas junto con una muestra de la planta huésped y se recolecto larvas de lepidóptero de los cultivos de quinua, las muestras se colocaron en tapers herméticos debidamente rotulados para luego ser llevadas al laboratorio Est. Exp. Agr. Illpa, INIA-Puno.



*Figura 13. Prospección de larvas de entomopatógenos en cultivos de quinua*

Las larvas de polillas, fueron acondicionadas en frascos de crianza (tapers) de 30 x 18 x 10 cm; con 3 cm de tierra en el fondo.

#### a. Factor de estudio

El factor se define por que en la prospección nos permite conocer la distribución de los entomopatógenos de la región de Puno en fusión a (bacterias, virus) en larvas de la polillas

de la quinua (*E. quinoa*.) y larvas de Noctuides (*C. turbata*) en el cultivo de quinua, en relación a temperatura y precipitación.

### b. Unidad de Observación

La unidad de observación correspondió a cada uno de los sitios o áreas de cultivo que se mencionó anteriormente.

Estos aspectos fueron estudiados en un periodo de dos años: la prospección de entomopatógenos en campo se realizó en el lapso de tres meses, que incluyó las campañas agrícolas del 2015-2016 y 2016-2017, se realizaron muestreos de larvas enfermas y sintomatologías como cambio de color la flacidez de la larva y estas fueron llevadas a laboratorio durante el mes de Marzo y Abril del 2016 y 2017.

### c. Diseño de muestreo o experimento

Las colectas se realizaron cuando el cultivo tenía un alto porcentaje de infestación de polilla de la quinua, generalmente en los meses de marzo y abril antes de la cosecha. La colecta se realizó manualmente y con la técnica de agitación o sacudida utilizando una bandeja de plástico (Figura 14) colocadas debajo de cada planta inclinándola ligeramente y sacudiendo suavemente para que caigan las larvas, se recolecto larvas de diferentes estadios. Las larvas fueron mantenidas en tapers cubiertos con tul y con buena cantidad de panojas frescas, los tapers con larvas fueron cuidadosamente llevados al laboratorio Est. Exp. Agr. Illpa, INIA-Puno.

También se recolecto larvas de Noctuides y algunas estaban colgadas en forma de una “V” invertida y probablemente tenían entomopatógenos, estas se recolectaron en frascos de vidrio, y las larvas fueron transferidas a bandejas y en el lapso de tercera semana, hasta dos meses se realizó la selección. Esta actividad se realizó con la ayuda de lupas y estereoscopio.



**Figura 14.** Recolección de larvas en bandejas de plástico, de polilla de la quinua (*E. quinoa*.)



*Figura 15. Recolección de larvas de C. turbata*

La selección de larvas fue adecuadamente registrada en cartillas, lo cual permitió la cuantificación de los datos.

#### **d. Variables en estudio**

Porcentaje infestación: Esta variable se usó para la presencia de bacterias y virus. El total de insectos plaga recogidos (larvas) representaron el 100%, en base a lo cual se estableció el porcentaje de infección de entomopatógenos.

#### **e. Métodos Estadísticos (Análisis de datos)**

Antes de realizar los análisis, los datos originales fueron transformados a la función de  $\sqrt{(x+1)}$ , para homogeneizar las varianzas debido a que estos constituyen valores de contadas (Calzada, 1996). Se utilizó el Diseño Bloque Completo al Azar, para conocer las diferencias estadísticas respecto a la población de entomopatógenos en relación a las localidades en estudio junto a su correspondiente prueba de rango múltiple de Duncan, considerando como tratamientos a los entomopatógenos y como bloques a las localidades en estudio donde se realizaron los muestreos de los diferentes campos de cultivo de quinua. Para verificar la significancia estadística del modelo para las variables en estudio, se empleó el Análisis de Varianza (ANOVA) a un nivel de significación de 5% de error. Los datos se procesaron en Software Infostat versión libre estudiantil.

Modelo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_j + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{cases} i = 1,2,3 \\ j = 1,2,3,4,5 \end{cases}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es la variable dependiente que corresponde: presencia o ausencia de entomopatógenos.

$\mu$  = La media poblacional o constante común.

$\beta_j$  = Es el efecto de la  $j$  – ésima bloque que corresponde a las localidades de las provincias de Yunguyo, Chucuito, El Collao, Puno, Azangaro, San Roman San antonio de Putina, Huancane Lampa y Moho

$\tau_i$  = Es el efecto verdadero de la  $i$  – ésimo de entomopatógenos.

$\varepsilon_{ij}$  = Es el error experimental no controlable, y que se distribuye en forma normal con media cero y varianza constante.  $\varepsilon_{ij} = N(0, \sigma^2)$



### 3.5.3 Procedimientos para determinación de la incidencia de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros en cultivos de quinua en la región de Puno.

Una vez que se colectaron las larvas *E. quinoae* estas fueron llevadas al laboratorio Est. Exp. Agr. Illpa, Puno del INIA, en donde se realizó su crianza masal.

Para determinar la incidencia de entomopatógenos se realizó en tapers donde se puso las larvas del III instar (Figura 16), con panojas de quinua con una tapa de tull se procedió a cerrarlas.



**Figura 16.** Selección de larvas de III instar en la cámara de Flujo laminar

Para la patogenicidad se realizó distribuyendo 1000 larvas del III instar, divididas en 10 tapers de crianza de 9.5 x 9.5 x13 cm, y cada tapers con 100 larvas de *E. quinoae*. Se realizó el respectivo rotulado tapados con una malla tul con el fin de evitar que las larvas puedan salir del tapers y para su debida ventilación dentro de los cuales se colocó una capa de arena lavada de 0.5cm (Figura 16), de espesor y como alimento algunas panojas de quinua para que puedan alimentarse e introducirse en la arena y empujar las que fueron infectadas con virus.



**Figura 17.** Tapers con arena y panoja de quinua para los tratamientos con VPN

Se utilizó larvas liofilizadas de Noctuides y se preparó diversas dosis del virus: 2mg/100ml, 4mg/100ml, 6mg/100ml y 8mg/100ml; considerando que 20 larvas molidas en un mortero y dispersadas en 1 litro de agua destilada tienen una concentración de 20 mg. del virus (Alcázar y Raman, 1991). Las diferentes concentraciones del virus hacen un total de 4 tratamientos a las cuales se les agregó un testigo (cada uno con 4 repeticiones), haciendo un total de 100 larvas para cada tratamientos, las panojas fueron aspergidas con la concentración viral cada tratamiento y repeticiones.



*Figura 18. Larvas de E quinoa para los tratamientos con virus de la poliedrosis nuclear*

La evaluación se hizo en el 3er día después de la aplicación y de ahí fue diariamente hasta registrar el porcentaje de mortalidad y el número de larvas muertas. Además se realizó observaciones de sintomatología y comportamiento.



*Figura 19. Realizando respectivas observaciones en los tapers*

### 3.5.3.1 Variables respuesta

Se conocerá la respuesta a diferentes dosis de virus de la poliedrosis nuclear una vez que se haya infectado larvas de E quinoa con VPN, Terminando las evaluaciones se podrá conocer la dosis óptima de mayor eficiencia la cual podría ser la dosis adecuada para la aplicación en campo.

#### a. Número de larvas infectadas.

Al observar cada caja se detalló la cantidad de larvas infectadas, basado en el color y comportamiento de cada una. En cuanto al color se observó aquellas larvas cuya coloración cambiara de tono verde a amarilla o finalmente a negro. El comportamiento fue evaluado conforme al movimiento presentado por las larvas, el cual variaba de rápidas a lentas. Esto debido a que conforme el grado de infección la movilidad de las larvas iba disminuyendo. Coloración cambiara de tono verde a amarilla o finalmente a negro. El comportamiento fue evaluado conforme al movimiento presentado por las larvas, el cual variaba de rápidas a lentas. Esto debido a que conforme el grado de infección la movilidad de las larvas iba disminuyendo.

#### b. Número de larvas muertas.

En cada lectura se hizo un conteo de larvas muertas. En el experimento se considera larva muerta aquella que presenta una coloración negra y cero movimientos. Conteo de larvas muertas se realizó observando cada larva de cada tratamiento, al estar la larva de un color negro se tomaba el dato de larva muerta.

#### c. Sintomatología de VPN

Se realizó una evaluación de los síntomas de tapers de cada caja expuesta al VPN con la toma de datos las cuales fueron: Verde (normales), Verde lentas, Amarillo (infectada con VPN), Negro (Muertas por VPN), Pupas. Los síntomas normalmente aparecen después del tercer o cuarto día de infección de las larvas. Primero se observan manchas en el tegumento y la piel con un amarillamiento y apariencia oleosa. Luego las larvas reducen su movilidad, dejan de alimentarse y suben a la parte alta de la planta, después se cuelgan del as hojas con sus patas traseras y posteriormente, se vuelven oscuras debido a la desintegración de los tejidos internos hasta la rotura del tegumento.

#### d. Método estadístico

Para el presente objetivo se realizara Análisis de Varianza (ANVA) a un nivel de significación de 5% de error y prueba de Tukey para comparar si existen diferencias en diferentes dosis. Los datos se procesaran en Software Infostat versión libre estudiantil.

#### IV. RESULTADO Y DISCUSION

Los resultados de entomopatógenos, se presentan detallados en función a los objetivos:

##### 4.1. Identificación de los entomopatógenos de larvas de lepidópteros en cultivo de quinua

###### ➤ Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) en larvas de *C. Turbata*

Los síntomas característicos de las larvas de *C. turbata* fueron la pérdida de apetito y poca movilidad, cambio de coloración desde blanco a café, tenían fragilidad y tenían el tegumento roto, síntomas que coinciden por Caballero *et.al.*, (2001) y afirmadas por Zeddám *et al.*, (2002), En la (Figura 20) se observa el rompimiento del tegumento y también adquiere un color marrón oscuro al final de la enfermedad. Sin embargo, las larvas mantenidas bajo condiciones de laboratorio, ya que en campo puede variar y también se pueden estar colgadas de sus pseudópodos en forma de “V” invertida y las que

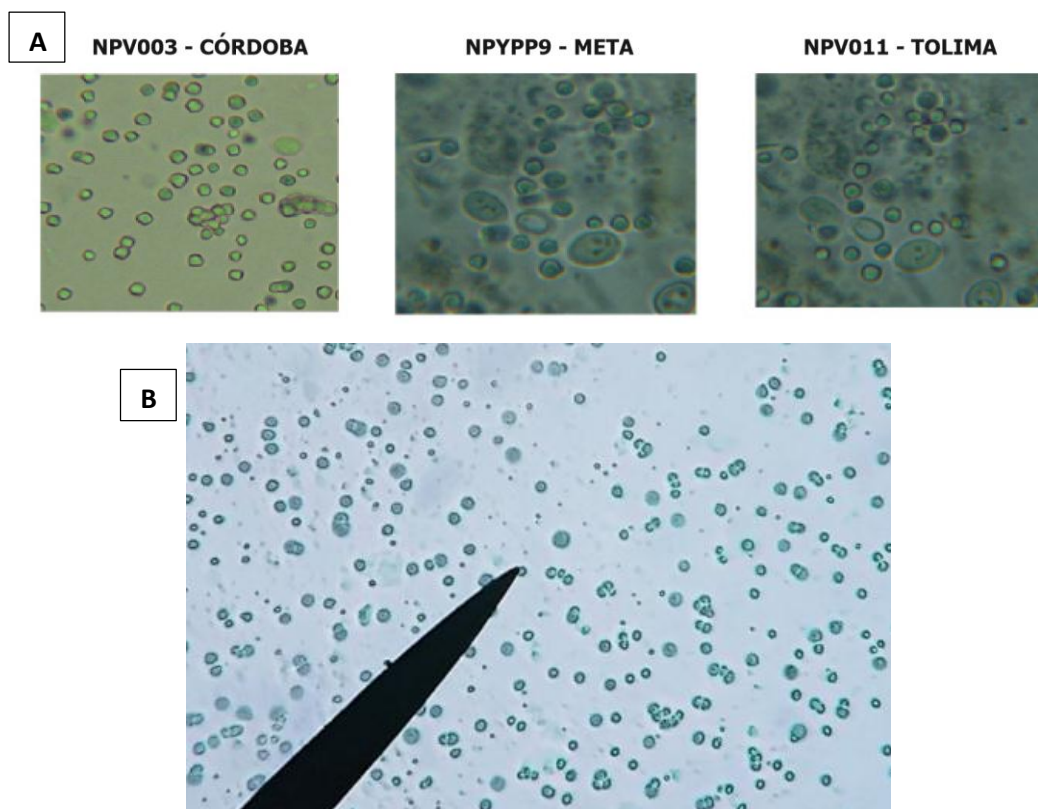


*Figura 20. Rompimiento de tegumento en larva de C. turbata*

se conservaron en tapers, morían en la parte superior del envase, se adherían al tull del recipiente e inclinaban su cabeza hacia abajo como lo describe Laarif *et.al.*, (2003) en su estudio sobre la epidemiología de un baculovirus de *P. operculella* en Túnez, los síntomas de infección exhibidos en campo son difíciles de encontrar y algunas larvas infectadas pueden no mostrar síntomas indicativos de la presencia de la enfermedad. Este fenómeno puede deberse a la presencia de bajas concentraciones del virus en el insecto o a un caso de infección latente. Es por esto que el análisis microscópico, molecular y biológico es fundamental para el aislamiento de baculovirus en muestras recolectadas en campo.

Los cuerpos poliédricos de inclusión (CPI) de los VPN miden de 0,8 a 0,12 micrómetros de diámetro encontrados en la región de Puno. Alves (1986) menciona que los cuerpos de inclusión de los VPN miden de 0,5 a 0,15 micrómetros de diámetro.

Y algunas larvas se procedieron a triturar para poder observarlo en microscopio a 200x, para la búsqueda de los cuerpos de inclusión del virus, los cuales tienen forma poliédrica (Figura 21).



**Figura 21.** A) Cuerpos de inclusión de los aislamientos nativos de VPN de *S. frugiperda* detectados en la hemolinfa de larvas infectadas. B) VPN detectado en *C.turbata* en la región de Puno 2016.

En su estudio realizado por Williams y Caballero, (2008). Menciona que las larvas de *S. frugiperda* afectadas por baculovirus se encontraron en áreas con cultivo de pastos, seguido por los cultivos de sorgo y maíz. Esto podría deberse a que para que tenga lugar la transmisión del virus, es necesario que haya un transporte de cuerpos de inclusión virales desde el suelo hasta la superficie foliar donde son ingeridos por insectos susceptibles, lo cual puede ocurrir por acción de la lluvia y otros agentes físicos. A la vez Fuxa (1982), aclara que en los cultivo de pastos, las partículas virales pueden movilizarse más fácilmente desde sus reservorios (el suelo y la superficie foliar) a la vegetación cercana, así como las larvas pueden pasar más fácilmente de una planta a otra. Igualmente, el rápido crecimiento del maíz o el sorgo comparado con el pasto, hace que se produzca mayor superficie foliar que no se encuentra contaminada por el virus, reduciendo la posibilidad de diseminación de la infección en las larvas presentes.

