

EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD Y MULTIPLICACIÓN EN
SISTRATOS DE AISLAMIENTOS DE *Beauveria brogniartii* Y
Metarhizium anisopliae PARA EL CONTROL DE *Premnotrypes vorax*
EN LABORATORIO Y CAMPO. SANTA CATALINA - PICHINCHA.

ENRIQUE FRANCISCO BARRIGA GARCÍA

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

QUITO – ECUADOR

2003

VI. RESUMEN

La investigación de la "Evaluación de la patogenicidad y multiplicación en sustratos de aislamientos nativos de *Beauveria brogniartii* y *Metarhizium anisopliae* para el control de *Premnotypes vorax* en pruebas de laboratorio y campo", se efectuó en tres fases, las dos primeras fueron realizadas en el laboratorio de Entomología y la tercera en el campo, los dos sitios ubicados en la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

La PRIMERA FASE, tuvo como objetivo principal; "Evaluar en laboratorio la patogenicidad de cinco aislamientos nativos de *Beauveria brogniartii* y tres de *Metarhizium anisopliae* para el control del "Gusano blanco" *Premnotypes vorax* Hustache adulto.

El factor en estudio fue Aislamientos (A); Los aislamientos utilizados fueron de diferente lugar. a1= *Beauveria* S.J. Minas Fichincha, a2= *Beauveria* Sta. Catalina Fichincha, a3= *Beauveria* Chanchaló Cotopaxi, a4= *Beauveria* Sablog Chimborazo, a5= *Beauveria* Huacona S.J Chimborazo, a6= *Metarhizium* Sta M. de Cuba Carchi, a7= *Metarhizium* FCA- CADET Fichincha, a8= *Metarhizium* Guano Chimborazo y a0= testigo absoluto.

Las variables evaluadas fueron; 1) Mortalidad de adultos de *P. vorax* a los 5, 10, 15, 20 y 25 días, 2) Días al apareamiento de los primeros insectos muertos, 3) Tiempo letal medio o TI 50, 4) Días a conidiogénesis o liberación de esporas.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con 9 tratamientos y 5 observaciones. La unidad experimental fue 20 insectos adultos de *Premnotypes vorax*.

El análisis del varianza determinó diferencias (P<0.01) para aislamientos durante todos los días de evaluación, lo que determina la diferencia existente patogenicidad, entre aislamientos de diferente procedencia u origen. Todos los

tratamientos fueron mejores que el testigo, el cuál no registro mortalidad durante la prueba. Esto hace que los resultados sean consistentes.

Además se observó mayor especificidad y efectividad de los aislamientos de *Beauveria brogniartii* que los de *Metarhizium anisopliae* para el control de *P. vorax*. Los aislamientos de *Beauveria* alcanzaron mortalidades altas, en menor tiempo se observaron los primeros insectos muertos (10%), fue menor el tiempo letal medio y el tiempo en llegar a conidiogénesis.

Las comparaciones ortogonales entre aislamientos de *Beauveria* determinaron diferencias notables entre sí, en todas las variables que se analizaron. Mientras que los aislamientos de *Metarhizium* presentaron respuestas similares

Los resultados obtenidos de los aislamientos evaluados, determinan como los más patogénicos para el adulto de *P. vorax* en laboratorio, a3 *Beauveria* Chanchaló Cotopaxí y a5 *Beauveria* Huacona S.J Chimborazo. Estos alcanzaron el 100% de mortalidad de adultos de *P. vorax* a los 10 días de infección. Los primeros insectos muertos se observaron a los 5.0, 4.6 días. El tiempo letal medio T150 fue de 6.6, 6.4, días; y la conidiogénesis alcanzaron a 6.8, 5.8, días respectivamente. Los aislamientos en los que el insecto presentó menor susceptibilidad fueron a1 *Beauveria* San José de Minas, a7 *Metarhizium* S.M. Cuba

Las Conclusiones de esta fase fueron, los aislamientos nativos de los entomopatógenos de *Beauveria* y *Metarhizium* provenientes de las principales zonas productoras de papa fueron diferentes en patogenicidad sobre *P. vorax*. Todos los aislamientos en estudio fueron mejores que el testigo, el cuál no registro mortalidad durante toda la prueba. Los dos mejores aislamientos fueron de *Beauveria* a3 Chanchaló Cotopaxi y a5 Huacona S. J. Chimborazo.

Las recomendaciones establecidas de esta fase son: Realizar estudios de campo en las principales zonas paperas para comprobar la eficiencia de los mejores aislamientos. Realizar colección de aislamientos de diferentes lugares

por cuanto pueden ofrecer diferencias en patogenicidad. Incrementar estudios sobre los aislamientos de Beauveria, por cuanto fueron más patogénicos.

