



Esta obra está bajo una [Licencia
Creative Commons Atribución-
NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú.](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/)

Vea una copia de esta licencia en
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



CONTROL BIOLÓGICO DEL MAZORQUERO DEL CACAO
(*Carmenta foraseminis*), UTILIZANDO DOS CEPAS NATIVAS DE
***Beauveria bassiana*, REGIÓN SAN MARTÍN**

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Bach. Keisy Dávila Tafur

ASESOR:

Ing. Eybis José Flores García

Co - ASESOR:

Ing. Grecia Vanessa Fachin Ruíz

Tarapoto-Perú
2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



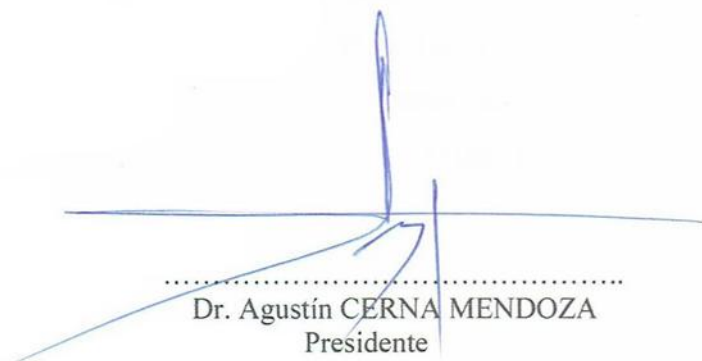
**CONTROL BIOLÓGICO DEL MAZORQUERO DEL CACAO
(*Carmenta foraseminis*), UTILIZANDO DOS CEPAS NATIVAS DE
Beauveria bassiana, REGIÓN SAN MARTÍN**

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Autor:

Bach. Keisy Dávila Tafur

Sustentada y aprobada ante el honorable jurado el 19 de octubre del 2018



.....
Dr. Agustín CERNA MENDOZA
Presidente



.....
Ing. M.Sc. Manuel Santiago DORIA BOLAÑOS
Secretario



.....
Ing. María Emilia RUÍZ SÁNCHEZ
Vocal



.....
Ing. Eybis José FLORES GARCÍA
Asesor

Declaración de Autenticidad

Yo, KEISY DÁVILA TAFUR, egresado(a) de la Facultad de CIENCIAS AGRARIAS de la Escuela Profesional de AGRONOMÍA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 72547185, Domiciliado en: Jr. Los Andes N° 578 – Morales – San Martín, con la tesis titulada: “CONTROL BIOLÓGICO DEL MAZORQUERO DEL CACAO (*Carmenta foraseminis*), UTILIZANDO DOS CEPAS NATIVAS DE *Beauveria bassiana*, REGIÓN SAN MARTÍN”.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 19 de Octubre del 2018

KEISY DÁVILA TAFUR

DNI N° 72547185



Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres: <i>DÁVILA TAFUR KEISY</i>	
Código de alumno : <i>121120</i>	Teléfono: <i>922084637</i>
Correo electrónico : <i>Keisydata@hotmail.com</i>	DNI: <i>72547185</i>

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de: <i>CIENCIAS AGRARIAS</i>
Escuela Profesional de: <i>AGRONOMÍA</i>

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos de trabajo de investigación

Título: <i>CONTROL BIOLÓGICO DEL MAZORQUERO DEL CACAO (Carmenita forasemenis), UTILIZANDO DOS CEPAS NATIVAS DE Beauveria bassiana, REGIÓN SAN MARTÍN.</i>
Año de publicación: <i>2018</i>

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(X)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indiquen el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el Título Profesional o Grado Académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el Inciso 12.2, del Artículo 12° del Reglamento Nacional de Trabajos de Investigaciones para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales –RENATI **“Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA”.**



.....
Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM-T.

Fecha de recepción del documento:

28 / 11 / 2018



.....
Firma del Responsable de Repositorio
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso
Abierto de la UNSM-T.

***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

****Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

DEDICATORIA

“A mis queridos padres, Jeuster y Marina por su sacrificio e incondicional apoyo moral y económico que me brindaron para culminar una de mis metas en esta vida”.

“A mis hermanos Cristhian y Joseph, por acompañarme en cada momento de mi vida”.

“Tu ayuda ha sido fundamental, has estado conmigo incluso en los momentos más difíciles. Este proyecto no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitían, te lo agradezco muchísimo Wily”.

AGRADECIMIENTO

A mi alma máter, Universidad Nacional de San Martín, en especial a la plana Docente de la Facultad de Ciencias Agrarias, que contribuyeron en mi formación profesional.

Al Proyecto PNIA-INIA “Estudio de los principales controladores biológicos para control de Carmenta foraseminis (Eichlin, 1995) y Carmenta theobromae (Busk, 1910) (Lepidoptera: Sesiidae) en el cultivo de Cacao en la Región San Martín” y al equipo técnico del proyecto, por brindarme el apoyo económico y la oportunidad de haber realizado el trabajo de investigación.

Al Ing. M.Sc. Manuel Santiago Doria Bolaños, Coordinador General del Proyecto, por la confianza y apoyo depositado en mi persona para la realización de la investigación.