➤ **Identificación de virus de la granulosis en larvas de *E. quinoa***

Se evidenció en el cuerpo de la larva un color blanco lechoso y flacidez sin ruptura del tegumento (Figura 22). Al observar la hemolinfa en microscopio de luz se apreciaron pequeñas partículas con movimiento Browniano que fueron confirmadas como granulovirus en larvas de *E. quinoa*. El síntoma típico de una larva infectada por el VG, es el cambio de coloración, de un verde violáceo translucido, que es el color de una larva normal. A un blanco cremoso de aspecto lechoso. Este cambio de coloración se observa a partir del II estadio.



*Figura 22. Larvas de E quinoa con virus de la granulosis (VG) recolectados en la región de Puno 2017.*

Algunas larvas infectadas dejan de alimentarse y no crecen, mientras que otras siguen desarrollando, se vuelven lentas en sus movimientos y no reaccionan rápidamente. Las larvas después de la muerte, el integumento se vuelve frágil y flexible, fácilmente rompen dando salida al contenido licuado compuesto por tejidos desintegrados y partículas de virus, se evidenció también por la presencia de un color blanco lechoso y flacidez sin ruptura del tegumento. Algunos autores también han reportado la presencia de granulovirus afectando larvas de *S. frugiperda*, aunque es más común la incidencia de dicho virus sobre larvas de otras especies de *Spodoptera* como *S. litura* y *S. exigua* (Narayanan, 2002; Lau, Sajap y Samad, 2006; Wang et al., 2008).

Zeddarn (1997), Menciona que se observa un cambio de coloración, El tamaño de los cuerpos de inclusión de los granulovirus es de 0.3-0.5micrometros en el microscopio, se observa pequeños campos brillantes, los cuales tienen un rápido movimiento browniano, mientras que en contraste de fases aparecen como pequeños puntos grises, tras la muerte de las larvas los tejidos se desintegran, se produce la ruptura del tegumento larval y la liberación de masas de cuerpos de inclusión la cual menciona que virus de la granulosis ayuda a controlar la polilla de la papa *P. operculella* (Lepidóptera: Gelechiidae) Caballero *et al.*, (2001), al igual que en larvas de *E. quinoa* (Figura 22).

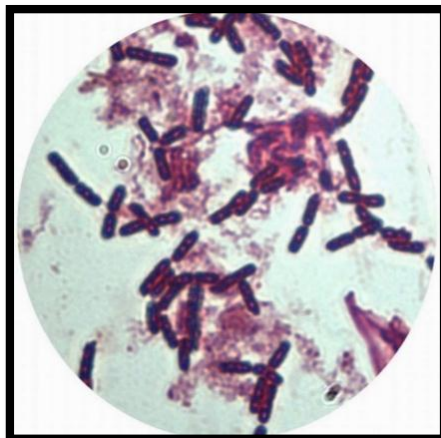


**Figura 23.** Larvas hinchadas de *E. quinoa* a causa del virus de la granulosis (VG) en la región de Puno 2017.

Alves (1997) menciona que los cuerpos de inclusión de los Virus de la Granulosis miden de 0,2 a 0,5micrometros y tienen una estructura con movimientos intensos.

### ➤ Identificación de Bacterias

Se identificó a *B. thuringiensis* es una bacteria Gram positiva porque su tinción fue color violeta por el cristal violeta (Figura 24) , tienen la capacidad de formar endoesporas de resistencia que pueden permanecer activas en el suelo largos periodos de tiempo. Sus células vegetativas tienen forma bacilar o capsulas y poseen flagelación pérmica. Pertenece a la familia Bacillaceae y se diferencia de otras bacterias, como *Bacillus cereus*, por la capacidad para formar durante la fase de esporulación una o más inclusiones cristalinas de naturaleza proteica y muchas se pueden detectar a microscopio óptico.



**Figura 24.** Muestra de bacteria del genero *B thuringiensis* en la región de Puno 2017.

Las bacterias mencionadas se manifiestan solo en condiciones extremas de estrés, Otro punto es que algunas son patógenas de vertebrados lo cual limita su utilización como bioinsecticida. Las bacterias de la familia Bacillaceae son altamente virulentas, tienen gran capacidad invasiva y de producción de toxinas; por tanto la identificación se dirigió a esta familia. Las muestras de bacterias presentaron flacidez, manchas en el tegumento y que desprendía mal olor (Figura 25).



**Figura 25.** Larva de *E quinoa* con manchas de *B thuringiensis* en la región de Puno 2016..

Schnepf et al., (1998), aclara que su distribución de *B. thuringiensis* puede deberse a que no es un verdadero microorganismo entomopatógeno, y actualmente se desconoce su verdadero papel ecológico, por lo que probablemente puede ajustarse mejor a la definición de un patógeno oportunista



## 4.2. Prospección de la presencia de entomopatógenos en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua.

### a. Campaña 2016

En la (Tabla 3), Se observa la presencia de virus y bacterias en larvas de lepidópteros, dos especies de la familia Baculoviridae pertenecientes a entomopatógenos recolectados en las diferentes localidades de la región de Puno.

- a) La mayor cantidad de NVP se encontraron en larvas de *C. Turbata* en las localidades de Huataquita (Sr-17) 15 virus, Llantamoko (Sr-20) 14 virus, Chatuma (Yu-31) 11 virus.
- b) La mayor cantidad de VG se encontraron en larvas de *E. quinoae* en las localidades de Tahuaco (Yu-29) 8 virus, Cabana (Sr-21) 6 virus.
- c) La mayor cantidad de *B. thuringiensis*. se encontró en larvas de *E. quinoae* en Punta Sahuacasi (Az-4) 4 *B. thuringiensis*., Chapa (Pu-14) 4 *B. thuringiensis*.

**Tabla 3.** Numero de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y *B. thuringiensis*. en la región de Puno 2016.

Codigo	Provincia	Distrito	Localidad	ENTOMOPATOGENOS		
				VPN	VG	<i>B.thuring.</i>
Me-1	Melgar	Ayaviri	Villapampa	3	0	0
Az-2	Azángaro	Asillo	Curani	0	0	0
Az-3	Azángaro	Asillo	Collana	7	4	0
Az-4	Azángaro	Azángaro	Punta Sahuacasi	2	2	4
Az-5	Azángaro	Santiago de Pupuja	Santiago de Pupuja 1	0	0	0
Az-6	Azángaro	Santiago de Pupuja	Santiago de Pupuja 2	0	0	0
Sa-7	San Antonio de Putina	Putina	Putina	2	2	0
Sa-8	San Antonio de Putina	Putina	Cayacaya	0	0	0
Hu-9	Huancané	Huancané	Yanaoco	3	0	0
Hu-10	Huancané	Huancané	Azangarillo	0	0	0
Mo-11	Moho	Moho	Lacasani	0	0	0
Mo-12	Moho	Moho	zona de Lago	7	2	0
Pu-13	Puno	Capachica	Cc'amjata	11	1	0
Pu-14	Puno	Capachica	Chapa	5	3	3
Pu-15	Puno	Coata	Coata	0	0	0
La-16	Lampa	Pukara	Pukara	0	0	0
Sr-17	San Román	Cabanillas	Huataquita	15	4	0
Sr-18	San Román	Cabana	Llapuscahi	0	0	0
Sr-19	San Román	Cabana	Cabana	1	0	0
Sr-20	San Román	Cabana	Llantamoko	14	0	0
Sr-21	San Román	Cabana	Cabana	7	6	0
Pu-22	Puno	Atuncolla	Llungo	0	0	0
Pu-23	Puno	Mañazo	Mañazo	0	0	0
Pu-24	Puno	Paucarcolla	Illpa	8	3	2
Pu-25	Puno	Atuncolla	Atuncolla	0	0	0
EIC-26	El Collao	Ilave	Yunguta	0	0	0
Ch-27	Chucuito	Juli	Challapampa	2	3	1
Ch-28	Chucuito	Pomata	Chuacasuyo	0	0	0
Yu-29	Yunguyo	Copani	Tahuaco	5	8	0
Yu-30	Yunguyo	Yunguyo	Ingabe chinumani	7	2	0
Yu-31	Yunguyo	Yunguyo	Chatuma	12	4	0
<b>TOTAL</b>				<b>111</b>	<b>44</b>	<b>10</b>

VPN=Virus de la Poliedrosis Nuclear; VG=Virus de la Granulosis

La presencia de entomopatógenos en algunas localidades fue de 1 a 15 entomopatógenos por localidad lo cual tiene una relación con lo que menciona Morales, (2010) que tendría una similitud de 3 a 5 larvas de entomopatógenos de *S. frugiperda* en parcelas de maíz.

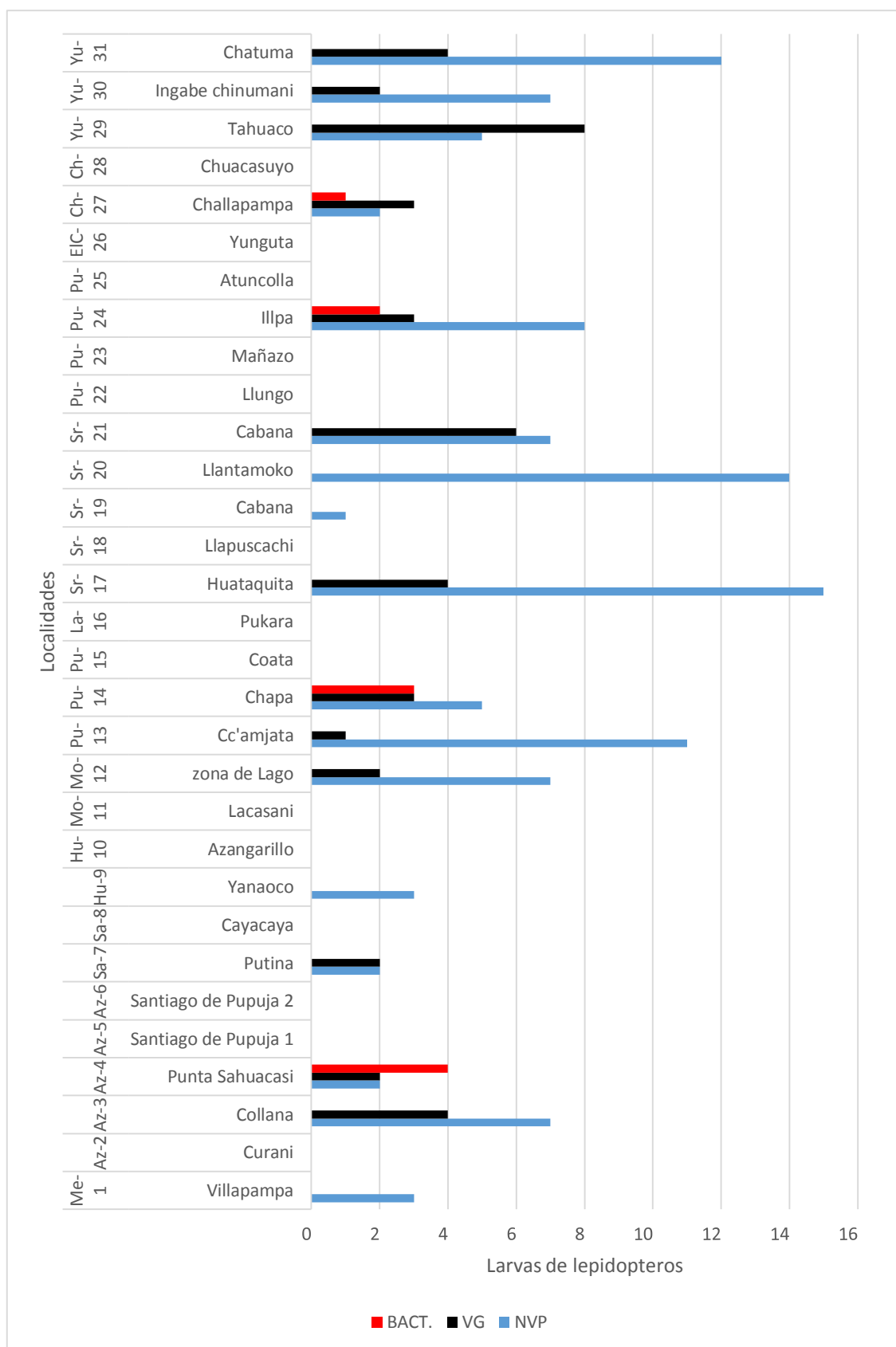


Figura 26. Numero de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y B. thuringiensis en la región de Puno 2016.

En la (tabla 4), Se muestra también las diferencias existentes entre el promedio de entomopatógenos, mostrándonos las localidades libres de entomopatógenos código Az-2 (Curani), Az-5 (Santiago de Pupuja 1), Az-6 (Santiago de Pupuja 2), y aquellas localidades que mostraron mayor presencia de entomopatógenos códigos Sr-17 (Huataquita), Yu-31 (Chatuma), Pu-24 (Illpa). Para el caso de entomopatógenos si existe diferencia significativa entre las localidades.

