

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
Escuela de Ingeniería Agronómica

PROSPECCIÓN DE ENEMIGOS NATURALES DEL
BARRENADOR DEL FRUTO (*Neoleucinodes elegantalis*
(Guenée)) DE LA NARANJILLA (*Solanum quitoense*) Y
EVALUACIÓN DE LA INCIDENCIA DE LAS PLAGAS EN
SU CULTIVO.

TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA

MARÍA CRISTINA SOSA SOSA

QUITO - ECUADOR

2009

7. RESUMEN

La "Naranjilla" (*Solanum quitoense*) es un cultivo importante en las estribaciones oriental y occidental de los Andes del Ecuador (13). El "Barrenador del fruto" (*Neoleucinodes elegantalis*) es el insecto plaga más significativo en este cultivo y el que causa mayores pérdidas económicas, llegando a afectar al 90 % de la producción (6 14), encontrándose en todos los lugares donde se cultiva, por tanto los pequeños agricultores requieren de métodos de control para reducir el daño causado por la plaga. La fruta de acuerdo a estudios realizados, presenta residuos tóxicos no admisibles, además se debe indicar el riesgo de contaminación que representa para los agricultores al momento de aplicar pesticidas a la planta, para el medio ambiente y para los consumidores. Es muy valiosa una prospección o búsqueda de enemigos benéficos para aprovechar el control que realizan en condiciones naturales. Sin embargo hasta ahora no se ha realizado una exploración sistemática de los enemigos naturales de *N. elegantalis*. Por otra parte la naranjilla es atacada por diferentes plagas en las distintas partes de la planta, insectos que varían dependiendo de la zona, por ello es importante también determinar cuales son los de mayor relevancia y que grado de incidencia tienen en el cultivo, para trabajos futuros sobre su control. Los objetivos que se plantearon en la investigación fueron: Determinar la presencia de enemigos naturales del barrenador del fruto (*N. elegantalis*) en naranjilla (*S. quitoense*) y establecer la incidencia de las principales plagas que atacan al cultivo. Identificar los enemigos naturales (entomopatógenos y parasitoides), más importantes de *N. elegantalis*, en las principales zonas productoras del país. Reconocer el grado de importancia de los diferentes insectos plaga que afectan al cultivo de naranjilla en las principales zonas productoras del país.

En el primer estudio se realizaron recolecciones en localidades de las provincias de Pichincha, Tungurahua, Pastaza y Napo, se realizaron cuatro muestreos dirigidos. A las plantas de naranjilla seleccionadas se les tomó cinco flores, todos los frutos afectados y hojarasca de ramas bajas o del suelo (39). Los muestreos se tomaron durante ocho meses, de Diciembre a Julio.

En laboratorio se analizaron flores, frutos y hojarasca en búsqueda de huevos, larvas y pupas de *N. elegantalis*, respectivamente. La mayoría de especímenes encontrados no presentaron sintomatología al momento de su examinación. Se determinó que los especímenes estaban afectados por hongos principalmente por la formación de micelio, con bacterias cuando despedía un olor fétido, con virus cuando se observó cuerpos endurecidos, cambios de color repentino, color lechoso; con parasitoides: abultaciones en el insecto. Los hongos fueron aislados y sembrados en el medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar), se los purificó y finalmente se los identificó con la ayuda del manual de BARNNET. Las bacterias fueron aisladas y sembradas en el medio de cultivo agar nutritivo;

igualmente se realizaron purificaciones hasta obtener cultivos puros. El estudio de bacterias se dirigió a la familia Bacillaceae, por ser una familia con amplias posibilidades de usarse en control biológico. Se las tiñó y se seleccionaron las gram positivas, luego se observó al microscopio y nuevamente se tomaron solo las que tenían forma de bacilos, finalmente se hizo una prueba de formación de endósporas. Con las cepas seleccionadas se procedió a la identificación de especie, se usó la galería api 50CH y el software api web. En los virus se usaron geles de poliacrilamida para determinar su presencia y el peso molecular de la cápside. Se realizó también estudios del ácido nucleico viral siendo: extracción, electroforesis en gel de agarosa y una amplificación del ADN mediante el método del círculo rodante. Los parasitoides se observaron en cámaras de cría y cuando emergieron se los montó o se los conservó en alcohol. Las variables fueron: porcentaje de parasitismo para parasitoides y porcentaje de infección para hongos, bacterias y virus.

