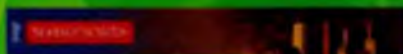


# INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS



## Estación Experimental Santa Catalina Unidad Técnica Carchi Departamento Nacional de Protección Vegetal

MANUAL PARA LA ELABORACIÓN DEL  
BIOINSECTICIDA BACU - TURIN A TRAVÉS DE PREMEZCLAS  
CONCENTRADAS PARA EL CONTROL DE LAS  
POLILLAS DE LA PAPA: *Tecia solanivora*, *Phthorimaea*  
*operculella* y *Symmetrischema tangolias*



**Autores:**  
*Jovanny Suquillo*  
*Patricia Rodríguez*  
*Patricio Gallegos*  
*Katerine Orbe*  
*Jean-Louis Zeddiam*

*Manual No. 094*  
*Carchi - Ecuador*  
*2012*



**MANUAL PARA LA ELABORACIÓN DEL  
BIOINSECTICIDA BACU - TURIN A TRAVÉS DE PREMEZCLAS  
CONCENTRADAS PARA EL CONTROL DE LAS  
POLILLAS DE LA PAPA: *Tecia solanivora*, *Phthorimaea  
operculella* y *Symmetrischema tangolias***

**Autores:**

*Jovanny Suquillo*  
*Patricia Rodríguez*  
*Patricio Gallegos*  
*Katerine Orbe*  
*Jean -Louis Zeddám*

# CONTENIDO

PRESENTACIÓN .....	1
AGRADECIMIENTO .....	3
1.- INTRODUCCIÓN.....	4
2.- AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO .....	6
2.1. Virus entomopatógenos .....	6
2.2. Bacterias entomopatógenas .....	7
3.- ¿QUÉ ES EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN? .....	8
3.1. Composición por kilogramo de contenido .....	8
3.2. Obtención de los ingredientes activos biológicos y del portador .....	8
4.- ¿QUÉ PLAGAS CONTROLA? .....	10
5.- ¿CÓMO ACTÚA EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN? .....	11
6.- ¿CÓMO SE ELABORA EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN? .....	13
6.1. Elaboración de pre-mezclas concentradas .....	14
6.1.1. Materiales .....	14
6.1.2. Procedimiento .....	15
6.2. Obtención del bionsecticida Bacu -Turin .....	17
6.2.1. Materiales .....	17
6.2.2. Procedimiento .....	18
7.- ¿CÓMO SE ALMACENA EL BACU-TURIN? .....	18
7.1. Envasado .....	18
7.2. Almacenamiento .....	19
8.- BIBLIOGRAFIA CONSULTADA .....	21

# PRESENTACIÓN

En el Ecuador, el cultivo de papa se realiza en la Sierra, en altitudes comprendidas entre los 2 700 a 3 400 msnm, sin embargo los mejores rendimientos se presentan en zonas ubicadas entre los 2 900 y 3 300 msnm donde las temperaturas fluctúan entre 11 y 9°C.


La papa se produce en las diez provincias de la Sierra, constituyéndose las más representativas por el volumen de producción Carchi, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo y Cotopaxi.

La importancia del cultivo radica en que es fuente de trabajo para las familias campesinas y otros miembros de la comunidad, los tubérculos constituye el alimento básico de la población rural y urbana, en zonas de producción de este tubérculo favorece el comercio formal e informal y su sistema de laboreo, da inicio a la rotura de suelos y posteriores siembras de otros cultivos.

El hecho de cultivarlo intensamente y la activa comercialización formal e informal ha dado lugar al apareamiento de nuevas plagas como las polillas (*Tecia solanivora*, *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*) y mosca minadora (*Liriomyza sp.*).

Las polillas *Tecia solanivora*, *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*, son plagas de importancia económica debido a que afectan la calidad de la papa tanto en bodega (semilla) como en el campo (cultivo). El agricultor en su afán de contrarrestar el ataque de las polillas utiliza insecticidas químicos de alta toxicidad; lo cual representa un peligro potencial para la salud de los agricultores y el ambiente.

Esta situación motivó para que el INIAP conjuntamente con organismos nacionales (Pontificia Universidad Católica del Ecuador-PUCE) e internacionales (Institut de Recherche pour le Développement-IRD; Fundación McKnight, etc.) realicen un proceso de investigación en tecnología limpia para identificar y formular controladores biológicos. Un ejemplo de esto constituye la producción del Bacu-Turin. Este bioinsecticida de formulación en polvo a base del granulovirus de *Phthorimaea operculella* (cepa JLZ9f) y *Bacillus thuringiensis* (Bt) controla eficientemente (> 90% de mortalidad) las larvas de las 3 especies de polillas:



*Tecia solanivora*, *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias* en papa destinada para semilla. Además, éste insumo fortalece el concepto y aplicabilidad práctica del manejo integrado de plagas-MIP que muchas veces se limita únicamente a enunciarlo, debido a la escasa o nula disponibilidad en el mercado de productos biológicos de calidad comprobada científicamente.