**Tabla 4.** Prueba de medias de Tukey al 0.05 de probabilidad para localidades, en la región de Puno 2016.

Código	Localidad	VPN	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	VG	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	B. thuringiensis	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	Total de datos transformados	Promedio de datos transformados	SIGN.
Sr-17	Huataquita	15	4.00	4	2.24	0	1.00	7.24	2.412	a
Yu-31	Chatuma	12	3.61	4	2.24	0	1.00	6.84	2.281	ab
Pu-24	Illpa	8	3.00	3	2.00	2	1.73	6.73	2.244	abc
Sr-21	Cabana	7	2.83	6	2.65	0	1.00	6.47	2.158	abcd
Pu-14	Chapa	5	2.45	3	2.00	3	2.00	6.45	2.150	abcde
Yu-29	Tahuaco	5	2.45	8	3.00	0	1.00	6.45	2.150	abcde
Az-3	Collana	7	2.83	4	2.24	0	1.00	6.06	2.021	abcdef
Pu-13	Cc'amjata	11	3.46	1	1.41	0	1.00	5.88	1.959	abcdef
Sr-20	Llantamoko	14	3.87	0	1.00	0	1.00	5.87	1.958	abcdef
Az-4	Punta Sahuacasa	2	1.73	2	1.73	4	2.24	5.70	1.900	abcdef
Mo-12	zona de Lago	7	2.83	2	1.73	0	1.00	5.56	1.853	abcdef
Yu-30	Ingabe chinum	7	2.83	2	1.73	0	1.00	5.56	1.853	abcde
Ch-27	Challapampa	2	1.73	3	2.00	1	1.41	5.15	1.715	abcd
Sa-7	Putina	2	1.73	2	1.73	0	1.00	4.46	1.488	abc
Me-1	Villapampa	3	2.00	0	1.00	0	1.00	4.00	1.333	fab
Hu-9	Yanaoco	3	2.00	0	1.00	0	1.00	4.00	1.333	fab
Sr-19	Cabana	1	1.41	0	1.00	0	1.00	3.41	1.138	fa
Az-2	Curani	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Az-5	Santiago de Pupuja 1	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Az-6	Santiago de Pupuja 2	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Sa-8	Cayacaya	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Hu-10	Azangarillo	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Mo-11	Lacasani	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Pu-15	Coata	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
La-16	Pukara	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Sr-18	Llapuscachi	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Pu-22	Llungo	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Pu-23	Mañazo	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Pu-25	Atuncolla	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
ElC-26	Yunguta	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f
Ch-28	Chuacasuyo	0	1.00	0	1.00	0	1.00	3.00	1.000	f

VPN=Virus de la Poliedrosis Nuclear; VG=Virus de la Granulosis

Con el propósito de saber si hay diferencia estadística entre las localidades y los entomopatógenos (VPN, VG y Bacterias) encontrados en la zonas Circunlacustre y Suni de la región de Puno se desarrolló el análisis de varianza.

En la (Tabla 5), se observa que para las localidades en estudio si existe diferencia estadística significativa, dándonos a entender que la prospección de entomopatógenos es variada según la localidad de estudio. Para el caso de dos especies de la familia Baculoviridae y bacterias si existe diferencia estadística significativa indicándonos que el promedio de los entomopatógenos no se distribuyen en forma pareja en las localidades.

**Tabla 5.** Análisis de varianza del total de entomopatógenos recolectados en las localidades de la región de Puno, 2016.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
LOCALIDADES	2	9.22	4.83	9.87	0.0001**
ENTOMOPATOGENOS	2	9.66	4.83	9.87	0.0001**
ERROR	90	44.06	0.49		
TOTAL	92	53.72			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.

El valor  $p=0.0001$  del ANOVA sugiere el rechazo de la hipótesis de igualdad de medias de entomopatógenos, es decir, si existen diferencias estadísticamente significativas entre entomopatógenos VPN, VG y bacterias, considerando la variable rendimiento. De acuerdo a la prueba Tukey VPN presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto a los entomopatógenos.

Ante la significancia estadística de entomopatógenos para localidad se procedió a realizar la correspondiente prueba de Tukey.

**Tabla 6.** Prueba de Tukey para el porcentaje del total de entomopatógenos.

ENTOMOPATOGENOS	MEDIAS	n	E.E.	
VPN	1.90	31	0.13	A
VG	1.44	31	0.13	B
BT	1.11	31	0.13	C

VPN=Virus de la Poliedrosis Nuclear; VG=Virus de la Granulosis, BT=*Bacillus thuringiensis*

La (Tabla 6), nos muestra la prueba de medias de Tukey al nivel de 5% (0.05), indica que el total de entomopatógenos, son sumamente diferentes en donde entomopatógenos VPN (1.90) es significativamente diferente a los demás entomopatógenos, esta prueba muestra también que si existe diferencias significativas entre VG y Bacterias.

**e. Campaña 2017**

En la (Tabla 7), Se observa la presencia de virus y bacterias en larvas de lepidópteros, dos especies de la familia Baculoviridae pertenecientes a entomopatógenos recolectados en las diferentes localidades de la región de Puno.

- a) La mayor cantidad de NVP se encontraron en larvas de *C. Turbata* en las localidades de (Pu-21) 28 virus, Ccámjata (Pu-13) 15 virus, Zona de Lago (Mo-12) 8 virus.
- b) La mayor cantidad de VG se encontraron en larvas de *E. quinoae* en las localidades de Tahuaco (Yu-29) 8 virus de (VG), Cabana (Sr-21) 6 virus (VG).
- c) La mayor cantidad de Bacterias se encontró en larvas de *E. quinoae* las localidades de Punta Sahuacasi (Az-4) 5 Bacterias, Chapa (Pu-14) 3 *B. thuringiensis*

**Tabla 7.** Número de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y *Bacillus thuringiensis* en la región de Puno 2017.

Codigo	Provincia	Distrito	Localidad	ENTOMOPATOGENOS			
				NVP	VG	BACT.	total
Me-1	Melgar	Ayaviri	Villapampa	0	0	0	0
Az-2	Azángaro	Asillo	Curani	0	0	0	0
Az-3	Azángaro	Asillo	Collana	5	1	1	7
Az-4	Azángaro	Azángaro	Punta Sahuac	3	3	5	11
Az-5	Azángaro	Santiago de Pupuja	Santiago de Pupuja 1	0	0	3	3
Az-6	Azángaro	Santiago de Pupuja	Santiago de Pupuja 2	0	0	0	0
Sa-7	San Antonio de Putina	Putina	Putina	0	0	0	0
Sa-8	San Antonio de Putina	Putina	Cayacaya	1	0	0	1
Hu-9	Huancané	Huancané	Yanaoco	0	0	0	0
Hu-10	Huancané	Huancané	Azangarillo	2	0	0	2
Mo-11	Moho	Moho	Lacasani	0	0	0	0
Mo-12	Moho	Moho	zona de Lago	8	8	3	19
Pu-13	Puno	Capachica	Cc'amjata	15	0	2	17
Pu-14	Puno	Capachica	Chapa	28	5	3	36
Pu-15	Puno	Coata	Coata	0	0	0	0
La-16	Lampa	Pukara	Pukara	0	0	0	0
Sr-17	San Román	Cabanillas	Huataquita	2	5	2	9
Sr-18	San Román	Cabana	Llapuscahi	0	0	0	0
Sr-19	San Román	Cabana	Cabana	0	0	0	0
Sr-20	San Román	Cabana	Llantamoko	4	0	5	9
Sr-21	San Román	Cabana	Cabana	3	0	1	4
Pu-22	Puno	Atuncolla	Llungo	0	0	0	0
Pu-23	Puno	Mañazo	Mañazo	0	0	0	0
Pu-24	Puno	Paucarcolla	Illpa	2	0	1	3
Pu-25	Puno	Atuncolla	Atuncolla	0	0	0	0
EIC-26	El Collao	Ilave	Yunguta	0	0	0	0
Ch-27	Chucuito	Juli	Challapampa	0	0	0	0
Ch-28	Chucuito	Pomata	Chuacasuyo	0	0	0	0
Yu-29	Yunguyo	Copani	Tahuaco	5	7	2	14
Yu-30	Yunguyo	Yunguyo	Ingabe chinun	2	2	2	6
Yu-31	Yunguyo	Yunguyo	Chatuma	7	0	3	10
<b>TOTAL</b>				<b>87</b>	<b>31</b>	<b>33</b>	

VPN=Virus de la Poliedrosis Nuclear; VG=Virus de la Granulosis

En la tabla muestra que la mayor cantidad se encontró en la comunidad de Chapa perteneciente a la provincia de Puno estudios realizados por Zeddarn (2004) donde colecto en Ecuador (Quito) 2 larvas muertas en el campo (Chimborazo y el Carchi) se encontraron infectadas con virus y granulovirus.

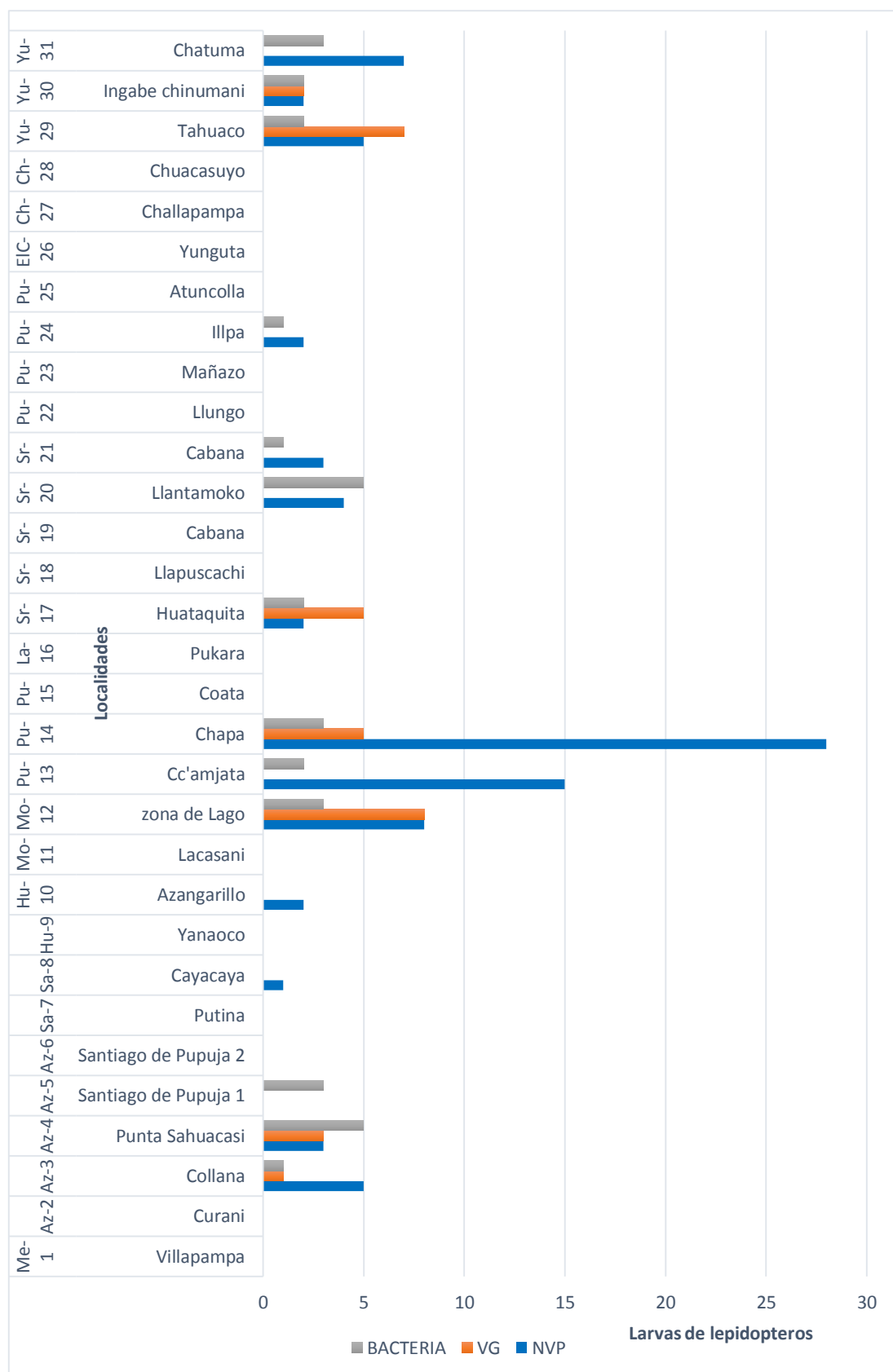


Figura 27. Número de larvas de lepidópteros con Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), Virus de la Granulosis (VG), y *B. thuringiensis*



En la (Tabla 8 ), Se muestra también las diferencias existentes entre el promedio de entomopatógenos, mostrándonos las localidades libres de entomopatógenos código Me-1(Villapampa), Az-2(Curani), Az-6 (Santiago de Pupuja 2), y aquellas localidades que mostraron mayor presencia de entomopatógenos códigos Pun-14 (Chapa), Mo-12 (Zona lago), Yu-29 (Tahuaco). Para el caso de entomopatógenos si existe diferencia significativa entre las localidades.

*Tabla 8. Prueba de medias de Tukey al 0.05 de probabilidad para localidades, de la región de Puno en la región de Puno 2017.*

Codigo	Localidad	NVP	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	VG	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	BACT.	Datos transformados a $\sqrt{(X+1)}$	Total de datos transformados	Promedio de datos transformados	SIGN.
Pu-14	Chapa	28	5.38516	5	2.44949	3	2	9.835	3.27822	a
Mo-12	zona de Lago	8	3	8	3	3	2	8.000	2.66667	ab
Yu-29	Tahuaco	5	2.44949	7	2.82843	2	1.7321	7.010	2.33666	abc
Pu-13	Cc'amjata	15	4	0	1	2	1.7321	6.732	2.24402	abcd
Az-4	Punta Sahuaco	3	2	3	2	5	2.4495	6.449	2.14983	abcde
Sr-17	Huataquita	2	1.73205	5	2.44949	2	1.7321	5.914	1.9712	abcdef
Yu-31	Chatuma	7	2.82843	0	1	3	2	5.828	1.94281	abcdef
Az-3	Collana	5	2.44949	1	1.41421	1	1.4142	5.278	1.75931	abcdef
Sr-20	Llantamoko	4	2.23607	0	1	5	2.4495	5.686	1.89519	abcdef
Yu-30	Ingabe chinur	2	1.73205	2	1.73205	2	1.7321	5.196	1.73205	abcdef
Sr-21	Cabana	3	2	0	1	1	1.4142	4.414	1.4714	abcde
Pu-24	Illpa	2	1.73205	0	1	1	1.4142	4.146	1.38209	abcd
Az-5	Santiago de Pupuja 1	0	1	0	1	3	2	4.000	1.33333	fab
Hu-10	Azangarillo	2	1.73205	0	1	0	1	3.732	1.24402	fab
Sa-8	Cayacaya	1	1.41421	0	1	0	1	3.414	1.13807	fa
Me-1	Villapampa	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Az-2	Curani	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Az-6	Santiago de Pupuja 2	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Sa-7	Putina	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Hu-9	Yanaoco	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Mo-11	Lacasani	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Pu-15	Coata	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
La-16	Pukara	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Sr-18	Llapuscachi	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Sr-19	Cabana	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Pu-22	Llungo	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Pu-23	Mañazo	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Pu-25	Atuncolla	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
EIC-26	Yunguta	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Ch-27	Challapampa	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f
Ch-28	Chuacasuyo	0	1	0	1	0	1	3.000	1	f

VPN=Virus de la Poliedrosis Nuclear; VG=Virus de la Granulosis

Con el propósito de saber si hay diferencia estadística entre las localidades y los entomopatógenos (VPN, VG y bacterias) encontrados en la zonas Circunlacustre y Suni de la región de Puno se desarrolló el análisis de varianza.