En el segundo estudio se muestreó en localidades representativas de las principales zonas productoras de naranjilla en el Ecuador. Se hicieron dos muestreos dirigidos secuenciales. Se usaron diferentes variables para la determinación de la incidencia de los diferentes insectos a evaluar y fueron: porcentaje de frutos dañados para “Barrenador del fruto” (*N. elegantalis*), porcentaje de plantas dañadas para “Barrenador del tallo”, porcentaje de ramas dañadas para “Barrenador de las ramas”, porcentaje de flores dañadas para “Perforador de las flores”, porcentaje de brotes afectados para “Áfidos”, porcentaje de área defoliada para “Defoliadores”.

En los dos estudios se usó un análisis estadístico no paramétrico mediante la distribución de frecuencia, tanto por ciento, promedio, cuadros comparativos y gráficos.

Como resultados de la Prospección de enemigos naturales, no se encontró benéficos atacando a huevos de *N. elegantalis*, mientras que en el estado larval se hallaron todos los enemigos naturales estudiados es decir a hongos, bacterias, virus y parasitoides, mostrando un porcentaje de ataque de 10.19 % en relación al total de larvas colectadas. Los virus fueron los enemigos naturales que mostraron el mayor ataque, sus diferentes formas de transmisión pueden ser razones para que haya existido un ataque viral elevado. En pupa solo se encontraron a parasitoides emergiendo de este estado, mostraron un porcentaje de ataque de 14.29 %.

Las principales conclusiones del primer estudio fueron:

Se identificaron enemigos naturales en las provincias de Pichincha, Tungurahua, Pastaza y Napo atacando a larvas *N. elegantalis*. Entre ellos constan los hongos *Beauveria* sp. *Aspergillus* sp. y *Verticillium* sp, las bacterias *Bacillus cereus* y *Paenibacillus polymyxa*, dos virus de ADN posiblemente circular y el parasitoide *Copidosoma* sp (Encyrtidae, Encyrtinae).

En el estado de pupa emergieron como enemigos naturales sólo parasitoides, todos estos se ubicaron únicamente en la localidad de San Francisco 1, Pichincha.

Los parasitoides fueron: *Meteorus* sp. (Braconidae, Meteorinae), *Lymeon* sp., (Ichneumoniae, Cryptinae) y un Ichneumonido (sin identificar).

Los hongos *Beauveria* sp., *Aspergillus* sp. y *Verticillium* sp. mostraron un porcentaje de infección natural al estado larval de 0.68 %; siendo *Beauveria* sp. al que se lo podría considerar promisorio por sus características para usarlo como biocontrolador. Todos estos hongos fueron hallados en la localidad San Antonio, Pichincha.

Las bacterias *Bacillus cereus* y *Paenibacillus polymyxa* presentaron un porcentaje de infección al estado larval de 0.79 %, siendo *B. cereus* la más común y la que mostró características alentadoras para usarla como un controlador biológico. Todas estas bacterias fueron encontradas en la localidad San Antonio, Pichincha.

Los enemigos naturales que exhibieron el valor más alto de ataque a larvas del “Barrenador del fruto” (*Neoleucinodes elegantalis*) fueron los virus, con un 7.47 % de infección natural. Se presentaron en las localidades San Antonio, Pichincha; Marmitas, Pichincha; San Francisco 1, Pichincha; Río Negro, Tungurahua; Pindo Mirador, Pastaza; San Juan de Piatúa, Pastaza; San Francisco 2, Pastaza y Mondayacu, Napo.

El parasitoide ovo – larval *Copidosoma* sp. mostró un porcentaje de parasitismo de 1.36 %; se presentó en las localidades Río Negro, Tungurahua y Pindo Mirador, Pastaza.