La **SEGUNDA FASE**, tuvo como objetivo principal fue; "Evaluar sustratos que favorezcan la multiplicación masiva de los entomopatógenos utilizados en laboratorio.

Los factores en estudio fueron: 1) Aislamientos de Beauveria (A); a3= Chanchaló, a5= Huacón San José, a9= San José de Huaca, a12= Full Chico. Los aislamientos utilizados corresponden; a3 y a5 aislamientos seleccionados en la primera fase y a9 y a12 se seleccionaron en un ensayo similar realizado en el laboratorio DMPV. 2) Sustratos (S), s1= arroz, s2=cebada, s3=maíz morocho partido

Las variables fueron; 1) Porcentaje de crecimiento y desarrollo a los 5,10,15, 20 y 25 días, 2) Días al cubrimiento total del sustrato, 3) Número de esporas.

Esta investigación utilizó un Diseño Completamente al Azar, con un arreglo factorial 4 x 3 con 3 observaciones. La unidad experimental fue una funda con 200g de sustrato.

El ADEVA para el porcentaje del crecimiento y desarrollo y determinó diferencias (P: 0-01) para tratamientos y sustratos durante todos los días de evaluación, mientras que los aislamientos no presentaron diferencia constante durante los diferentes días de evaluación. Mientras que el análisis para el número de esporas determinó diferencias para todas las fuentes de variabilidad

El sustrato s1 arroz fue el que favoreció un gran crecimiento y desarrollo de todos los aislamientos, así como también una gran producción de esporas, los demás sustratos no cumplieron con el objetivo planteado.

Los resultados determinaron a dos tratamientos como los mejores t1= Huacón San José en arroz y t7= San José de Huaca en arroz, estos tratamientos presentaron altos valores para crecimiento y desarrollo en los

diferentes días de evaluación, además el cubrimiento total del sustrato alcanzaron a los 15 días de infección. Así como también el número de esporas por gramo de sustrato fue para t1= 651.7×10^6 esporas g/sustrato y t7= 646×10^6 esporas g/sustrato

En conclusión el mejor sustrato fue s1 arroz en favorecer un crecimiento y cubrimiento excelente, así como también una gran producción de esporas. Los aislamientos en presentar los más altos valores en los diferentes sustratos y variables fueron a5 Huacóna S.J. y a9 S. J. de Huaca. Los demás sustratos no favorecieron ni el crecimiento ni la producción de esporas de los aislamientos

Las recomendaciones son: En el futuro utilizar como sustrato al arroz por las ventajas que demostró en este estudio. Realizar estudios para la multiplicación de Beauveria en forma artesanal y en condiciones del agricultor

La tercera fase, tuvo como objetivo principal; "Determinar la efectividad de los dos productos biológicos (mejores tratamientos fase 2), en campo en trampas para insectos adultos..

Los factores en estudio fueron: PRODUCTOS BIOLÓGICOS (P); p1= Huacóna San José-arroz, p2= San José de Huaca-arroz ; FORMAS DE APLICACIÓN (F), f1= sólida, f2= líquida, más un testigo químico Carbofurán (2.25cc/lt.).

Las variables evaluadas fueron; 1) Porcentaje de insectos muertos, 2) Análisis económico de los mejores tratamientos utilizados en esta fase.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar, con un arreglo factorial $2 \times 2 + 1$ con 4 repeticiones. La unidad experimental fue 20 insectos marcados de *P. vorax*.

El ADEVA determinó diferencia significativa para tratamientos y la comparación entre tratamientos biológicos vs. tratamiento químico. Además no se observó diferencias entre los productos biológicos utilizados y las formas de aplicación propuesta. Es decir pueden utilizarse cualquiera de los dos productos

biológicos y ser aplicados de cualquiera de las formas debido a que no presentaron diferencias al momento de actuar y ejercer control sobre el insecto.

El análisis se realizó a establecer el valor de producción de 100g de *Beauveria* en sustrato de arroz en laboratorio y cuanto de producto se utiliza por hectárea en trampas para adultos. Para el tratamiento químico se estableció el valor de aplicación por hectárea en trampas para adultos de *P. vorax*.

Las conclusiones establecidas de esta fase son

El porcentaje de mortalidad alcanzado por los tratamientos biológicos en el campo fue 61.15% en promedio, mientras que el tratamiento químico Carbofurán presentó el 94.2% de mortalidad.

El análisis económico determinó un costo por la utilización de *Beauveria* por hectárea de 31 dólares y la de Carbofurán 11.9 dólares.