De acuerdo al análisis de varianza para las diferentes localidades que se encontró entomopatógenos (tabla 9), no existen diferencias entre los entomopatógenos encontrados en el año 2017, el resultado nos indica que los diferentes localidades son similares. Para el caso de las dos especies de la familia Baculoviridae y bacterias no existe diferencia estadística significativa indicándonos que el promedio de los entomopatógenos si se distribuyen en forma pareja en las localidades.

**Tabla 9.** Análisis de varianza del total de entomopatógenos recolectados en las localidades de la región de Puno.2017

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
LOCALIDADES	2	2.55	1.27	2.32	0.1041ns
ENTOMOPATOGENOS	2	2.55	1.27	2.32	0.1041ns
ERROR	90	49.43	0.55		
TOTAL	92	51.98			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.

En la (Tabla 9), el valor  $p=0.1041$  del ANOVA sugiere la aceptar la hipótesis de igualdad de medias de entomopatógenos, es decir, que no existen diferencias estadísticamente significativas entre entomopatógenos.

### Total de entomopatógenos en la zona Suni y Circunlacustre

En la (Tabla 10, Figura 28) la prospección del total de la campaña 2016-2017, se colectaron 178 especímenes de entomopatógenos encontrados en la Zona Circunlacustre y la Zona Suni presenta 138 especímenes de entomopatógenos y durante los dos años se colecto 316 larvas que presentaban entomopatógenos.

**Tabla 10.** Total de entomopatógenos en Zona Circunlacustre y Zona Suni.

	Z.CIRCUNLACUSTRE	Z. SUNI
Entomopatogenos2016	76	89
Entomopatógenos 2017	102	49
<b>Total</b>	<b>178</b>	<b>138</b>

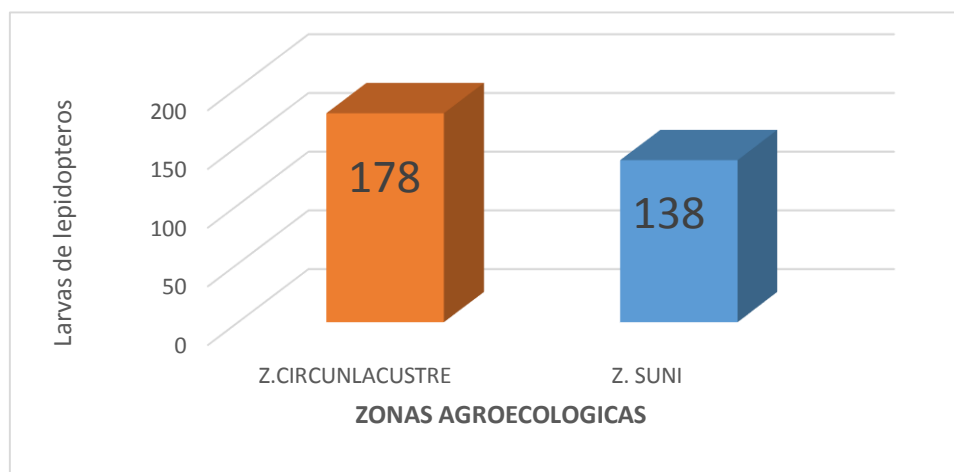


Figura 28. Total de entomopatógenos

En la (Figura 29) se puede observar el total de entomopatógenos colectados en las campañas agrícolas del 2016-2017. En la cual se recolecto 198 Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) ,75 Virus de la Granulosis (VG) y 43 Bacterias.

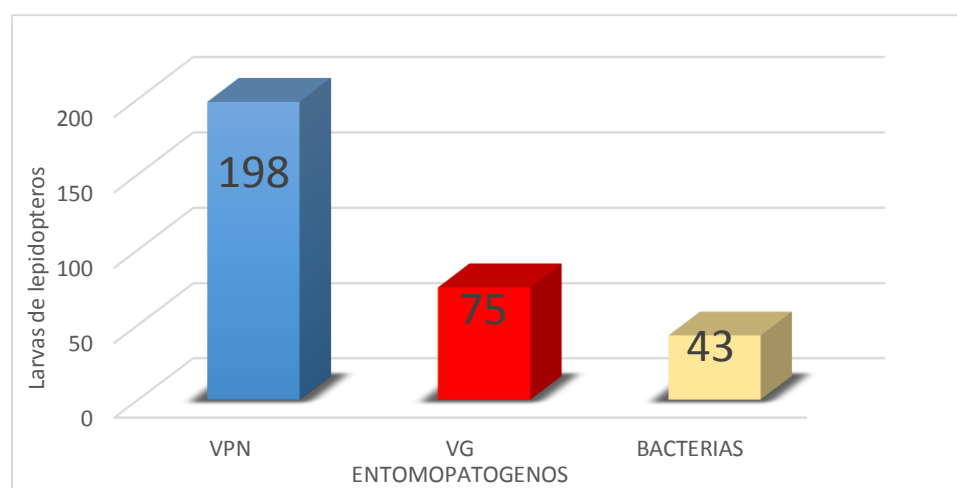


Figura 29. Total de larvas colectadas en campañas agrícolas 2015-2016 y 2016-2017 en la Region de Puno

Colecta de larvas de entomopatógenos en las campañas 2015-2016 y 2016-2017 se colectaron un total 13 877 larvas de lepidópteros de las cuales 316 son entomopatógenos, las cantidades muestreadas son cercanas al estudio realizados por Gómez et al., (2002) en donde realizaron cinco muestreos de larvas de *S. frugiperda* donde recolectaron 2.140 larvas en los tres departamentos de las cuales solo encontraron 58 entomopatógenos 43 de VPN y 15 de VG.

**4.3. Determinar la incidencia de la patógenicidad de los entomopatógenos en larvas de lepidópteros en el cultivo de quinua en la región de Puno.**

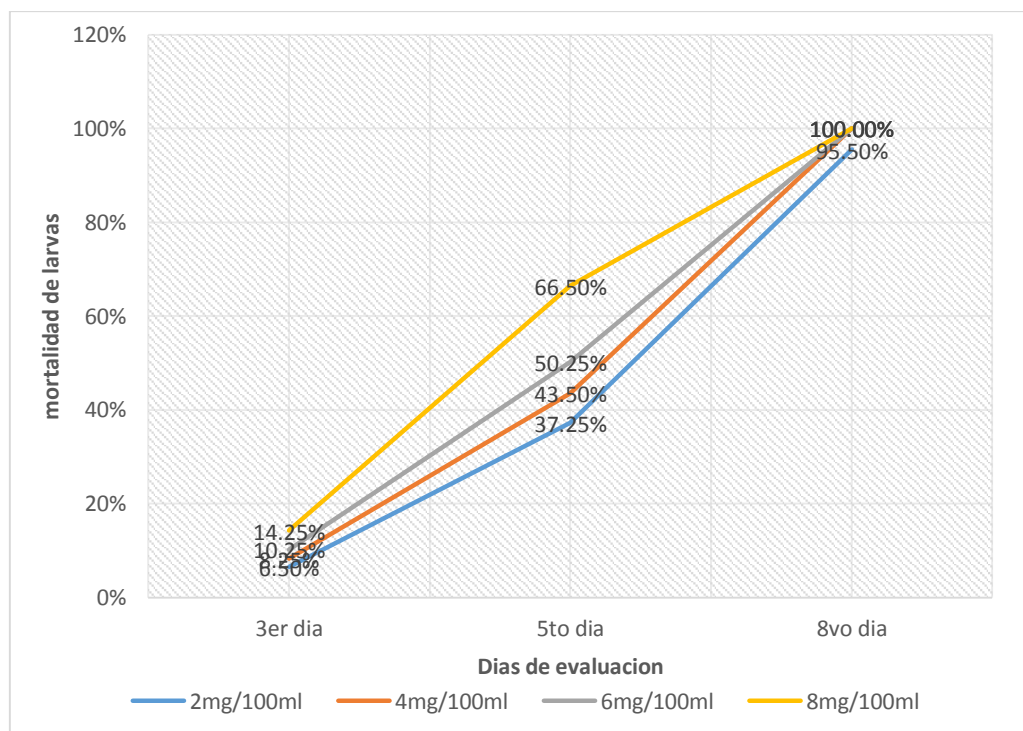
Los porcentajes de mortalidad calculados para, 3<sup>er</sup>, 4<sup>to</sup>, 5<sup>to</sup>, 6<sup>to</sup>, 7<sup>mo</sup> y 8<sup>vo</sup> día, la aplicación de los tratamientos se presentan en la (Tabla 11). De acuerdo a este cuadro el mayor porcentaje de mortalidad promedio que se registro fue él 7<sup>mo</sup> día fue con la dosis de 8mg/100ml, se llegó a un promedio 100.00% de mortalidad, le sigue la dosis de 6mg/ml con 94.5% y después se ubican las dosis de 4mg/100ml, 2mg/100 con 66.25%, 58.25% respectivamente.

*Tabla 11. Promedio general del porcentaje de mortalidad de larvas de E. quinoa. Bajo diferentes dosis de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) en la región de Puno 2017.*

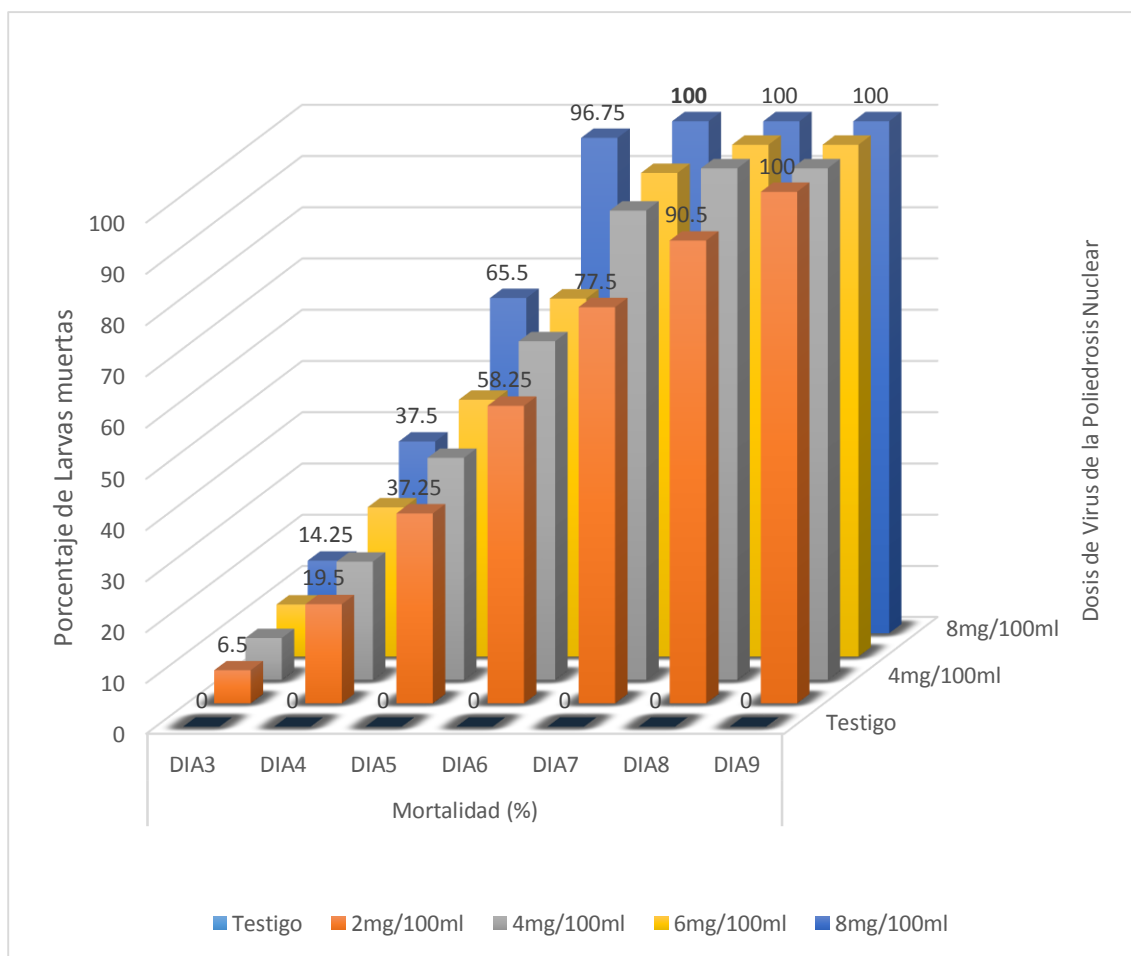
Dosis (mg/100ml)	Mortalidad (%)						
	DIA3	DIA4	DIA5	DIA6	DIA7	DIA8	DIA9
2mg/100ml	6.5	19.5	37.25	58.25	77.5	90.5	100
4mg/100ml	8.25	23.25	43.5	66.25	91.75	100	100
6mg/100ml	10.25	29.25	50.25	70	94.5	100	100
8mg/100ml	14.25	37.5	65.5	96.75	100	100	100
Testigo	0	0	0	0	0	0	0

El cuadro resultados encontrados bajo aplicación de 4 dosis de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN), en donde se observa que estas causan mortalidad larval *Eurysacca quinoa* en 100% en el 7<sup>mo</sup> día.

En la (Figura 30), se muestra el comportamiento de las diferentes dosis suministradas a las larvas de *E. quinoa*. A través de los días, desde el 3<sup>er</sup> día después de la aplicación hasta el 8<sup>vo</sup> día.



*Figura 30. Tiempo después de la aplicación de las diferentes dosis de VPN en la región de Puno 2017.*



**Figura 31.** Mortalidad de larvas de *E. quinoa* bajo diferentes dosis de VPN en la región de Puno 2017.

La presente (Figura 31) explica visualmente el porcentaje de mortalidad larval que ocasiona las 4 dosis de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) por día. El testigo durante los días evaluados no se registró muerte y en el lapso de los días posteriores comenzaron a empupar.