Las principales conclusiones del segundo estudio fueron:

El “Barrenador del fruto” (*Neoleucinodes elegantalis*) fue el insecto plaga que mostró los mayores valores de incidencia en las principales zonas productoras del país, su presencia típica en el cultivo de naranjilla.

La presencia de “Barrenadores del tallo y ramas”, “Perforador de las flores”, fue relativamente baja en general, pero en ciertas localidades su presencia fue importante.

La presencia de áfidos y defoliadores no fue significativa en el cultivo de naranjilla en las localidades muestreadas en las provincias de Pichincha, Tungurahua, Pastaza y Napo.

Las recomendaciones del primer estudio son:

Realizar pruebas de patogenicidad y/o parasitismo en laboratorio y campo de los diferentes enemigos naturales encontrados, para determinar su importancia y eficiencia en el control del “Barrenador del fruto” (*Neoleucinodes elegantalis*).

Realizar estudios para la potencialización del parasitoide *Copidosoma* sp. en campo, ya que presenta una alta capacidad de reproducción debido a su característica de generar huevos poliembriónicos.

Segundo estudio:

Determinar estrategias de control del “Barrenador del fruto” (*Neoleucinodes elegantalis*) en las diferentes localidades estudiadas, tomando en cuenta el grado de incidencia que presenta.

Determinar la estrategia más eficaz para el control de los diferentes insectos plaga predominantes en cada zona.

Palabras clave: perforador, enemigos naturales, plaga, entomopatógeno, incidencia,

- SUMMARY

The "Naranjilla" (*Solanum quitoense*) is an important crop in eastern and western sides of the Andes of Ecuador (13). The fruit borer (*Neoleucinodes elegantalis*) is the most significant insect plague in this crop and the one that causes main economical lost, reaching to affect to 90 % of the production (6,14) being in every where is cultivated, that is why the small farmers need control methods to reduce the damage gotten by this plague. Researches done showed that the fruit had no accepted toxic residues, moreover the risk of pollution that it represents to the farmers in the pesticide application moment, to the environment and to the consumers. Even though there has not been a natural enemies systematic search of *N. elegantalis*. Besides the naranjilla is attacked by other different plagues in different parts of the plant, the insects depend of the place, that is why is important also determinate which are the main areas and which grade stage of incidence have in the crop, to future researches about their control. The objectives were: Determinate the presence of natural enemies of the fruit borer (*N. elegantalis*) in naranjilla (*S. quitoense*) and establish the incidence of the principal plagues that attack the crop. Identify the natural enemies (entomopathogens and parasitoids), more important of *N. elegantalis*, in the main production areas in the country. Know the stage of importance of the different insect plague that affect to the naranjilla in the main production areas in the country.

In the first study four samplings were done in areas located in the provinces: Pichincha, Tungurahua, Pastaza and Napo. Five flowers, all the affected fruit and the dry leaves in the chosen plants were collected. The samplings were taken for eight months, from December to July.

In the laboratory the flowers, fruits, and dry leaves were analyzed to find eggs, larvae and pupas of *N. elegantalis*. Most found stages didn't present symptomatology in the first examination. The presence of fungus was determined principally by the formation of mycelium, with bacterias when the insects gave off a stinking smell, with viruses when the insect gotten rigid, color changes; with parasitoids when there were parts that looked placed on top in the host. The fungus were isolated and grown in medium PDA (Potato Dextrose Agar), these were identified using the BARNNET manual (8). The bacterias were isolated and grown in the medium (Nutritive Agar); the bacterias study was directed to the Bacillaceae family, because of being one with wide possibilities of using in biological control. These ones were stained and selected the positive gram, later were observed at microscope selecting the one that had rod-shaped form, finally was done an endospore test. The selected stains were identified with the gallery api 50 ch and the software apiweb. In virus the polyacrilamide gel electrophoresis were used to determinate their presence and weight molecular capsid.

Also

were

carried out studies about viral nucleic acid being these: extraction and electrophoresis of viral nucleic acid, rolling simple amplification. The parasitoids were observed in growing containers and when these emerged were placed in alcohol containers. The variables were: parasitism percent for parasitoids and infection percent for fungus, bacteria and virus.