*Ing. Agr. MSc. Jovanny Suquillo*  
*Responsable Unidad Técnica Carchi*  
*Director Proyecto Bioplaguicida Fase II*



# AGRADECIMIENTOS

Hacemos extensivo nuestro reconocimiento a la Fundación McKnight, Pontificia Universidad Católica del Ecuador-PUCE, Institut de Recherche pour le Développement-IRD y a las autoridades del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP por el apoyo económico y técnico para el desarrollo de la investigación que condujo al mejoramiento del conocimiento en aspectos de identificación, selección y formulación de agentes de biocontrol para el complejo de polillas.

Sin el involucramiento de los técnicos Ing. Manuel Pumisacho-NAT/C, Ing. Fausto Yumisaca-UTChimborazo, Ing. Elena Oleas-UTChimborazo, Ing. Iván Reinoso-PNRT-Papa, Ing. José Unda-PNRT-Papa, Ing. Patricio Gallegos-DNPV, Lic. Katerine Orbe-DNPV, Ing. JovannySuquillo-UTCarchi, Ing. Patricia Rodríguez-UTCarchi, Srta. Victoria López-UTCarchi y Agr. Carlos Sevillano-UTCarchi, no hubiera sido posible mejorar el proceso de investigación y obtener la nueva formulación.

También es importante resaltar el apoyo brindado por la Dirección de Transferencia del INIAP en la persona de los Ing. Fausto Merino e Ing. Cristhian Torres, en cuanto al posicionamiento y difusión del bioinsecticida Bacu-Turin.


Además, expresamos nuestro sincero agradecimiento al Dr. Carlos Nieto-CORPOINIAP, por las sugerencias técnicas brindadas durante el desarrollo del proyecto y manejo de recursos económicos.

## 1.- INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha sido alarmante el incremento del uso de insecticidas químicos en bodegas de semilla de papa para contrarrestar el ataque del complejo de polillas: *Tecia solanivora*, *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias* (INIAP, 2011). Para ello frecuentemente se emplean insecticidas tóxicos como: carbofuran, profenofos, carbosulfan y metamidofos, solos o en mezcla (Soria, et ál. 2008). El problema de uso de químicos se agudiza aún más cuando las semillas de papa tratadas químicamente se guardan junto a la vivienda, situación en la cual el agricultor y su familia se encuentran en constante exposición a los plaguicidas.

En el 2006, con apoyo de la Fundación McKnight y como una alternativa al uso de químicos en semilla de papa, la Pontificia Universidad Católica del Ecuador-PUCE, el Institut de Recherche pour le Développement-IRD y el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP, generaron un producto biológico a base de virus, denominado Baculovirus, para el control de las polillas *T. solanivora* y *P. operculella*; pero no para el control de *S. tangolias*. Ante esta situación, el INIAP mejoró la formulación inicial a través de la incorporación de la bacteria *Bacillus thuringiensis*-Bt, variedad *kurstaki*, que dio origen al nombre de "Bacu-Turin", y realizó pruebas de laboratorio y bodega para determinar su eficiencia en el control del complejo de polillas.

El proceso de producción del Baculovirus, fue desarrollado por el Centro Internacional de la Papa-CIP (CIP, 1992). Este proceso fue adoptado en Ecuador, Perú y Bolivia, desde luego, con algunos cambios en cuanto a número de larvas, tipo de cepa viral y tipo de portador sólido. Cuando se empezó a elaborar en la Unidad Técnica del INIAP en Carchi cantidades considerables del bioinsecticida para las pruebas de validación y difusión, se encontraron con limitaciones en cuanto a requerimiento de invernadero para el secado, alto número y grandes bandejas para albergar el mezclado semilíquido, y reducidos niveles de mano de obra. Esta situación y la visita realizada a las plantas de producción de Baculovirus del SENASA en el Perú y PROINPA en Bolivia permitieron madurar la idea de buscar alternativas de elaboración diferentes a la metodología difundida por el CIP.



Suquillo y Rodríguez (2007) realizaron ensayos preliminares de pre-mezclas concentradas y en 2009, se confirmó a través de una tesis de pre-grado que la alternativa de elaboración permitía obtener un producto con la misma eficiencia de control para las plagas *T. solanivora* y *P. operculella*, que aquel obtenido con el sistema difundido por el CIP (Rodríguez, 2009). En base a estos resultados, la Unidad Técnica en Carchi adoptó el sistema de pre-mezclas concentradas en la elaboración del bioinsecticida Bacu-Turin (INIAP, 2011).