**Mortalidad larval de *E. quinoae* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 3<sup>er</sup> día de tratamiento.**

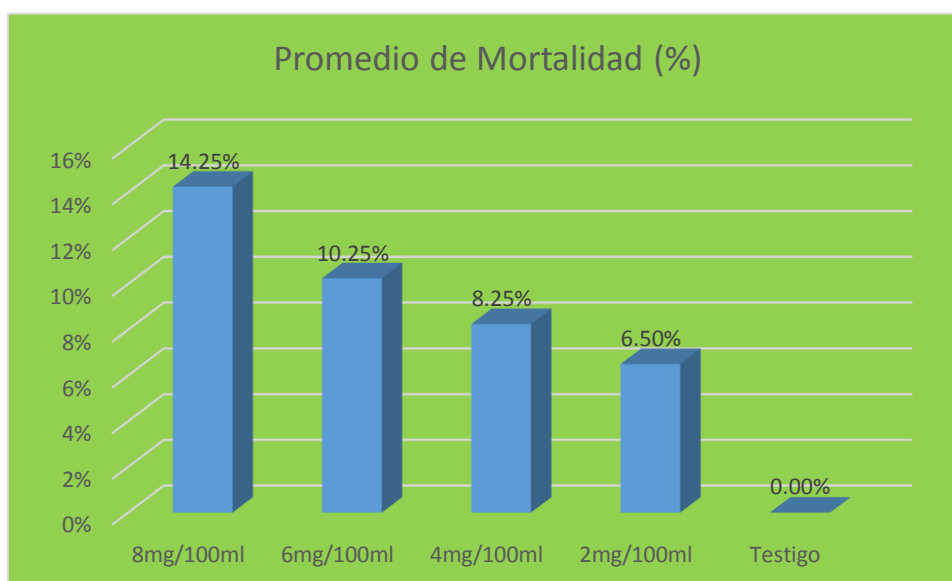
La aplicación del (VPN) en cuatro dosis se observa claramente que la que las dosis suministradas causan mortalidad a partir del tercer día después de la aplicación, con una mortalidad significativamente alta que las otras dosis y el testigo. Siendo la dosis 8mg/100ml (Tabla 12), la más significativa se obtuvo un promedio de 14.25% de mortalidad larval contra el 6.5% que ocurrió en 2mg/100ml., de acuerdo a la prueba de Tukey las otras dosis y entre el testigo no presentan diferencias significativas.

**Tabla 12.** Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de *E. quinoea* bajo diferentes dosis de VPN al 3er día en la región de Puno 2017.

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 3er día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	14.25	A
6mg/100ml	10.25	B
4mg/100ml	8.25	C
2mg/100ml	6.50	D
Testigo	0.00	E

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

La concentración de 8mg/100ml presentando la mayor mortalidad en relación a los otros tratamientos, la mayoría de los tratamientos al quinto día sobrepasan el 6.50% de mortalidades en larvas de *Eurysacca* sp del instar III. Observamos también que el testigo continuo con una mortalidad del 0%. (Figura 32).



**Figura 32.** Mortalidad de larvas de *E. quinoea* al 3er día en la región de Puno 2017.

En el 3<sup>er</sup> día se produjeron las mortalidades. Se logró observar también los síntomas de la enfermedad, las cuales fueron pérdida de apetito a los pocos días de la ingestión y en algunos se observa también la falta de movimientos; síntomas que también fueron ya descritos por (Alves, 1986).

### **Mortalidad larval de *E.quinoae* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 4<sup>to</sup> día de tratamiento.**

El coeficiente de variación fue de 3.81%, nos indica que el manejo de las unidades experimentales tuvo un buen manejo y podemos decir que los datos son confiables, lo que puede afirmarse de manera general es que uno de las dosis es más eficiente que las demás al 4to día después de la aplicación.

En la (Tabla 13), nos muestra que la concentración de 8mg/100ml continua siendo el tratamiento con un alto porcentaje de mortalidad obteniendo un 37.50%, seguida de la concentración de 6mg/ml que alcanzo un 29.25% de mortalidad y la dosis menor de 4mg/100ml alcanzo 23.25% de mortalidad y observamos que el testigo continua mostrando una mortalidad del 0%

*Tabla 13. Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de E. quinoea bajo diferentes dosis de VPN. Al 4to día en la región de Puno 2017.*

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 4to día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	37.50	A
6mg/100ml	29.50	B
4mg/100ml	23.25	C
2mg/100ml	19.50	C
Testigo	0.00	D

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

De acuerdo al análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre las dosis y un coeficiente de variabilidad del 5.88%

Al realizarla prueba de significancia de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) se ha observado que el tratamiento de 8mg/100ml es más significativa que la dosis de 6mg/100ml. Sin embargo la dosis de 2mg/100ml y la de 4mg/100ml muestran similar mortalidad considerando ambos similares estadísticamente ( $\alpha=0.05$ ). El testigo resulto significativamente diferente frente a los tratamientos (Figura 33).

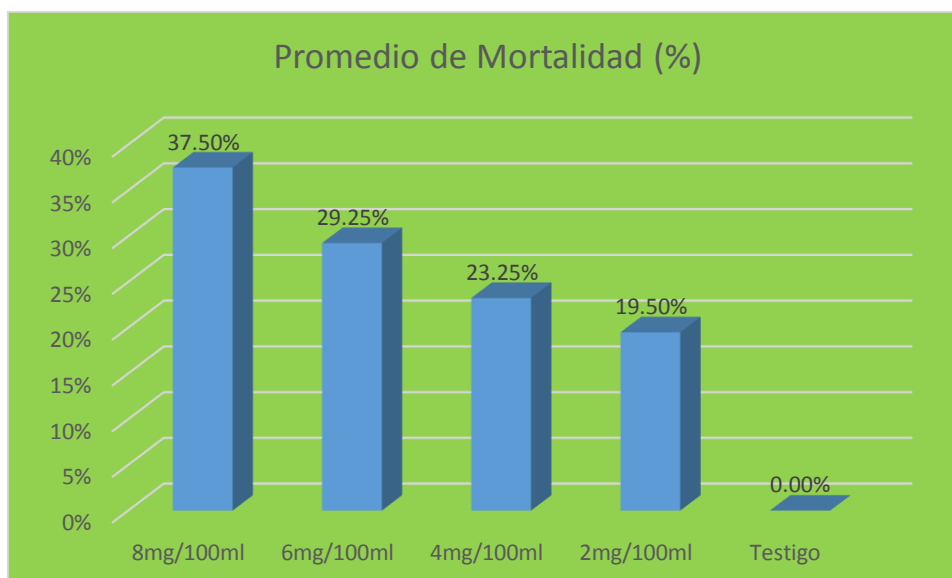


Figura 33. Promedio de Mortalidad al 4to día en la región de Puno 2017.

En este día los síntomas mencionados anteriormente son más notorios, la coloración pierde el brillo natural, se torna opaca y a la vez oscura. Con respecto a la pérdida de movilidad (Alves, 1989), manifiesta que esto se debe a que la larva una vez que ha ingerido el alimento tratado, ocurre ciertos disturbios en el sistema digestivo, ocurriéndose así una parálisis por invasión del patógeno hacia las cavidades del cuerpo, en donde el (VPN) comienza a multiplicarse causando la muerte de la larva, esta observación es similar a lo reportado por (Puerta, 1991)

#### **Mortalidad larval de *E. quinoae*. Producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 5<sup>to</sup> día de tratamiento**

En el 5<sup>to</sup> día, la dosis de 8mg/100ml., continua siendo la más efectiva con un 65.50% de mortalidad, lo cual se confirma con el ANVA y la prueba de Tukey, siendo esta la dosis más significativa que las demás, en embargo la dosis 6mg/100ml y 4mg/100ml. Muestran similar mortalidad que la dosis mayor considerándose ambos similares estadísticamente ( $\alpha=0.0005$ ) la dosis de 2mg/100ml. Resulto también significativo comparando con el testigo (Tabla 14).

Al realizarla prueba de significancia de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), se ha observado que el tratamiento de 8mg/100ml es más significativa que la dosis de 6mg/100ml. Sin embargo la dosis de 4mg/100ml y la de 2mg/100ml muestran similar mortalidad considerando ambos similares estadísticamente ( $\alpha=0.05$ ). El testigo resulto significativamente diferente frente a los tratamientos. Estudio realizados (Zeddám 2004)

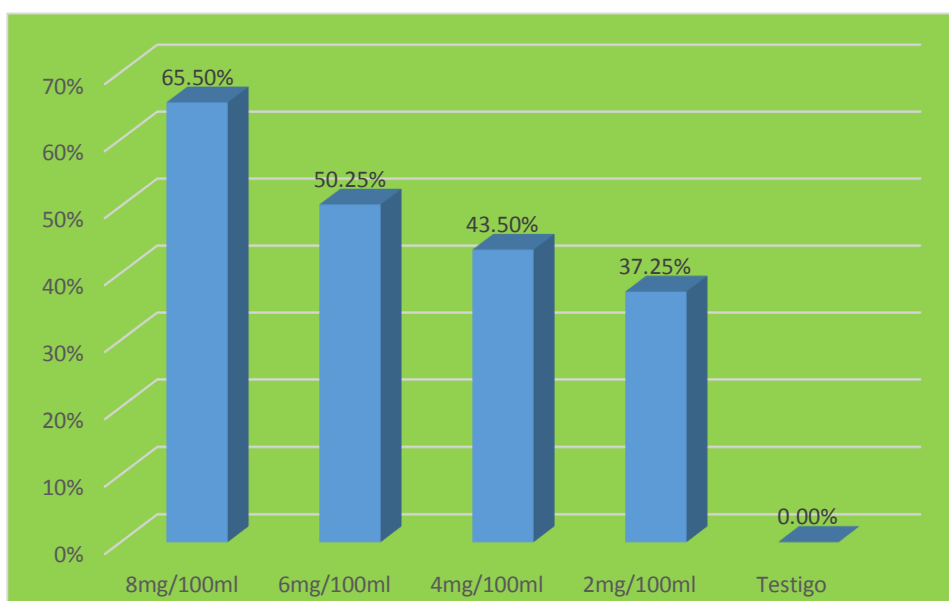


**Tabla 14.** Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de *E. quinocia* bajo diferentes dosis de VPN al 5to día en la región de Puno 2017.

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 5to día(%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	65.50	A
6mg/100ml	50.25	B
4mg/100ml	43.50	BC
2mg/100ml	37.25	C
Testigo	0.00	D

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Al realizarla prueba de significancia de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) se ha observado que el tratamiento de 8mg/100ml es más significativa que la dosis de 6mg/100ml. Sin embargo la dosis de 2mg/100ml y la de 4mg/100ml muestran similar mortalidad considerando ambos similares estadísticamente ( $\alpha=0.0005$ ). El testigo no presenta mortalidad la que se mantiene en 0%. (Figura 34).



**Figura 34.** Promedio de Mortalidad al 5to día en la región de Puno 2017.

Comparado con lo mencionado por Gómez (2004), La mortalidad de las larvas se vio afectada por la concentración viral utilizada y los valores de concentración letal media (CL50) oscilaron entre  $1,5 \times 10^5$  CI/ml y  $7 \times 10^5$  CI/ml. La comparación entre los límites (95%) tanto de la concentración como de la potencia relativa indicó que no existen diferencias significativas entre la patogenicidad de los tres aislamientos virales.

**Mortalidad larval de *E.quinoae* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 6<sup>to</sup> día de tratamiento**

En el 6to día los porcentajes de mortalidad (Tabla 15), es altamente significativa, aumentaron considerablemente para la dosis de 8mg/100ml con mortalidad de 96.75% sobre las larvas, a diferencia a las demás no existe diferencia significativa, sim embargo son similares lo que ocurrió al 5to día.

Tabla 15. Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de *E. quinoea* bajo diferentes dosis de VPN al 6to día en la región de Puno 2017.

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 6to día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	96.75	A
6mg/100ml	70.00	B
4mg/100ml	66.25	B
2mg/100ml	58.25	B
Testigo	0.00	C

Muestran similar mortalidad que la dosis mayor considerándose ambos similares estadísticamente ( $\alpha=0.0005$ ) la dosis de 2mg/100ml. Resulto también significativo comparando con el testigo.

Al realizar la prueba de significancia de Tukey, se ha observado que los tratamiento de 8mg/100ml, es la que muestra mayor significancia estadísticamente, las dosis 6mg/100ml, 4mg/100ml muestran similar mortalidad considerándose a los tres tratamientos similares estadísticamente, el testigo no manifestó diferencia significativa con los tratamientos aplicados en las larvas de *E.quinoea*. (Figura 35).

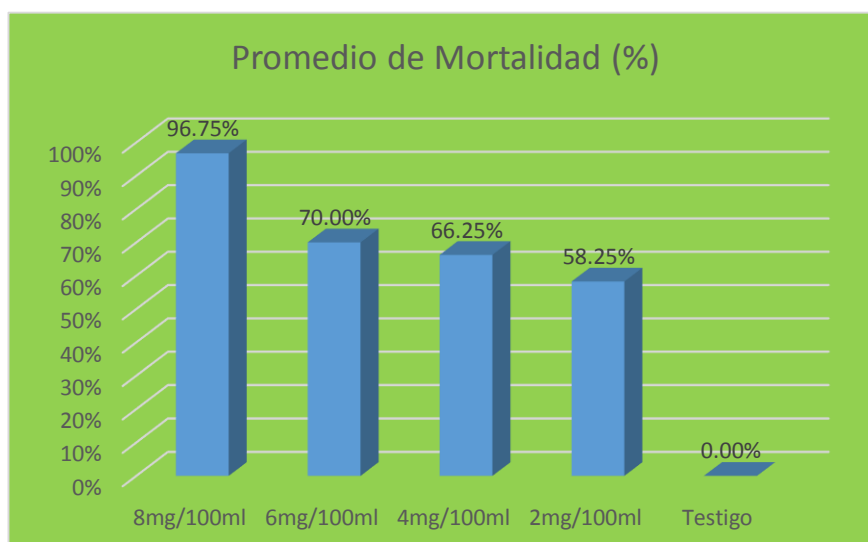


Figura 35. Promedio de Mortalidad al 6to día en la región de Puno 2017.

**Mortalidad larval de *E.quinoae* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 7<sup>mo</sup> día de tratamiento.**

En la muestra que la concentración de 8mg/100ml (Tabla 16), continua siendo el tratamiento con un alto porcentaje de mortalidad obteniendo un 100%, seguida de la concentración de 6mg/ml que alcanzo un 94.50% de mortalidad y la dosis menor de 4mg/100ml alcanzo 91.75% de mortalidad y 2mg/100ml presenta 77.50%, observamos que el testigo continua mostrando una mortalidad del 0%.

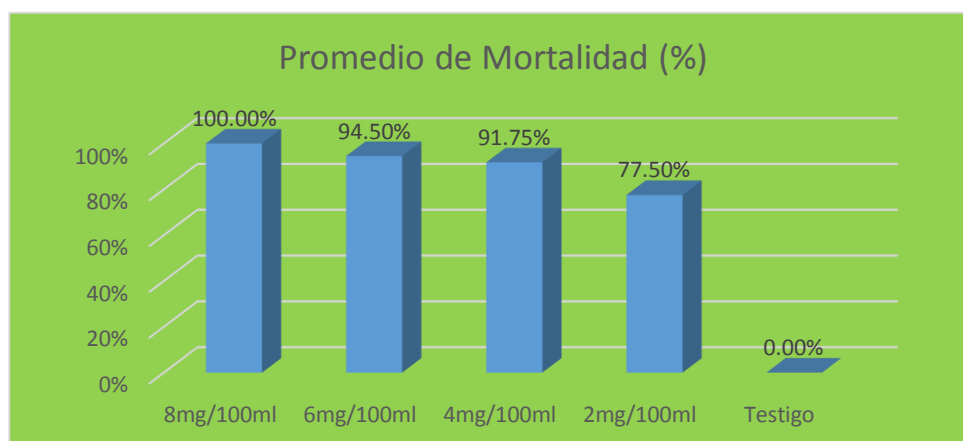
Con los resultados obtenidos concuerda lo mencionado con (Valicente y Cruz, 1991) menciona que en cuanto al tiempo letal medio de NeelV1, es parecido al Virus de Poliedrosis Nuclear brasilero, aislado de una larva de *S. frugiperda* encontrado en Brasil; cuyos estudios indican un periodo de mortalidad es de 7 a 12 días después que la larva del III estadio ingiere el virus.