The second study was carried out in representative areas of the main productive areas of naranjilla in Ecuador. Two samplings were done. Different variables were used to determine the incidence of the different insects to evaluate and these were: damage fruits percent for "Fruit borer" (*N. elegantalis*), damage plants percent for "Steam borer", damage branches percent for "Branches borer"; damage flowers percent for "Flowers borer", damage bud for "Aphids", leaf feeding area percent for "Leaf feeding".

A non-parametric statistical analysis was used in both researches; through frequency distribution, percent, scores, comparative square, graphics.

The results of the Search of natural enemies were: no biological enemy was found attacking eggs of *N. elegantalis*, while in larva stage all the natural enemies were found it means: fungus, bacteria, viruses and parasitoids, showing an attack percent of 10.19 % of the total of collected larva. The viruses were natural enemies that showed the main attack, their different transmission ways could be the reasons to this high attack. The parasitoids were the only natural enemies emerging from pupas, these showed an attack percent of 14.29 %.

The main conclusions of the first study were:

Natural enemies were identified in the provinces Pichincha, Tungurahua, Pastaza, and Napo attacking to larva *N. elegantalis*. These are the fungus: *Beauveria* sp., *Aspergillus* sp., and *Verticillium* sp. the bacteria *Bacillus cereus* and *Paenibacillus polymyxa*, two viruses of possible circular DNA and the parasitoid *Copidosoma* sp. (Encyrtidae, Encyrtinae).

Only parasitoids emerging from pupas all these located only in the area San Francisco 1, Pichincha. The parasitoids were: *Meteorus* sp. (Braconidae, Meteorinae), *Lymexilus* sp., (Ichneumonidae, Cryptinae) y an Ichneumonidae (sin identificar).

The fungus *Beauveria* sp., *Aspergillus* sp., and *Verticillium* sp. showed a natural infection percent to the larva stage of 0.68 %; being *Beauveria* sp. the one that could be considered like best one of these because of its characteristics to be used like a biological controller. All these fungus were found in San Antonio, Pichincha area.

The bacterias *Bacillus cereus* and *Paenibacillus polymyxa* presented an infection percent to the larva stage of 0.79 % being *Bacillus cereus* the most common and

the one that showed good characteristics to be used like biological controller. All these bacterias were found in San Antonio, Pichincha area.

The viruses were the natural enemies that showed the most high attack percent to larva of "Fruit borer" (*Neoleucinodes elegantalis*) with a natural infection of 7.47 %. These ones were present in areas: San Antonio, Pichincha; Marianitas, Pichincha; San Francisco 1, Pichincha; Río Negro, Tungurahua; Pindo Mirador, Pastaza; San Juan de Piatúa, Pastaza; San Francisco 2, Pastaza and Mondayacu, Napo.

The egg – larval parasitoid *Copidosoma* sp. showed a parasitism percent of 1.36 %. It was found in the areas Río Negro, Tungurahua and Pindo Mirador, Pastaza.

The main conclusions of the second study were:

The "Fruit borer" (*Neoleucinodes elegantalis*) was the insect plague that showed the highest values of incidence in the main productive areas of the country, its presence was typical in the naranjilla crop.

The "Steam and braches borer", "Flowers borer" presence was low in general, but in some areas their presence was important.

The "Aphid" and "Leaf feeding" presence was not significant in the naranjilla crop in the studied areas in the provinces of Pichincha, Tungurahua, Pastaza and Napo.

The first study recommendations were:

Do pathogenicity and/or parasitism tests in laboratory and field of the different natural enemies found to find out their importance and efficiency to the control of "Fruit borer" (*Neoleucinodes elegantalis*).

Carry out researches to population increase of the parasitoid: *Copidosoma* sp. in the field, because of its high reproduction capacity, due to the characteristic of generating poliembrionic eggs.

The second study recommendations were:

Determinate control strategies of "Fruit borer" (*Neoleucinodes elegantalis*) in the different studied areas, paying attention to the incidence that it presents in each one.

Determinate the most effective strategy to the control of different insect plague in each studied area.

KEY WORDS: borer, natural enemies, plague, entomopathogenic, incidence,