## 2.- AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO

Los agentes de control biológico se clasifican en tres grandes grupos: parasitoides, predadores y patógenos. Entre los patógenos mayormente empleados en el control de plagas se encuentran los hongos, virus y bacterias. En este documento se dará mayor énfasis en describir las características entomopatógenas de la cepa viral JLZ9f y *Bacillus thuringiensis* por cuanto son ingredientes activos biológicos de la formulación del bioinsecticida Bacu-Turi.

### 2.1.- Virus entomopatógenos

Las familias o grupos de virus Baculoviridae, Reoviridae, Poxviridae, Ascoviridae, Iridoviridae, Parvoviridae, Picornaviridae, Culiciviridae, Polydnviridae, Nodaviridae, Rhabdoviridae, Nudaurelia B, han sido reportadas como capaces de causar infecciones en insectos (Madrigal, 2001).

Los Baculovirus son virus que se encuentran en el medio ambiente e infectan específicamente a ciertas especies de insectos. No afectan al ser humano, vertebrados o plantas. Es la razón por la cual, tanto la Food and Agriculture Organization (FAO) como la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization-WHO) respaldan el uso de los Baculovirus en los programas de control de plagas (Gröner, 1986; Laird, Lacey and Davidson, 1990).

La cepa viral JLZ9f ha sido inicialmente aislada de una larva enferma de *Tecia solanivora* colectada en Ecuador. Esta cepa JLZ9f es uno de los aislamientos del granulovirus de *Phthorimaea operculella* que se encontraron en los últimos años durante actividades de bioprospección (Soria, et ál. 2008).

## 2.2.- Bacterias Entomopatógenas

A pesar de la gran cantidad de especies de bacterias asociadas a insectos, son pocas las que cumplen los requisitos para ser empleadas en el control de insectos dañinos. Falcon (1971) agrupa las bacterias entomopatógenas en dos categorías: esporulantes y no esporulantes y revela las desventajas de estas últimas debido a su alta sensibilidad a los factores climáticos, especialmente radiación y temperatura, además de que algunas de ellas también son patógenas a vertebrados.

Dentro del grupo de las bacterias esporulantes, la familia Bacilaceae comprende dos géneros: *Bacillus* y *Chlostridium*.

Las especies del género *Bacillus* se caracterizan por sus células vegetativas en forma de bastón, generalmente aerobias o facultativamente anaerobias, capaces de producir esporas. La gran mayoría de las especies de este grupo producen toxinas. Dentro de este género solo tres especies han recibido mayor atención: *B. thuringiensis*, *B. popilliae* y *B. sphaericus*.

*Bacillus thuringiensis* es el organismo más empleado como ingrediente activo en diferentes formulaciones por su alta efectividad en insectos plaga. Este agente microbiano es muy utilizado en la agricultura para el control de un gran número de plagas, principalmente pertenecientes al orden Lepidóptera. Los productos de éste microorganismo presentan algunas características importantes que justifican su uso, como la ausencia de toxicidad en los seres humanos, en muchos de los enemigos naturales de diversas plagas, en otros vertebrados y en las plantas, así como un espectro de agrícola reducido, lo que indica que puede ser altamente específico para una plaga determinada. Por tanto, estos bioinsecticidas pueden ser particularmente dirigidos para combatir a una plaga de interés sin perjudicar, ni dañar el ambiente (Rosas, 2008).

### 3. ¿QUE ES EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN?

#### 3.1. Composición por kilogramo de contenido

El Bacu-Turin es un insecticida biológico formulado en polvo, compuesto por:

- Cepa viral JLZ9f: 10 Equivalentes Larvales-EL.
- *Bacillus thuringiensis*, cepa kurstaki: 26 250 Unidades Internacionales-UI.
- Carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>): 1 kg.

Un Equivalente Larval se refiere a una larva de cuarto instar de *Tecia solanivora* enferma con la cepa viral, entre 11 y 14 mm de longitud y  $45 \pm 0.5$  mg de peso, aproximadamente (Alves, 1986).

#### 3.2. Obtención de los ingredientes activos biológicos y del portador sólido

Multiplicación de la cepa viral JLZ9f

Para disponer de una cantidad suficiente de la cepa viral JLZ9f, se recurre a la técnica de la multiplicación masal por el método de "larvas sobre tubérculos" (CIP, 1992). Este método consiste en preparar una solución viral con 7 larvas trituradas de *Tecia solanivora* y enfermas con la cepa viral JLZ9f, 2 ml de dispersante y 1000 ml de agua destilada.

En la solución viral, se sumergen los tubérculos de papa tamaño semilla (60-70 g) por un periodo de 1 minuto (Foto 1); luego, se secan bajo sombra. Cuando los tubérculos se encuentren completamente secos y en una cantidad de 1,5 kg, se depositan en un recipiente plástico de 20 x 15 x 20 cm (Foto 2). Inmediatamente se procede a infestar con 500 larvas sanas de primer instar de *Tecia solanivora*, procedentes de la cría masiva de esta plaga.