*Tabla 16. Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de E. quinoea bajo diferentes dosis de VPN al 7mo día en la región de Puno 2017.*

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 7mo día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	100.00	A
6mg/100ml	94.50	B
4mg/100ml	91.75	B
2mg/100ml	77.50	C
Testigo	0.00	D

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Al realizarla prueba de significancia de Tukey (Figura 36), se ha observado que el tratamiento de 8mg/100ml es más significativa que las demás dosis, la dosis de 6mg/100ml. Y 4mg/100ml nos muestra que tienen similar mortalidad considerando ambos son similares estadísticamente ( $\alpha=0.05$ ). El testigo resulto significativamente diferente frente a los tratamientos. En el 7<sup>mo</sup> día se produjeron las mortalidades. Se logró observar también los síntomas de la enfermedad, las cuales fueron pérdida de apetito a los pocos días de la ingestión y en algunos se observa también la falta de movimientos; síntomas que también fueron ya descritos por (Alves, 1986).



*Figura 36. Promedio de Mortalidad al 7mo día en la región de Puno 2017.*

**Mortalidad larval de *E. quinoa* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 8<sup>vo</sup> día de tratamiento.**

En la muestra que la concentración de 8mg/100ml, 6mg/ml y 4mg/100ml (Tabla 17) lograron un alto porcentaje de mortalidad obteniendo un 100%, seguida de la concentración de 2mg/ml que alcanzo un 90.50% de mortalidad y observamos que el testigo continua mostrando una mortalidad del 0%

De acuerdo al análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre los tratamientos y un coeficiente de variabilidad del 3.25

*Tabla 17. Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de E. quinoa bajo diferentes dosis de VPN al 8vo día en la región de Puno 2017.*

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 8vo día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	100.00	A
6mg/100ml	100.00	A
4mg/100ml	100.00	A
2mg/100ml	90.50	B
Testigo	0.00	C

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Al realizarla prueba de significancia de Tukey (Figura 37), se ha observado que el tratamiento de 8mg/100ml, 6mg/ml y 4mg/100ml tienen igual mortalidad y la dosis más significativa es 2mg/100ml con una mortalidad de 90.5% considerando que no es similar a los demás dosis estadísticamente ( $\alpha=0.05$ ).



*Figura 37. Promedio de mortalidad al 8vo día en la región de Puno 2017.*

### Mortalidad larval de *E.quinoea* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 9<sup>no</sup> día de tratamiento.

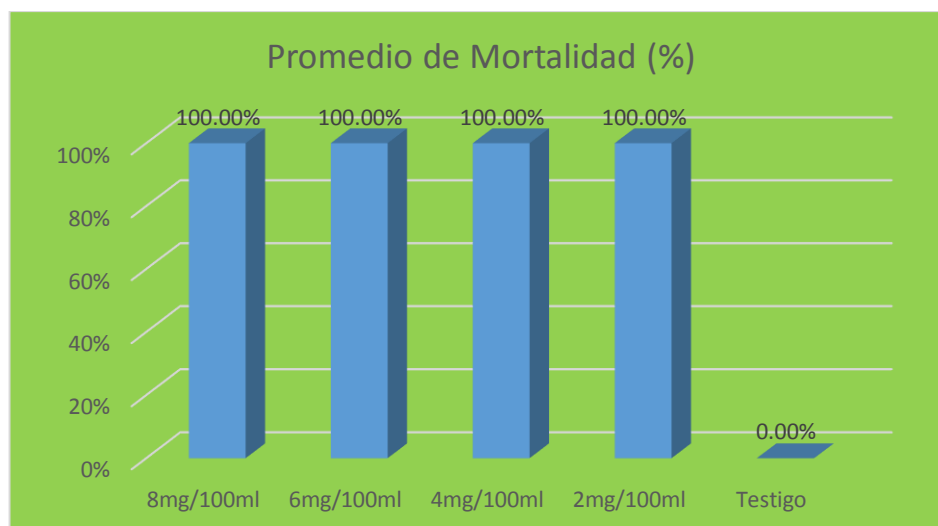
En el 9no día las cuatro dosis lograron un 100% (Tabla 18), de mortalidad larval contra un 0% ocurrida en el testigo, siendo el 9<sup>no</sup> día que ya no existen diferencias estadísticamente significativas entre las dosis. Cabe resaltar que en este día las larvas quedan totalmente flácidas y con ligero rompimiento en el tegumento.

**Tabla 18.** Prueba de significancia de Tukey para la mortalidad de larvas de *E. quinoea* bajo diferentes dosis de VPN al 9no día en la región de Puno 2017.

Tratamientos	Promedio de mortalidad al 9no día (%)	Prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ )
8mg/100ml	100.00	A
6mg/100ml	100.00	A
4mg/100ml	100.00	A
2mg/100ml	100.00	A
Testigo	0.00	B

Promedio de mortalidades con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Es de suponer que la dosis recomendado es la de 8mg/100ml.(Figura 38).Pero especialmente cuando las poblaciones de *E.quinoea* están muy elevadas y se requiere reprimir esta población rápidamente sim embargo no presenta una relación con lo que menciona Vásquez (2016) muestra una cantidad de 120 larvas por tratamiento. En el tratamiento 1 se observa una cantidad de 58 larvas vivas y 62 muertas, en el tratamiento 2 se encontraron 65 larvas vivas y 55 muertas, por último el tratamiento 3 nos muestra un total de 79 larvas vivas y 41 muertas. Para el tratamiento 1 con 10 gramos de VPN se obtuvo una mortalidad mayor de larvas en comparación con los demás tratamientos.



**Figura 38.** Promedio de mortalidad al 9no día en la región de Puno 2017.

### Evaluación del porcentaje de mortalidad en los 9 días de evaluación a nivel de laboratorio

Como se aprecia en la (Tabla 19) se observa la evolución del porcentaje de mortalidad al tercer, quinto y octavo día de evaluación en el laboratorio después de la aplicación de virus de la poliedrosis nuclear (VPN). Al tercer día de evaluación el mayor porcentaje de mortalidad corresponde al tratamiento de 8mg/100ml con 140.25% y la menor concentración manifestó una mortalidad de 6.5%. Al sexto día de evaluación la más alta mortalidad continua siendo por parte de la concentración de 8mg/100ml con un 66.50% de mortalidad de larvas y la menos a la concentración de 2mg/100ml manifestando una mortalidad de 37.25.0%. En el octavo día de evaluación en el laboratorio la concentración de 8mg/100ml alcanzo el 100% de mortalidad en larvas de *Eurysacca sp* del instar III, a diferencia de la concentración 2mg/100ml que alcanzaron hasta el octavo día mortalidades de 95.5% respectivamente. El testigo no manifestó muertes hasta el noveno día de evaluación

**Tabla 19.** Evaluación del porcentaje de mortalidad de larvas de *E.quinoea* del instar III, bajo diferentes dosis de VPN. en la región de Puno 2017.

		DOSIS				Testigo
		8mg/100ml	6mg/100ml	4mg/100ml	2mg/100ml	
DIA 3	Mortalidad (%)	14.25	10.25	8.25	6.5	0
	Significancia	A	B	C	D	E
DIA 4	Mortalidad (%)	37.5	29.25	23.25	19.5	0
	Significancia	A	B	C	C	D
DIA 5	Mortalidad (%)	65.5	50.25	43.5	37.25	0
	Significancia	A	B	B	C	D
DIA 6	Mortalidad (%)	96.75	70	66.25	58.25	0
	Significancia	A	B	B	B	C
DIA 7	Mortalidad (%)	100	94.5	91.75	77.5	0
	Significancia	A	B	B	C	D
DIA 8	Mortalidad (%)	100	100	100	90.5	0
	Significancia	A	A	A	B	C
DIA 9	Mortalidad (%)	100	100	100	100	0
	Significancia	A	A	A	A	B

La concentración de 8mg/100ml presenta en todas la evaluaciones el mayor porcentaje de mortalidad, probablemente porque tuvo mayor material vírico o cuerpos de inclusión, acelerando de esta manera la aparición de síntomas en las larvas de *E.quinoea* del instar III y por consiguiente la muerte de las mismas, como lo demuestra un trabajo realizado por Sant y Silva (1994) que probaron concentraciones de  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ , y  $1 \times 10^7$  obtuvieron el 56.2% por ciento de mortalidad de larvas de *Anticarsia genmatalis* a mayor concentración del virus. Si bien los tratamiento de 2mg/100ml y 4mg/100ml no igualaron el porcentaje de mortalidad provocada por el tratamiento de 8mg/100ml lograron un resultado progresivo el porcentaje de mortalidad demostrando que el VPN (virus de la poliedrosis nuclear) resulta efectivo para el control de *E.quinoae* en cultivos de quinua.

Los resultados de patogenicidad El virus tiene que ser ingerido por la larva ya que empieza a actuar en el sistema digestivo, y luego afecta todos los tejidos de la larva, que muere en aproximadamente unos siete días. Los Nucleopoliedrovirus (Baculovirus) están compuesto por una partícula de ADN, el cual se encuentra envuelto por una capa proteica llamada capsida juntos forman la unidad infectiva llamado virión los cuales están rodeado por una matriz proteica y forman el conjunto conocido como cuerpos de inclusión poliédrico. Estos virus se multiplican en el núcleo de la célula, sus viriones tienen forma de Bastón, y cada cuerpo de inclusión tiene muchos viriones en su interior. La proteína que envuelve a los viriones (polyedrina), y que constituye el cuerpo de inclusión tiene forma poliédrica, y de ahí surge el nombre de virus de la poliedrosis. (David. 1975).

En las revisiones de literatura se señala que los virus no actúan de inmediato, sin embargo para nuestro caso mortalidad de VPN se hizo presente de 3er y al 9 día llegando al 100% de mortalidad, según Leucona (1995) la tasa de mortalidad se presenta alta después de haber inoculado la larva a través de la dieta, bajo condiciones de laboratorio. Esto nos muestra que bajo condiciones controladas estamos frente a un virus altamente virulento.

Es de suma importancia trabajar con la mínima concentración en la cual se mata el 50 % de la población considerada plaga en el menor tiempo posible, ya que la multiplicación viral del agente patógeno es por metodología in vivo, en la cual la eficiencia del uso tanto del material de crianza masiva como del inóculo es limitado (Ugine *et. al.*, 2005).

Wen y Tang(2006), señalan que la efectividad de un agente de biocontrol depende de dos factores: su capacidad de matar (patogenicidad y virulencia) y la habilidad de reproducirse en su hospedero (incrementar su acción de matar); en términos ecológicos, sus respuestas numéricas y funcionales, lo que se cumpliría en este caso. Sin embargo hay que tomar en cuenta que el patógeno más exitoso no es aquel que ocasiona un gran daño o la muerte del hospedero, lo que conduce a su propia extinción, sino el que pueda desarrollarse hacia formas menos agresivas. Para entender mejor la interacción patógeno-hospedero, algunos interrogantes fundamentales relacionados con adquisición viral y multiplicación en el intestino medio del insecto deben considerarse para tener una eficiente respuesta en cuanto al efecto esperado de matar la mayor cantidad poblacional en el menor tiempo posible.

## V. CONCLUSIONES

- Se encontró una mayor cantidad de entomopatógenos en las Provincias de Azángaro, Putina, San Román, Huancané, Yunguyo y Puno.
- Se registró un total de 198 Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN) ,75 Virus de la Granulosis (VG) y 43 Bacterias.
- La mayor cantidad de entomopatógenos se recolecto en la Zona Circunlacustre y en la Zona Suni menor cantidad.
- Los virus entomopatógenos encontrados, lo que permite concluir que se trata de especies muy diferentes. Estos resultados abren nuevas perspectivas en cuanto a la posibilidad de mejorar el control biológico de la plaga.
- Se reportó 3 microorganismos patógenos de lepidópteros plaga del cultivo de quinua, dos virus pertenecen a la familia Baculoviridae y una bacteria del genero *B. thuringiensis*.
- Los virus entomopatógenos se expresa su patogenicidad en la familia Noctuidae y el *Bacillus thuringiensis* en *E. quinoae*.
- La dosis VPN de 8mg/100ml es el tratamiento más eficiente en producir la mortalidad de larvas de lepidópteros produciendo el 100% al 7mo día en comparación con las demás dosis que produce la mortalidad.
- Todas las dosis son efectivas porque se reportó mortalidad en todos los tratamientos al 3er día después de su aplicación.
- Los virus tienen una alta especificidad, patogenicidad y virulencia que los hace muy efectivos como agentes de control y muy seguros para otros organismos presentes en los cultivos
- Los baculovirus ofrecen una alternativa importante al control químico para el manejo de una diversidad de plagas, sobre todo las larvas de lepidópteros. Los baculovirus se pueden emplear en una variedad de cultivos.
- Los aportes realizados en este trabajo sirven de base para futuras evaluaciones comparativas.