Las conclusiones establecidas fueron; La efectividad de los productos biológicos fue 65.15% de mortalidad de adultos de *P. vorax* en trampas. El mejor tratamiento biológico fue p1f2, Huacóna S.J. arroz aplicado en forma líquida con el 73.6% de mortalidad de adultos de *P. vorax*. Las formas de aplicar los productos biológicos no fueron diferentes entre sí al momento de ejercer efectividad en las trampas. La utilización de aislamientos nativos puede ser una alternativa para el control del adulto del gusano blanco de la papa *P. vorax*. El análisis económico determinó el costo para el control de adultos de *P.* por hectárea, mediante *Beauveria brogniartii* (aislamiento), en 31 USD/ha. y Carbofurán en 11.90 USD/ha.

Las recomendaciones establecidas fueron; Validar el efecto de *Beauveria* Huacóna San José, en sustrato arroz para el control del "Gusano blanco" *P. vorax* en lotes de mayor extensión y alta incidencia de la plaga. Aplicación de *B. brogniartii* en una concentración de 10^9 esporas cc/lt, en emulsión al 10% en trampas para adultos de *P. vorax*. Mejorar la metodología para reducir los costos de producción del entomopatógeno.

SUMMARY

The investigation of the "Evaluation of the patogenicidad and multiplication in carrier's of native isolations of *Beauveria brogniartii* and *Metarhizium anisopliae* for the control of *Premnotypes vorax* in laboratory tests and field", it was made in three phases, both first they were carried out in the laboratory of Entomology and the third in the field, the two places located in the Experimental Station Santa Catalina (EESC) of the National Institute of Agricultural Investigations (INIAP)

The FIRST PHASE, had as main objective; "to Evaluate in laboratory the patogenicidad of five native isolations of *Beauveria brogniartii* and three of *Metarhizium anisopliae* for the control of the "white Worm" *Premnotypes vorax* Hustache adult.

The factor in study was Isolations (TO); The used isolations were of different place. A1 = *Beauveria* S.J. of Minas Fichincha, a2 = *Beauveria* Sta. Catalina Fichincha, a3 = *Beauveria* Chanchaló Octopaxi, a4 = *Beauveria* Sablog Chimborazo, a5 = *Beauveria* Huacón S.J Chimborazo, a6 = *Metarhizium* Sta. M. of Cuba Carchi, a7 = *Metarhizium* FCA - CADET Fichincha, a8 = *Metarhizium* Guano Chimborazo and a0 = absolute witness.

The evaluated variables were; 1) Adults' of *P vorax*. Mortality at the 5, 10, 15, 20 and 25 days, 2) Days to the apareamiento of the first dead insects, 3) half lethal Time or T.L. 50, 4) Days to conidiogénesis or liberation of spores.

A Randomized Complete Design was used with 9 treatments and 5 observations. The experimental unit was 20 mature insects of *Premnotypes vorax*.

An analysis of the variance determined differences ($P:0.01$) for isolations during every day of evaluation, what determines the difference existent patogenicidad, between isolations of different origin or origin. All the treatments were better

than the witness, the which I don't register mortality during the test. This makes that the results are consistent.

It was also observed bigger specificity and effectiveness of the isolations of *Beauveria brogniartii* that those of *Metarhizium anisopliae* for the control of *P. vorax*. The isolations of *Beauveria* reached high mortalities, in smaller time the first dead insects were observed (10%), it was smaller the half lethal time and the time in arriving to conidiogénesis.

The comparisons orthogonal among isolations of *Beauveria* determined remarkable differences to each other, in all variables that were analyzed. While the isolations of *Metarhizium* presented similar answers

The obtained results of the evaluated isolations, they determine as the more pathogenic for the adult of *P. vorax in laboratory*, a3 *Beauveria* Chanchaló Cotopaxi and a5 *Beauveria* Huacona S.J Chimborazo. These reached, 100% of adults' of *P. mortality vorax* to the 10 days of infection;. The first dead insects were observed at the 5.0, 4.6 days. The half lethal time T150 were of 6.6, 6.4, days; and the conidiogénesis reached at 6.8, 5.8, days respectively. The isolations in those that the insect presented smaller susceptibility were a1 *Beauveria* San José of Mines, a7 *Metarhizium* S.M. Cuba

The Conclusions of this phase were; the native isolations of the entomopatógenos of *Beauveria* and *Metarhizium* coming from the main areas potato producers were different in patogenicidad *P. there is than enough vorax* it lives All the isolations in study they were better than the witness, the which I don't register mortality during the whole test. The two better isolations were of *Beauveria* a3 Chanchaló Cotopaxi and a5 Huacona S. J. Chimborazo.