En aproximadamente 40 días, se obtienen larvas de cuarto instar y enfermas con el virus JLZ9f (Foto 3), las mismas, que al cumplir con los requisitos de Equivalentes Larvales se utilizan para la elaboración de las pre-mezclas concentradas del bioinsecticida Bacu-Turin.



Foto 1. Inmersión de tubérculos de papa en la solución viral.



Foto 2. Infestación de tubérculos con larvas sanas de primer instar de *Tecia solanivora*.



Foto 3. Emergencia de larvas de cuarto instar enfermas con el virus JLZ9f.

#### Cepa *kurstaki* de *Bacillus thuringiensis*

*Kurstaki* fue seleccionada por su alto nivel de control de larvas de *Symmetrischema tangolias*, compatible con la cepa viral JLZ9f y por mantenerse viable en carbonato de calcio (INIAP, 2010). Esta cepa se extrae del producto comercial denominado Dipel ES (Valent Biosciences Corporation, 2001).

#### Carbonato de calcio

El carbonato de calcio fue seleccionado luego de un proceso de estudio sobre portadores sólidos. Se buscó un portador que pudiese mantener la viabilidad del microorganismo entomopatógeno, capacidad de adherencia a la epidermis del tubérculo de papa durante la etapa de aplicación, y bajo costo (Chingal, 2009).

#### 4.- ¿QUÉ PLAGAS CONTROLA?

Pruebas de laboratorio (Gráfico 1) y en bodegas de semilla de papa de los agricultores (Gráfico 2) demuestran que el Bacu-Turin enferma y mata larvas de *Tecia solanivora*, *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*.

En el laboratorio del Departamento Nacional de Protección Vegetal del INIAP se evaluó el nivel de control de cada uno de los componentes del bioinsecticida Bacu-Turin en larvas neonatas de *Tecia solanivora* y *Symmetrischema tangolias* (INIAP, 211). En el Gráfico 1, se indica los porcentajes de mortalidad larval por efecto de cada componente por separado (carbonato, virus y Bt) y sus combinaciones. Como se observa, el carbonato de calcio causa la muerte de larvas de polillas (Gráfico 1). No obstante, su efecto es menor. Por ello se requiere incluir en el formulado microorganismos entomopatógenos como la cepa viral JLZ9f y *Bacillus thuringiensis* para garantizar mayor efectividad del bioinsecticida.

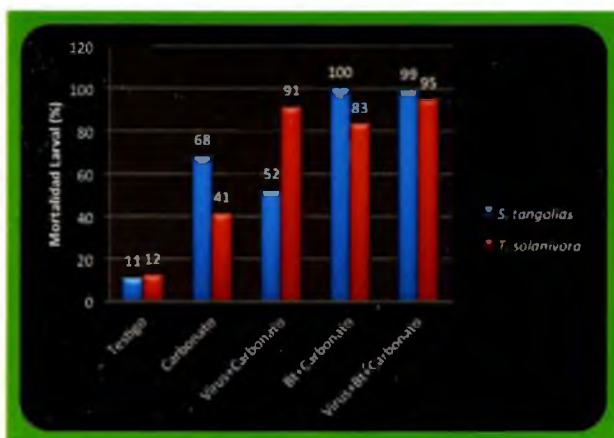


Gráfico 1. Mortalidad larval de *S. tangolias* y *T. solanivora* por efecto del virus JLZ9f, *Bacillus thuringiensis* y carbonato de calcio, y sus combinaciones.

En las pruebas realizadas en bodegas de semilla de papa de los agricultores, ubicados en los cantones de Pillaro-Tungurahua y Salcedo-Cotopaxi, se evaluó el Bacu-Turin elaborado con cuatro concentraciones de Bt (t1: 5 300 UI; t2: 14 000 UI; t3: 21 000 UI y t4: 26 250 UI) frente a un testigo (t0). Luego, de 65 y 99 días de exposición al ataque natural de *Tecia solanivora*, *Symme-*

*trischema tangolias* y *Phthorimaea operculella*, se registraron niveles de daño menores al 5% (INIAP, 2011). En tanto, las semillas no tratadas reportaron niveles de daño del 14% en Pillaro y del 36% en Salcedo (Gráfico 2).



Gráfico 2. Niveles de daño de semilla de papas tratadas con Bacu-Turin en cuatro concentraciones de Bt.

## 5.- ¿CÓMO ACTÚA EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN?

Para que el Bacu-Turin, actúe como controlador biológico, es necesario que sea ingerido por las larvas de las polillas antes de ingresar al tubérculo. Para lograr este objetivo, las papas destinadas para semilla, son tratadas con el bioinsecticida mediante espolvoreo, en una dosis de 200 g por quintal (45,45 kg) de semilla (Foto 4).