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de patogenicidad en laboratorio y en campo por las condiciones ambientales siempre tienden a variar.
- Desarrollar un programa de control biológico mediante el incremento de inóculo de los dos virus y Bacterias usando especímenes larvales también sería posible su cría, probarlo en (*Galeria mellonella*).
- Probar la efectividad en el control de larvas del primer instar de la polilla de la quina en condiciones de laboratorio y campo, con estudios de agresividad y virulencia usando los virus y bacterias encontrados.
- Conociendo que los baculovirus son una excelente alternativa para el control, ya que además de sus ventajas mencionadas pueden llegar a establecerse en el cultivo, es necesario implementar estrategias de multiplicación diferentes a la multiplicación in vivo que permitan mantener cantidades suficientes de virus para el momento en que llegue la plaga.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ángeles I; Alcázar, J . 1995 . Susceptibilidad de la polilla *Phthorimaea operculella* al virus PoGV. *Revista Peruana de Entomología* 38: 71-76.
- Alves, S. B. 1986. Controle microbiano de insetos. 1° Edición. Editora Manole Ltda. San Pablo, Brasil. 407 pp. Alves, S. B. 1998. Editor. Controle microbiano de insetos. 2° Edición. Fundación de Estudos Agrarios Luiz de Queiroz-FEALQ. Piracicaba, Brasil. 1163 pp.
- Allaway, G. 1983. Virus particle packaging in baculovirus and cytoplasmic polyhedrosis virus inclusion bodies. *J. Invertebr. Pathol.* 42:357–368.
- Agudelo, F., Romano, M.; Wassink, H. & Cuello de Uzcategui, R. 1983. Una poliedrosis de *Spodoptera frugiperda* en Venezuela. *Turrialba* 33(3): 219-22.
- Apaza, V. y P. Delgado. 2005. Manejo y Mejoramiento de Quinua Orgánica. Serie Manual N° 01-2005. UTAE-EEIP-INIA. 150 pp
- Andrewartha, H.G. 1973. Introduccion al estudio de poblaciones animals. Edit. Alambra S.A. Madrid, Espana. 332 pp.
- Avalos, F. 1996. Ciclo biológico, fluctuación poblacional e identificación de la kcona kcona, plaga del cultivo de la quinua. Tesis para Lic. Ing. Agro. La Paz – Bolivia. Facultad de Agronomía, UMSA. 69 – 77 P.
- Anonimo. (2003). Produccion viral y tasas de aplicacion del granulovirus usado para el control biologico de las polillas de la papa por *Phthorimaea operculella* y *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelichiidae) Plagas. *EC. Universidad Catolica*, p659-667.
- Belda, E., Marisol, A., Escribano, J., Rapallo, S., & Caballero, P. (2009). El nucleopoliedrovirus (VPNSe) en el control de *Spodoptera exigua*. *Bol.San.Veg.Plagas*, 619-628.
- Bianchi, F. 2001. *Process-bassed modeling of the control of beet armyworm*. Wageningen Universiteit.
- Boning, B., & Hammock, B. (1996). *Development of recombinan baculoviruses for insect control*. *Annual Review of Entomology*. Estados unidos.
- Borges, Maracajá, P., Vargas Osuna, E. & Álvarez, C. 2000. Actividad biológica de un virus de la Poliedrosis Nuclear en *Heliothis armigera* y *Spodoptera exigua*. *Informes de Investigación – RMIP N° 55*. 4 p.
- Calsada, B. (1996) *Métodos Estadísticos para la Investigación*. Editorial Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú. 643 p.
- Calero, E. (2007). El cultivo de Maiz en el ecuador. *Poligrafica, Guayaquil - Ecuador*, 59.

- Castillo, P.; Acosta, N.; Ciliézar, A. 1995. Control microbiológico de plagas artrópodos. In: Manual para la Enseñanza del Control Biológico en América Latina. Ed. by Cave, R. D. El Zamorano, Hond. Zamorano Academic Press, 13 p
- Cardeño, A. (2001). *Fundamentos de Control Biológico de plagas*. Medellín - Colombia: Universidad Nacional de Medellín .
- Calderón, A. 1991. Ocurrencia estacional de noctuidos y su importancia económica en papa. Tesis Lic. Biol. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú. 100 pp.
- Carrasco, D. (2006). *Metodología de la Investigación Científica. Primera reimpression*. Lima - Perú: San Marcos.
- Carreño, I. (2003). Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca . Bogota - Colombia.
- Castaño, Zapata, J. 1994. Principios básicos de fitopatología. 2da. Edición. Zamorano Academic press. Zamorano, Honduras. 538p
- Charaja Cutipa, F. (2011). *El mapic en la Metodología de la Investigación*. Puno.
- Cory, J., & Bishop, D. (1995). *Use of baculoviruses as biological insecticides*. In C. Richardson (Ed) *Baculovirus expression protocols* Humana Press. Totowa-USA.
- David, W. (1975). *The status of virusis phatogenic for insect and mites*.
- Delgado, P. (1989). *Determincaion taxonomica y porcentaje de parasitismo de insectos beneficios sobre Eurisacca melanocampta Meyrick "Kcona Kcona" en quinua*. Tesis Lic. Biol. . Puno - Perú: Universidad Nacional del Altiplano.
- Delgado, P. (2012). *Tecnología de producción de quinua para el mercado interno y extremo*. Lima - Perú: Instituto Nacional de Innovación Agraria.
- Dennehy, J., Friedmberg, N., Holt, R., & Turner, P. (2006). Viral ecology and the maintenance of novel host use. . *The American Naturalist.*, 49-439.
- Diez, S., & Lorenzatti, G. (1986). *Presencia de virus de poliedrosis nuclear y de granulosis en poblaciones de Spodoptera frugipeda atacando soja en el área de la EEA Ol.* . Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Argentina.
- Doerfler, W., & Bohm, N. (1986). The molecular biology of Baculoviruses. *Springer - Verlag*, 168.
- Elosegui, C. (2006). Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de Investigaciones. *INISAV*, 61.
- Entwistle, P., & Evans, H. (1985). *Viral control*. In *Comprehensive Insect Fisiology. Biochemistry and farmacology Gilbert* (Vol. 12). Oxford, Pergamon Press.
- Faulkner, P., & Boucias, D. (1985). Genetic improvement of insect pathogens: Emphasis on the use of Baculovirus. *Academic Press Inc.*, 263 - 281.

- Fuxa, J.R.. 2004, ecology of insect nucleopolyhedrovirus. *Agric. Ecosyst. Env* 103:27-43.
- Gherna, R.L (1994). Culture Preservation, p 278-292 In P.Gerhardt R. G. E Murray, W. A. Wood, and N. R. Krieg (ed) . *Methods for General and Molecular bacteriology*. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
- Gallo, D; Nakano, O; Silveira, S. (1988). *Manual de entomología Agrícola*. 2da edición. Editora Agronómica "CERES" LTDA. Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo. Departamento de entomología. São Paulo-Brasil.
- Granadillas, A. 1979. Nueva estructura de generación y transferencia de tecnología en quinua en Bolivia, en *Memorias primer taller internacional sobre quinua*, La Molina Lima Perú, pp. 315, 317.
- Genty, P. (1972). *Morfologie at biologie de sibine fusca toll, lepidoptere defoliateur du palmier a huile. Oleagineus*, 65-75.
- Gerk, A. O., Kitajima, E. e Souza, M. 1997. Identificacao e caracterizacao de isolado brasileiro do Virus de Poliedrose Nuclear da lagarta do cartucho do milho. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26(3):507-515.
- Gomez, G., Guevara, E., & Barrera, G. (2002). Aislamiento Identificacion y Caracterizacion de Nucleopoliedrovirus Nativos de Spodoptera y Frugiperda.
- Guiars, R., Beserra, E., Alvares, S., & Vargas , E. (2004). *Agroecologia de Plagas Tropicales CATIE Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia*. Costa Rica.
- Hall, I. (1968). *El uso de microorganismos en el control biologico en DeBACH,P. Control biologico de plagas de insectos y malas hierbas* . MEXICO: Continental.
- Herniou, E., Olszewki, J., Cory, J., O'relly, D., & Cory, S. (2004). Acient coevolution of Baculoviruses and their insect hosts. *Journal of Virology*, 3244-3251.
- Ijkeli, W. (2001). *The genome of Spodoptera frugiperda exiguamulticapsta nucleopolyhedrovirus a study on unique feature* . Thesis Wageningen University.
- Keller, S.1987. Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland , 1. Conidi obolus, Entomophaga and Entomophthora . *Sydowia* 4 0: 122 - 167 .
- Laarif, A., S. Fattouch, W. Essid, N. Marzouki, H. Ben Salah and M. Ben Hammouda. 2003. Epidemiological survey of Phthorimaea operculella granulosis virus in Tunisia. *Bulletin OEPP/EPPO* 37: 335-338.
- Luna, C., Cabrera, J., Pinedo, E., Pinto, D., & Zedda, J. (2002). *Nucleopoliedrovirus para control de Spodoptera frugiperda en la zona de Chinchagua, Manejo integrado de plagas*. Chinchagua - Costa Rica.
- MINAGRI (Ministerio de agricultura y riego). *Ficha técnica de Quinua* ; (2010). Disponible en quiua minagri. Pdf. Accesado el 12 de Abril del 2014.
- Miller, K., & Friesen, P. (1996). *Insect Viruses In: D Knipe;P. Howley.(EDS)Fields virology.Lippincott Williams*. Philadelphia - USA.
- Mendoza, P. y P. Delgado. 2004. Polilla de la quinua en el departamento de Puno.

- Revista ILLPA de la Estación Experimental Illpa, Puno. Año 3. N° 9. pp 10-13.
- Morales, J. (2010). *Daños ocasionados por Spodoptera frugiperda en el cultivo de maíz*. Obtenido de [www.agronet.gov.co/gusanocogollero](http://www.agronet.gov.co/gusanocogollero).
- Moscardi, F. (1999). Assessment of application of baculovirus for control of Lepidoptera. *ENTOMOLOGIA*, 44:257-289.
- Mujica A., Ortiz R., Bonifacio A., Saravia R., Corredor G., Romero A., Jacobsen S. 2006. Agroindustria de la quinua, Puno Perú, 9– 10 p.
- Murphy, F., Fauquet, C., Bishop, D., Ghabrial, A., Jarvis, G., Martelli, M., & Summers, M. (1995). *Virus taxonomy, Classification and nomenclature of viruses*. Austria: 6th report, Springer - Verlag Ed.
- Nicholls, C. (2008). *Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico*. Medellín - Colombia.
- Ochoa, R. y Franco, J. 2013. Morfología y biología de la polilla de la quinua *Eurysacca melanocampta* Meyrick, 1917, (Lepidóptera: Gelechiidae), de Cusco (Perú). *Bioma* feb. 2013: 1-3 p.
- Ortiz, R., Danielsen, S., Ames, T., & Castro, A. (2004). *Plagas y enfermedades. Quinua. Ancestral cultivo andino, Alimento del presente y futuro*. Montpellier - Francia: BAZILE D.
- Ortiz, R. 1991. Pérdidas ocasionadas por insectos plaga en cultivos andinos: camp.90/91. Convenio FCA/UNA-Proyecto PIWA. Puno, Perú. 10 pp
- Parnell, M., Grzywacz, D., Dones, K., Brown, M., Oduor, G., & Ongaro, J. (2002). The strain variation and virulence of Granulovirus of diamondback moth. *Journal of Invertebrate Pathology*, 192-196.
- Perez J. y Gardey A. Publicado: 2013. Actualizado: 2015. Definicion.de: Definición de prospección (<https://definicion.de/prospeccion/>)
- Povolny, D. 1997. *Eurysacca quinoae* sp.n. a new quinoa feeding species of the tribe Gnorimoschemini (Lepidoptera, Gelechiidae) from Bolivia. *Steenstrupia* 22: 41-43
- Prodasa. (1997). Proyecto de Desarrollo Agropecuario Sostenible en el Altiplano. <http://WWW.idrc.ca/library/documeny/103453>.
- Krebs, CH. 1978. *Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance*. Harper and Row, New Cork, 678 pp.
- Quispe, H. (1979). *Biología y comportamiento del minador pegador de hojas y destructor de panoja Scrobipalpula sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) en quinua*. Tesis Ing. Agron. Universidad Nacional del Altiplano. Puno - Perú.
- Rasmussen, C., Lagnaoui, A., & Delgado, P. (2001). *Phytomyptera sp (Diptera:Tachinidae): An important natural control agent of the quinoa moth Eurisacca quinoae (Lep. Gelechiidae) in the Central Peru*. *Tachinid Times* .14:4-6.

- Richards, A., Matthews, M., & Christian, P. (1998). *Ecological considerations for the environmental impact evaluation of recombinant baculovirus insecticides*. Estados Unidos: Annual Review of Entomology.
- Rodriguez, D. (2000). *Los entomopatógenos en el Manejo Integrado de Plagas*. Corpioca-Bogotá.
- Rogf, F. (2004). *Manejo integrado y enfermedades y control biológico de plagas*. Quito - Ecuador: Proexant.
- Rohroman, G. F. (2008). *Baculovirus Molecular Biology*. Bethesda (MD): National Library of Medicine (USA). USA: National Center for Biotechnology.
- Rubio, V., & Fereres, A. (15 de 01 de 2014). *Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos*. Obtenido de Dpto protección ambiental: [//digital.csi.es/bitstream/10261/13780/1/46.%20Rubio%20and%20fereres,%202005.pdf](http://digital.csi.es/bitstream/10261/13780/1/46.%20Rubio%20and%20fereres,%202005.pdf)
- Saenz; López, J; Galindo, L.2011. Experiencias con nematodos entomopatógenos. CYTED. Bogotá- Colombia.
- Saravia, R.; Quispe, R.; Villca, M.; Lino, V. 2014. Plagas y Enfermedades del cultivo de la quinua. Alternativas del Manejo Integrado del Complejo Noctuídeo. Ed. Saravia, R.; Plata, G.; Gandarilas, A. 2014. Cochabamba, BO, Fundación PROINPA; 45 – 48 p.
- Sanint, 2002. Virus Entomopatógenos (en línea). Consultado 20 feb. 2002. Disponible en: <http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/biocontrol/patogenos/virus.html>
- Sarmiento, J. (1985). Crianza de insectos. Universidad Nacional de la Molina. Lima - Perú.
- Sciocco, A., Berreta, M., Ríos, M.& Quintana, G. 1996. Caracterización de un virus de la poliedrosis nuclear de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). V Siconbiol – Simposio de Controle Biológico. Foz do Iguazú. Brasil. Poster N° 40: 1 p.
- Sosa, M. (2009). Prospección de enemigos naturales del barrenador del fruto de la naranjilla *Neolucina elegantis* (Guenee) de la naranjilla (*Solanum tomentosum*) y evaluación de la incidencia de las plagas en su cultivo. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial . Quito - Ecuador.
- Steinhaus, E. (1968). *Enfermedades microbianas de los insectos*. En DeRACH, P. *control biológico de malas hierbas*. Mexico: Continental CECSA.
- Tapia, M. (1988). Manejo de pastos en zonas andinas de Cajamarca. Cajamarca: Proyecto Piloto de Ecosistemas Andinos.
- Tellez, A., Cruz, M., Mercado, Y., Asaff, A., & Aarana, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Mexico: Revista Mexicana de Micología.*, 30pp 73 - 80.

- Valoy, M., Bruno, M., Prado, F.; González, J. 2011. Insectos asociados a un cultivo de quinoa en Amaicha del Valle, Tucumán, Argentina. *Acta zoológica lilloana* 55 (1): 16– 22, 2011. 16 -20 p.
- Vasquez, j., Zedam H. L. Tresierra A.(2002). CONTROL BIOLÓGICO DEL “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; Noctuidae) CON EL BACULOVIRUS SFVPN, EN QUITOS-PERU.
- Wraight, S., Ramos, M., Avery, P., Jaronski, S., & Vandenberg, J. (2010). Comparative virulence of *Beuveria bassiana* isolates against lepidoptera pest of vegetable crops. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(3):186-199.
- Zanabria, E. y M. Banegas.1997. Entomología económica sostenible. Aquarium Impresiones y Editores. Puno, Perú. 201 p.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical analysis*. New Jersey. 523 : Cuarta edición. Prentice Hall.
- Zeddám, J., Carrera, M., Barragan., Pollet A.,Lopez F., (1997).Los virus en tomopatogenos para el control de las polillas de la papa: Nuevas perspectivas en el manejo de *Tecia Solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). Quito Ecuador.