The established recommendations of this phase are: to Carry out field studies in the main areas mumps to check the efficiency of the best isolations. To carry out collection of isolations of different places since they can offer differences in patogenicidad. To increase studies on the isolations of *Beauveria*, since they

The SECOND PHASE, had as main objective it was; "Evaluation Carriers for the massive multiplication of the entomogenous utilized in laboratory.

The factors in study were: 1) Aislamientos of *Beauveria* (TO); a3=Chanchaló, a5 = Huacón San José, a9 = San José of Huaca, a12 = Pull Chico. The used isolations correspond; a3 and a5 isolations selected in the first phase and a9 and a12 were selected in a similar rehearsal carried out in the laboratory DNPV. 2) Carriers (S), s1 = rice, s2cebada, s3 com left morocho

The variables were; 1) Percentage of growth and development to the 5,10,15, 20 and 25 days, 2) Days to the total cubrimiento of the sustrato, 3) Number of spores.

This investigation used a Randomized Complete Design with a factorial arrangement 4 x 3 with 3 observations. The experimental unit was a case with 200g of carrier.

The ADEVA for the percentage of the growth and development and it determined differences (P: 0-01) for treatments and sustratos during every day of evaluation, while that the isolations non presenter differs verifies during the different days of evaluation. While the analysis for the number of spores determined differences for all the sources of variability

The carriers s1 rice was the one that favored a great growth and development of all the isolations, as well as a great production of spores, the other carriers didn't fulfill the outlined objective.

The results determined to two treatments like the best t1 = Huacón San José in rice and t7 = San José of Huaca in rice, these treatments presented high values for growth and development in the different days of evaluation, the total cubrimiento of the sustrato also reached to the 15 days of infection. As well as the number of spores for gram of carrier was for t1 = 651.7 x 10⁶ spores g/sustrato and t7 = 646x 10⁶ spores g/carrier.

In conclusion the best carrier was s1 rice in favoring a growth and excellent cubrimiento, as well as a great production of spores. The isolations in presenting the highest values in the different carrier's and variables were a5 Huacna S.J. and a9 S. J. of Huaca. The other sustratos didn't favor neither the growth neither t production of spores of the isolations

The recommendations are: In the future utilize like sustrato to the rice for the advantages that it demonstrated in this study. To carry out studies for the multiplication of *Beauveria* in handmade form and under the farmer's conditions

The third phase, had as main objective; "to Determine the effectiveness of the two products biologics (majors treatments phase 2), in field in traps for mature insects..

The factors in study were: BIOLOGICAL PRODUCTS (P); p1 = Huacna San José-rice, p2 = San José of Huaca-rice.; FORMS OF APPLICATION (F), f1 = solid, f2; líquida, more a chemical witness Carbofurán (2.25cc/lt.).

The evaluated variables were; 1) Percentage of dead insects, 2) economic Analysis of the best treatment used in this phase.

A Randomized Complete Block Design was used with a factorial arrangement $2 \times 2 + 1$ with 4 repetitions. The experimental unit was 20 marked insects of *F. vorax*.

The ADEVA determined significant difference for treatments and the comparison among biological treatments vs. chemical treatment. It was not also observed differences between the used biological products and the forms of proposed application. That is to say they can be used anyone of the two biological products and to be applied of anyone in the ways because they didn't present differences to the moment to act and to exercise control on the insect.

The analysis was carried out to establish the value of production of 100g of *Beauveria* in substrate of rice in laboratory and all of product is used by hectare in traps for adults. For the chemical treatment the application value settled down for hectare in traps for adults of *P. vorax*.

The established conclusions of this phase are The percentage of mortality reached by the biological treatments in the field was 61.15% on the average, while the chemical treatment Carbofuran presented 94.2% of mortality

The economic analysis determined a cost for the use of *Beauveria* for hectare of 31 dollars and that of Carbofuran 11.9 dollars.

The established conclusions were; The effectiveness of the biological products was 65.15% of adults' of *P. mortality vorax* in traps. THE best biological treatment was p1f2, Huacona S.J. rice applied in liquid' form with 73.6% of adults' of mortality *P. vorax*. The forms of applying the biological products didn't go different to each other to the moment to exercise effectiveness in the traps.

The use of native isolations can be an alternative for the control of the adult of the white worm of the potato *P. vorax*. The economic analysis determined the cost for the control of adults of *P.* for hectare, by means of *Beauveria brogniartii* (aislamiento) in 31USD/ha there is. and Carbofuran in 11.90 USD/ha.

The established recommendations were; to Validate *Beauveria* Huacona effect San José, in substrate rice for the control of the white worm in lots of more extension and high incidence of the plague. Application of *Beauveria brogniartii* in one concentration of 10^8 spores cc/le, in emulsion to 10% in traps for adults of *P. vorax*. To improve the methodology to reduce the costs of production of the entomopatogeno.