Foto 4. Aplicación de Bacu-Turin por espolvoreo.



Una vez en el interior del tracto digestivo del insecto, las partículas virales del JLZ9f ante un pH alcalino (pH 9.5-11.5) y enzimas digestivas, liberan los viriones y atraviesan la membrana peritrófica del intestino medio. Posteriormente, los viriones entran a las micro vellosidades de las células epiteliales del intestino medio por fusión a la membrana citoplasmática, después las nucleocápsides penetran en el citoplasma de las células y se dirigen al núcleo, en donde se produce la multiplicación viral; como consecuencia de ello, se produce lisis celular (rotura de la membrana celular) afectando el epitelio intestinal, tejido graso, sistema sanguíneo y las tráqueas, ocasionando la muerte de la larva (Madrigal, 2001, Friesen y Miller, 2001) (Figura 1).

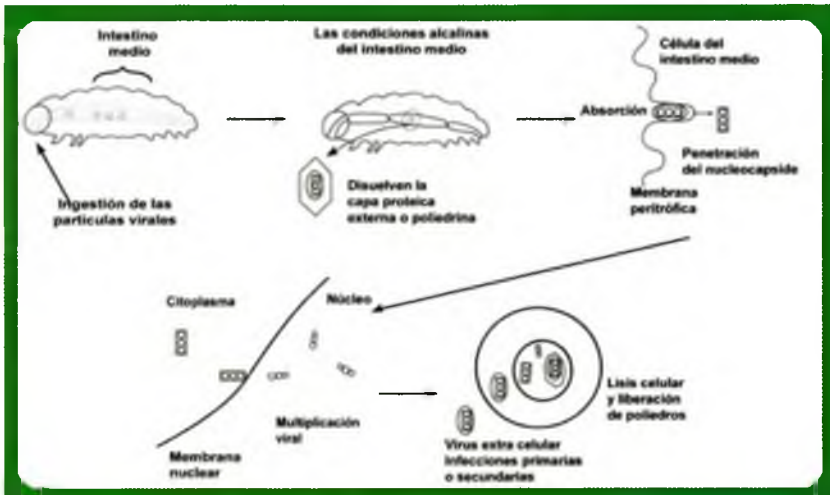


Figura 1. Modo de acción del virus en larvas de polillas.  
Fuentes: Madrigal, 2001 y Friesen y Miller, 2001

Bajo las mismas condiciones del tracto digestivo del insecto, se activa la proteína Cry de *Bacillus thuringiensis*, se inserta en el epitelio del intestino, provocando poros en el epitelio; el poro causa una lisis celular y posterior muerte del insecto (Madrigal, 2001) (Figura 2).

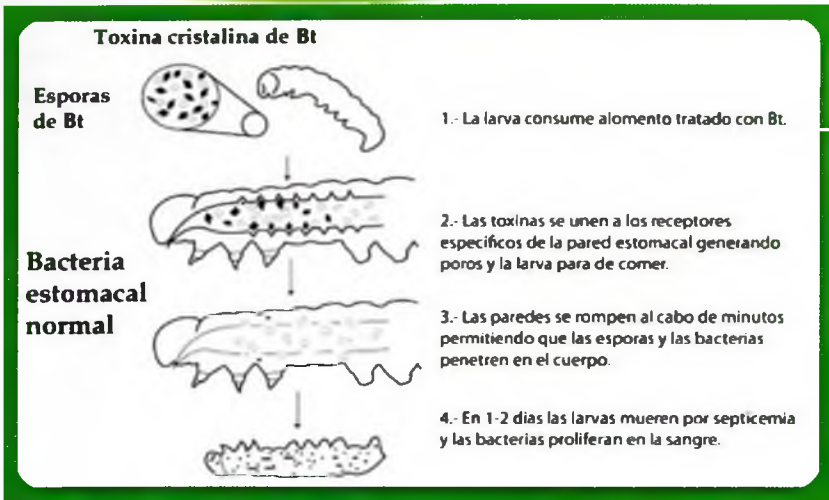


Figura 2. Modo de acción de *Bacillus thuringiensis* en larvas de polillas  
Fuente: Madrigal, 2001.

Entre los síntomas más frecuentes de las larvas que han ingerido el Bacu-Turin se pueden anotar los siguientes: pérdida de movilidad, pérdida del apetito, decoloración y finalmente muerte luego de 10 a 15 días. Durante ese periodo, las larvas enfermas, realizan ligeras galerías en la cáscara de la papa; no obstante, esos daños no afectan en absoluto la calidad de la semilla.