## VIII. ANEXOS

**Tabla 20.** Anva de mortalidad larval de *Eurisaca q.* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 3er día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	19.36	2.77	101.84	0.0001**
DOSIS	4	19.29	4.82	177.6	0.0001**
REPETICION	3	0.07	0.02	0.83	
ERROR	12	0.33	0.03		
TOTAL	9	19.68			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.

**Tabla 21.** Anva de mortalidad larval de *Eurisaca q.* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 4to día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	35.85	5.12	264.94	<0.0001*
DOSIS	4	35.61	8.9	460.54	<0.0001*
REPETICION	3	0.24	0.08	4.15	0.312
ERROR	12	0.23	0.02		
TOTAL	19	36.08			

**Tabla 22.** Anva de mortalidad larval de *Eurisaca q.* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 5to día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	45.2	6.46	320.78	<0.0001**
DOSIS	4	45.01	11.25	558.92	<0.0001**
REPETICION	3	0.2	0.07	3.27	0.0592
ERROR	12	0.24	0.02		
TOTAL		19	45.45		

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.



**Tabla 23.** Anva de mortalidad larval de *Eurisaca q.* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 6to día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	54.55	7.79	281.26	<0.0001**
DOSIS	4	54.51	13.63	491.78	<0.0001**
REPETICION	3	0.05	0.02	0.56	0.6503
ERROR	12	0.33	0.03		
TOTAL	19	54.89			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.

**Tabla 24.** Anva de mortalidad larval de *E.quinoea.* Producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 7mo día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	69.42	9.92	879.79	<0.0001*
DOSIS	4	69.41	17.35	1539.47	<0.0001*
REPETICION	3	0.01	0.02	0.21	0.8903
ERROR	12	0.14	0.01		
TOTAL	19	69.55			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.

**Tabla 25.** Anva de mortalidad larval de *E.quinoae* producida por efectos de cuatro dosis de (VPN) al 8vo día de tratamiento en la región de Puno 2017.

FV	GL	SC	CM	Fc	p-valor
MODELO	7	23.98	3.43	286.47	<0.0001**
DOSIS	4	23.95	5.99	500.58	<0.0001**
REPETICION	3	0.04	0.01	1	0.4262
ERROR	12	0.14	0.01		
TOTAL	19	24.13			

FV=Fuente de variación; GL=Grados de libertad; SC=Suma de Cuadrado; C.M.=Cuadrado medio; Fc=F calculada; \*\*=Altamente significativa; \*=Significativo; ns=No significativo.



*Figura 39. Cultivo de Quinoa Salcedo – Puno 2017*



*Figura 40. Larvas de C.turbata colectas en campos de cultivos de Quinoa campaña 2016*



*Figura 41. larvas con entomopatógenos en la campaña 2016*



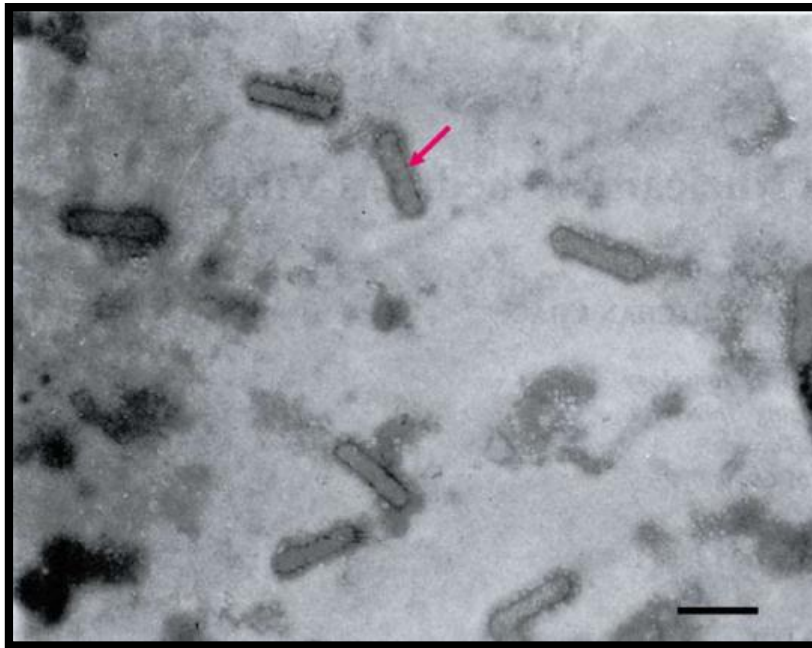
*Figura 42. Rotulado de muestras de entomopatógenos colectados en campaña 2016-2017*



*Figura 43.* Pupa de *C. turbata* colectada en la región de Puno 2017.



*Figura 44.* Polilla de la quinua *E. quinoa*



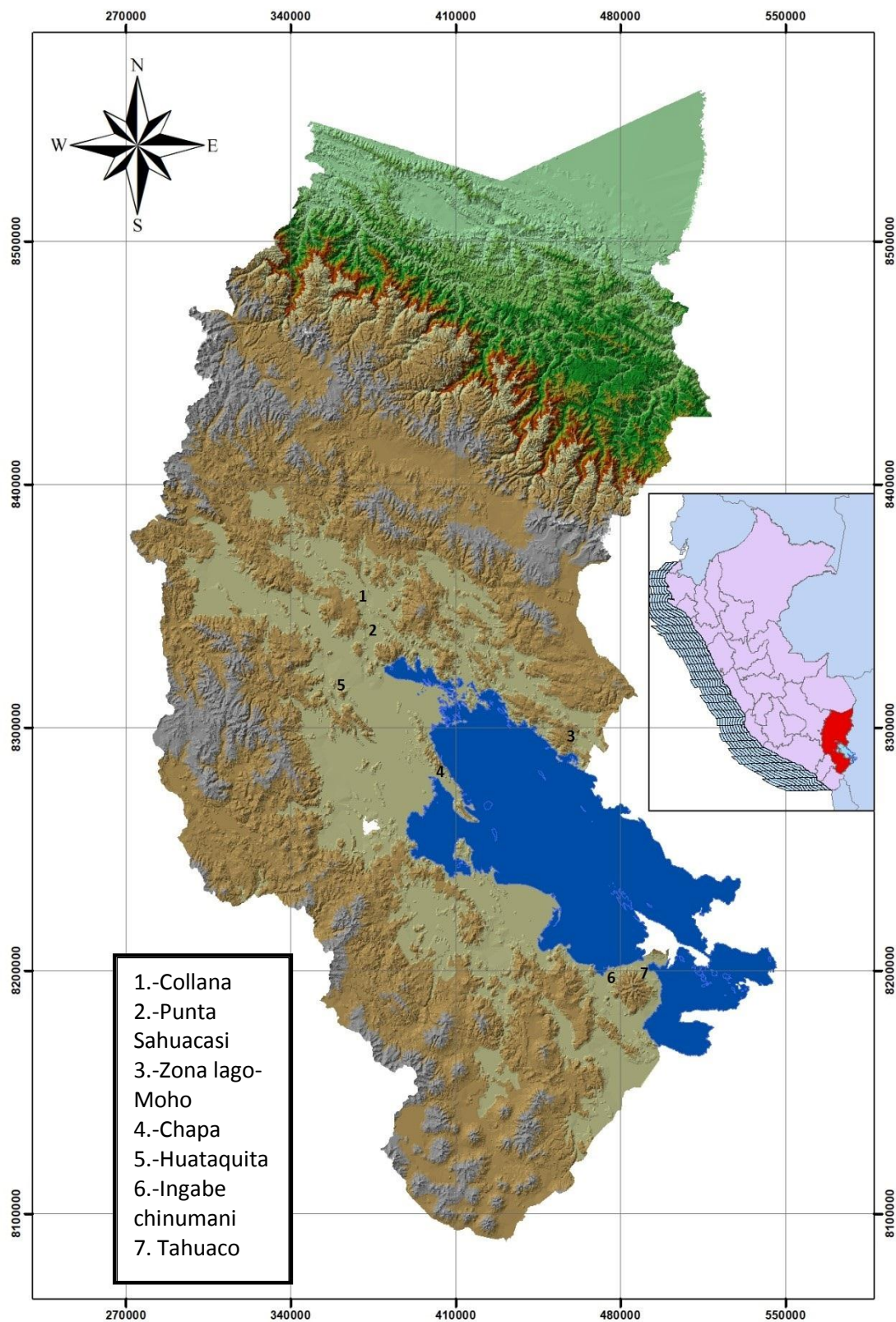
*Figura 45. Bacillus thuringiensis encontradas en larvas de E. quinoa*



*Figura 46. Larvas de lepidópteros muertas con entomopatógenos*



Figura 47. Mapa de Puno, distribución de Virus de la Poliedrosis Nuclear (VPN). Elaboración propia



**Figura 48.** Mapa de Puno, distribución de Virus de la Granulosis (VG).Elaboración propia

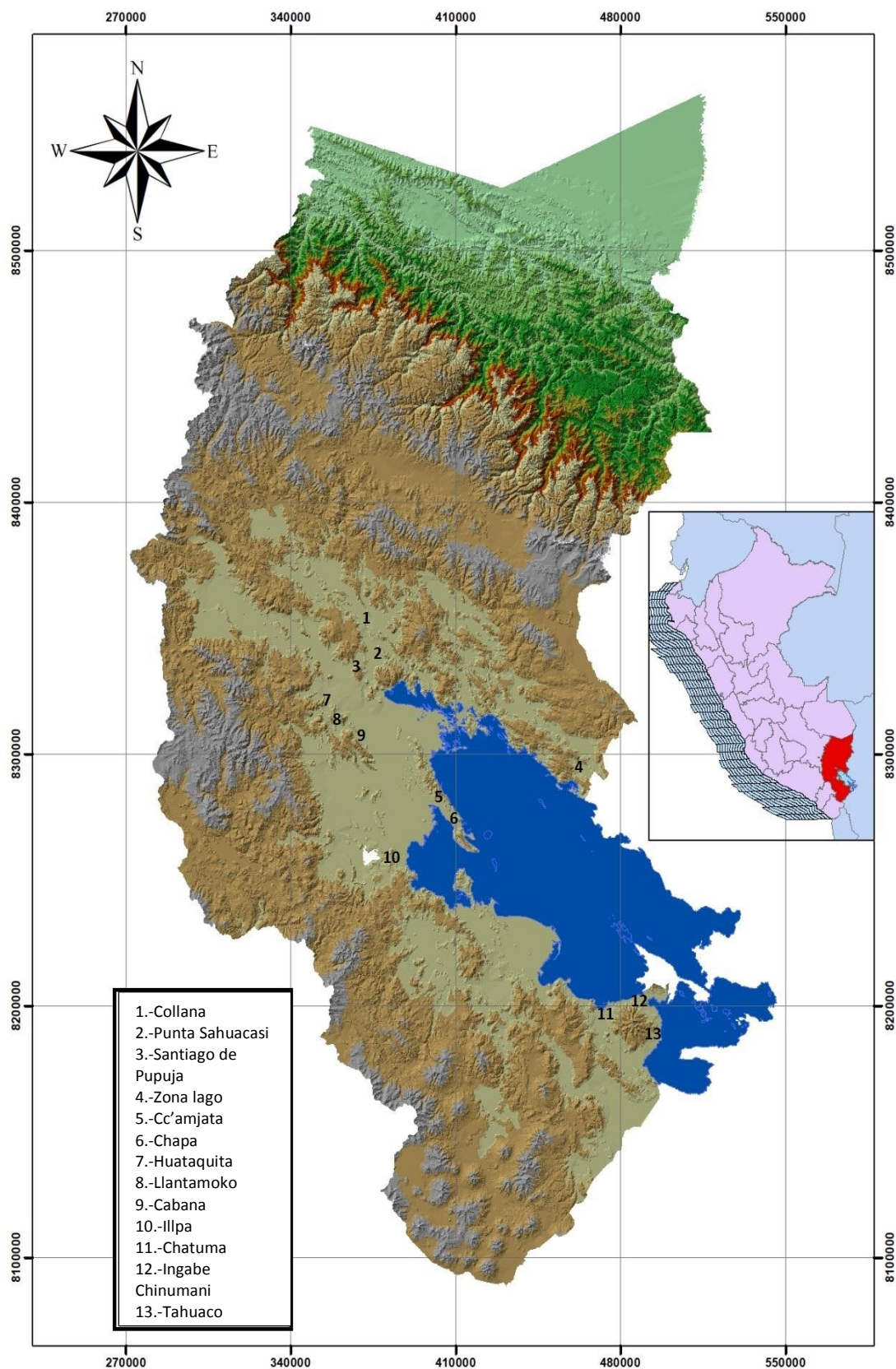


Figura43. .Mapa de Puno. Distribución de *B. thuringiensis*. Elaboración propia







# CONSTANCIA

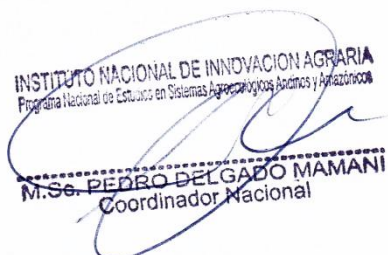
**El coordinador Nacional del Programa Nacional de estudios en Sistemas Agroecológicos Andinos y Amazónicos hace constar:**

Que el señor **Franks Darwin Mamani Carita**, egresado de la escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano, ha realizado satisfactoriamente como parte de evaluación y muestreo del presente trabajo de investigación titulada. “ESTUDIO DE LA FAUNA DE ENTOMOPATOGENOS DE LEPIDOPTEROS EN EL CULTIVO DE QUINUA EN LA REGIÓN DE PUNO 2016-2017”. Proyecto que se ejecutó desde Enero del 2016 hasta Diciembre del 2017, dentro de las actividades del Programa Nacional a mi cargo y así consta en los archivos administrativos. El mencionado durante su permanencia demostró puntualidad y responsabilidad.

La presente se emite a solicitud del interesado para los fines que vea por conveniente.

Puno, 02 de agosto de 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA  
Programa Nacional de Estudios en Sistemas Agroecológicos Andinos y Amazónicos



M.Sc. PEDRO DELGADO MAMANI  
Coordinador Nacional