## 6. ¿CÓMO SE ELABORA EL BIOINSECTICIDA BACU-TURIN?

La obtención del bioinsecticida Bacu-Turin, se inicia con la elaboración de una pre-mezcla concentrada de la cepa viral JLZ9f expresada en Equivalentes Larvales (EL) y bacterias de *Bacillus thuringiensis* expresada en Unidades Internacionales (UI), la que posteriormente se mezcla con carbonato de calcio para obtener un producto final que contiene 10 EL de virus y 26 250 UI de bacterias por kilogramo.

Un ml de DIPEL ES equivale a 17 600 Unidades Internacionales de bacterias de *Bacillus thuringiensis* (Valent Biosciences Corporation, 2001).

## 6.1. Elaboración de pre-mezclas concentradas

Una pre-mezcla concentrada consiste en el empleo de un elevado número de microorganismos entomopatógenos (virus, bacterias, hongos y nemátodos) por una determinada cantidad de portador (sólido, líquido, etc.). Bajo este concepto y para lo que se está ilustrando, las pre-mezclas se pueden preparar de 100 a 500 EL para el caso del virus JLZ9f, y de 262 500 a 1 312 500 UI para el caso de *Bacillus thuringiensis* por 500 ml de agua destilada (INIAP, 2011)

Con fines de ilustración para la obtención de 10 kg de bioinsecticida “Bacu-Turin” a 10 EL y 26 250 UI de concentración se inicia con una pre-mezcla concentrada de 100 EL y 262 500 UI de Bt. Para esto se requieren los siguientes materiales y procedimientos:

### 6.1.1. Materiales:

- **Material biológico:**



Foto 5. Larvas enfermas con la cepa viral JLZ9f de cuarto instar de *Tecia solanivora*. Vista ventral y dorsal.



Foto 6. Dipel ES (*Bacillus thuringiensis*, variedad kurstaki)

- **Material no biológico:**



Foto 7. Carbonato de calcio, tipo A-325.



Foto 8. Dispersante.



Foto 9. Agua destilada.

## 6.1.2. Procedimiento:

### 1.- Preparación de la solución viral



Foto 10. Larvas enfermas.



Foto 11. Trituración de larvas.



Foto 12. Colocación de larvas trituradas en agua destilada.

Se toman 100 larvas de *Tecia solanivora* enfermas con la cepa viral JLZ9f (Foto 10), se las tritura en un mortero (Foto 11). El triturado (o el homogenizado) se dispersa en 500 ml de agua destilada (Foto 12).

### 2.- Adición del Dipel ES (*Bacillus thuringiensis*) y agente dispersante.



Foto 13. Adición de *Bacillus thuringiensis* a la solución viral.



Foto 14. Adición de dispersante a la solución viral.



Foto 15. Homogenización de la solución viral.

A la solución viral se le añaden 262 500 UI (19.4 ml) de *Bacillus thuringiensis* (DIPEL ES) (Foto 13) y 1 ml de dispersante (Foto 14). Se coloca esta solución en un agitador magnético durante 20 minutos (Foto 15) para que las partículas virales del JLZ9f y las bacterias del *Bacillus thuringiensis* se dispersen homogéneamente. Al final de este proceso se obtiene una solución concentrada.



### 3.- Mezcla con el carbonato de calcio



Foto 16. Colocación de la solución concentrada en bandeja.



Foto 17. Adición de carbonato de calcio.



Foto 18. Pre-mezcla concentrada.

La solución concentrada se deposita en una bandeja plástica de 52 x 37 x 8 cm (Foto 16). Se le agrega 1 kg de carbonato de calcio (Foto 17) y se homogeniza manualmente hasta lograr una masa semilíquida de 5 mm de espesor. Esta masa se denomina pre-mezcla concentrada (Foto 18).

### 4.- Secado de la pre-mezcla concentrada.



Foto 19. Proceso de secado de la pre-mezcla concentrada.



Foto 20. Pre-mezcla concentrada seca.



Foto 21. Comprobación de secado de la pre-mezcla concentrada.

En un ambiente cubierto, se colocan en una estantería, las bandejas que contienen las pre-mezclas concentradas para su secado (Foto 19). Las pre-mezclas se secan en un periodo de 10 a 12 días, a una temperatura promedio de 16.3°C y con 64% de humedad relativa. Una de las características de que las pre-mezclas concentradas se encuentran completamente secas es cuando presenta rajaduras o costras (Foto 20), que al estrujarlas con los dedos se disgregan fácilmente (Foto 21). Resultados de laboratorio determinaron que bajo esas características visibles, el bioinsecticida presentó 0,02% de humedad (Rodríguez, 2009).

## 5.- Tamizado de la pre-mezcla concentrada



Foto 22. Trituración de la pre-mezcla concentrada.



Foto 23. Tamizado de la pre-mezcla concentrada.



Foto 24. Enfundado de la pre-mezcla concentrada.

Una vez que la pre-mezcla concentrada está completamente seca, se procede a molerla con un molino manual o a triturarla mediante un mortero (Foto 22). Después de este molido, se pasa la pre-mezcla por un cedazo de 256 perforaciones / cm<sup>2</sup> y se obtiene un polvo fino (Foto 23). Se enfunda (Foto 24), y está listo para realizar la mezcla definitiva.

## 6.2. Obtención del bioinsecticida Bacu-Turin

### 6.2.1. Materiales

Las fotos 25 y 26 constituyen los materiales necesarios para la obtención del Bacu-Turin



Foto 25. Pre-mezcla concentrada.



Foto 26. Carbonato de calcio.



## 6.2.2. Procedimiento

### 1.- Mezclado definitivo



Foto 27. Mezclado de la pre-mezcla concentrada con carbonato de calcio.



Foto 28. Obtención de Bacu-Turin.

En una mezcladora de 4 HP construida en acero inoxidable y una tolva de capacidad de 40 libras, se colocan 9 kg de carbonato de calcio y 1 kg de la pre-mezcla concentrada (Foto 27) y se procede al mezclado definitivo por un tiempo de 12 minutos. Para que el polvo sedimente, se deja en reposo por 10 minutos antes de destaparlo. Finalmente se obtiene 10 kg de Bacu-Turin de 10 EL y 26 250 UI de concentración (Foto 28) y está listo para ser aplicado en semilla de papa.

## 7. ¿CÓMO SE ALMACENA EL bioinsecticida BACU - TURIN?

### 7.1. Envasado

Cuando no se dispone de bolsas de doble cara (color claro por fuera y color oscuro por dentro), el bioinsecticida Bacu-Turin, en cantidad de 1000 g, se envasa en bolsas de polietileno de baja densidad, transparente, de 1500 g; luego, se introduce en bolsas de papel de 1500 g, se etiqueta y está listo para su almacenamiento y/o distribución (Foto 29).



Foto 29. Envasado del bioinsecticida Bacu-Turin para su almacenamiento o distribución.

## 7.2. Almacenamiento

Se tiene conocimiento que la cepa viral JLZ9f mantiene su viabilidad en carbonato de calcio hasta por dos años (INIAP, 2011), pero no se tenía información de la viabilidad del *Bacillus thuringiensis* formulado en carbonato de calcio. Ante esto, el Bacu-Turin de 10 EL de virus JLZ9f y 26 250 UI de *Bacillus thuringiensis* por kilogramo de carbonato de calcio y envasado en bolsa de polietileno y bolsa de papel, se sometió a tres periodos de almacenamiento: 0, 30 y 270 días bajo condiciones ambientales de  $17\pm 1.46^{\circ}\text{C}$  de temperatura y  $74\pm 3.86\%$  de humedad relativa. Larvas neonatas sanas de *Symmetrischema tangolias* y tubérculos de papa se constituyeron en unidades experimentales. La mortalidad larval e incidencia de daño fueron las variables que se consideraron para determinar la viabilidad del *Bacillus thuringiensis*. Entre periodos de evaluación no se encontraron diferencias estadísticas ( $p=0.05$ ) para la variable mortalidad larval; pero sí se detectaron diferencias estadísticas entre tubérculos tratados y no tratados dentro de cada periodo de evaluación (Gráfico 3). Esta situación hizo que en los tubérculos tratados con el bioinsecticida, la incidencia de daño fue imperceptible, en tanto en tubérculos no tratados la incidencia de daño alcanzó el 40% (Gráfico 4). En base a estos resultados, se considera que el *Bacillus thuringiensis* formulado en carbonato de calcio conservará su viabilidad hasta los 270 días (período evaluado) (INIAP, 2012).

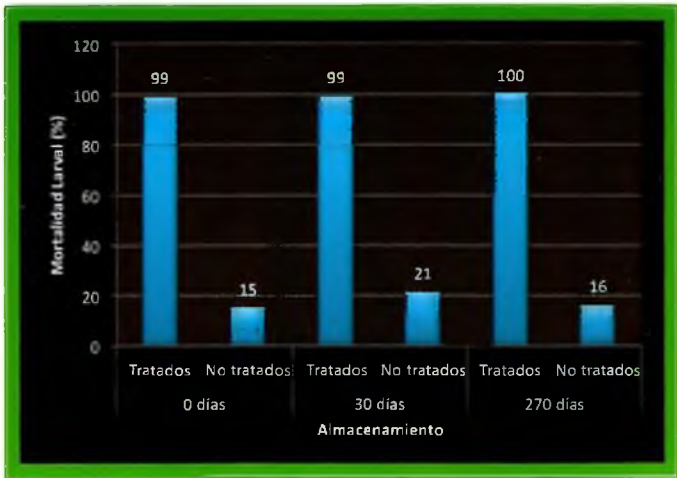


Gráfico 3. Mortalidad larval de *Symmetrischema tangolias* registrada en tubérculos tratados y no tratados con Bacu-Turin almacenados por diferentes días.

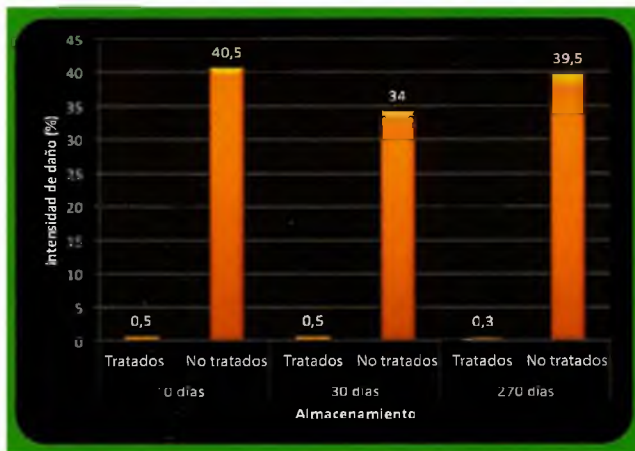


Gráfico 4. Intensidad de daño de tubérculos tratados y no tratados con Bacu-Turin almacenados por diferentes días.

## 8. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Alves, S. 1986. Control microbiano de insectos. Brasil. Monole. 406 p.
- Centro Internacional de la Papa (CIP), 1992. Control biológico de la polilla de la papa con baculo virus *Phthorimaea*. Lima- Perú. 1-19 p.
- Chingal, A. 2009. Evaluación de portadores sólidos para la formulación de bioinsecticidas a base de virus de la granulosis y anchilibí para controlar polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny), en San Gabriel, Provincia del Carchi Ibarra-Ecuador. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Universidad Técnica del Norte. P. 104.
- Falcon, L. 1971. Use of bacteria for microbial control. En: Burgues, HD, and Hussey, N.W. (eds.). Microbial control of insects and mites. London: Academic Press. p. 67-95.
- Friesen, P y Miller, L. 2001. General virology. Capítulo 20. Insect viruses. Cuarta edición. Lippincott Williams y Wilkings. P. 599-625.
- Gröner, A. 1986. Specificity and Baculovirus. In The biology of baculoviruses. Biological properties and molecular biology. R.R. Granados; B.A. Federici, Eds. Boca Raton, florida, RC Press. Vol. 1. P. 177-2012.
- INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, 2011. "Informe Anual". Proyecto. Desarrollo y posicionamiento de un prototipo comercial de bioinsecticida con base en el virus JLZ9F, para el control de *Teciasolanivora*, en los Andes Ecuatorianos. Fundación McKnight e INIAP.
- INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, 2012. "Informe Extensión". Proyecto: "Desarrollo y posicionamiento de un prototipo comercial de bioinsecticida con base en el virus JLZ9F, para el control de *Tecia solanivora*, en los Andes Ecuatorianos". Fundación McKnight e INIAP.
- Lair M., Lacey L. A., Davidson E.W. 1990. Safety of Microbial Insecticides. Boca Raton, FL, CRC.

- Madrigal, A. 2001. Fundamentos de control biológico de plagas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias. P:453.
- Rodríguez, P. 009. Producción de baculovirus a través de pre-mezclas de formulaciones concentradas del virus JLZ9f para el control de la polilla de la papa (*Tecia solanivora* Povolny), en la provincia del Carchi". Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Rosas, N., 2008 Avances del desarrollo de formulaciones insecticidas a base de *Bacillus thuringiensis*. Colomb. Biotecnol. Vol 10. P:49-63.
- Soria, C., Zeddám, J. Suquillo, J. Dangles, O. Pumisacho, M. y Yumisaca, F. 2008. "Informe Anual". Proyecto "Biopesticide Development and Diffusion of Potato Moths Integrated, Management to Strengthen Food Security in the Ecuadorian Andes". Fundación MaKnight, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias e Institut de Recherche pour le Développement.
- Suquillo, J y Rodríguez, P. 2007. Inicio del proceso productivo del bioinsecticida. En "Informe Anual" Proyecto "Biopesticide Development and Diffusion of Potato Moths Integrated, Management to Strengthen Food Security in the Ecuadorian Andes". Fundación MaKnight, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias e Institut de Recherche pour le Développement.
- Valent Biosciences Corporation, 2001. Sepecimen Label. Database and format copyright 2001 by C&P Press. Allrightsreserved.





**Mujer campesina de la provincia de Chimborazo mostrando semilla de papa tratada con el bioinsecticida Bacu-Turin.**