Al Ing. Eybis José Flores García, quien en todo momento me brindó su apoyo, sus enseñanzas y sugerencias, asesorándome en el trabajo de investigación.

A todos mis amigos que siempre me apoyaron con su amistad sincera, quienes con sus palabras me alentaron para no rendirme.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Resumen	xiii
Abstract	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CÁPITULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
1.1. Producción de cacao en las regiones del Perú	2
1.2. Impacto de <i>Carmenta foraseminis</i> en el cultivo de cacao	2
1.3. <i>Carmenta foraseminis</i>	3
1.3.1. Origen	3
1.3.2. Biología	3
1.3.3. Ciclo biológico	4
1.3.4. Distribución geográfica	5
1.3.5. Clasificación taxonómica de <i>Carmenta foraseminis</i>	5
1.3.6. Comportamiento	6
1.3.7. Daños de <i>Carmenta foraseminis</i>	6
1.3.8. Síntomas	7
1.4. Generalidades de los hongos entomopatógenos	7
1.4.1. Proceso infectivo de los hongos entomopatógenos en los insectos.....	8
1.5. Hongo <i>Beauveria bassiana</i>	10
1.5.1. Generalidades	10
1.5.2. Importancia.....	11
1.5.3. Taxonomía.....	11
1.5.4. Características morfológicas	11
1.6. Antecedentes de investigación.....	12
CÁPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1. Materiales.....	14
2.1.1. Ubicación experimental	14
2.1.2. Aislamientos de <i>Beauveria bassiana</i> nativa.....	14
2.2. Metodología	14
2.2.1. Tipo y nivel de investigación.....	14

2.2.2. Diseño experimental	15
2.2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	16
2.2.4. Indicadores evaluados.....	20
CÁPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1. Resultados	22
3.1.1. Porcentaje de mortalidad	22
3.1.2. Porcentaje de esporulación	23
3.1.3. Tiempo de mortalidad.....	24
3.2. Discusión	25
3.2.1. Porcentaje de mortalidad	25
3.2.2. Porcentaje de esporulación	26
3.2.3. Tiempo de mortalidad.....	27
CONCLUSIONES.....	28
RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Descripción de aislamientos.....	14
Tabla 2: Descripción de los tratamientos en estudio.....	15
Tabla 3: Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de <i>Carmenta foraseminis</i> con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	22
Tabla 4: Análisis de varianza del porcentaje de esporulación de <i>Carmenta foraseminis</i> con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	23
Tabla 5: Análisis de varianza del tiempo de mortalidad de <i>Carmenta foraseminis</i> con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	24
Tabla 6: Datos generales de las evaluaciones de cada tratamiento.....	38
Tabla 7: Supuesto de normalidad de datos utilizándose la prueba de Shapiro Wilk.....	40
Tabla 8: Supuesto de igualdad de varianza de datos utilizándose la prueba de Levene.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Obtención de <i>Carmenta foraseminis</i>	16
Figura 2: Preparación de medio (PDA).....	17
Figura 3: Reactivación e incremento del inóculo de cepas de <i>Beauveria bassiana</i>	18
Figura 4: Determinación de la concentración de conidias en cámara de Neubauer.....	19
Figura 5: Infección de tres estadíos de <i>Carmenta foraseminis</i> con <i>Beauveria bassiana</i>	20
Figura 6: Verificación de mortandad en medio de cultivo.....	20
Figura 7: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del porcentaje (%) de mortalidad de <i>Carmenta foraseminis</i> (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	22
Figura 8: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del porcentaje de esporulación de <i>Carmenta foraseminis</i> (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	23
Figura 9: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del tiempo de mortalidad (días) de <i>Carmenta foraseminis</i> (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de <i>Beauveria bassiana</i>	24
Figura 10: Establecimiento del estadío de huevo - <i>Carmenta foraseminis</i> con <i>Beauveria bassiana</i> (Prueba de patogenicidad).....	40
Figura 11: Establecimiento del estadío de larva - <i>Carmenta foraseminis</i> con <i>Beauveria bassiana</i> (Prueba de patogenicidad).....	41
Figura 12: Establecimiento del estadío de pupa - <i>Carmenta foraseminis</i> con <i>Beauveria bassiana</i> (Prueba de patogenicidad).....	41
Figura 13: Identificación y validación de las cepas de <i>Beauveria bassiana</i> por el SENASA.....	42
Figura 14: Identificación y validación de la especie <i>Carmenta foraseminis</i> por el SENASA.....	43

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

PNIA-INIA = Programa Nacional de Innovación Agraria -Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

mm = Milímetro

cm = Centímetro

Conidias/ ml = Conidias por mililitro

ml= Mililitro

mg=Miligramo

g = Gramo

°C = Grados Celsius

H.R.= Humedad Relativa

PDA = Papa Dextrosa Agar

AD = Agua Destilada

C.S.= Campo Secundario

VRAE = Valle del Río Apurímac Ene.

UNAS =Universidad Nacional Agraria de la Selva.

SENASA =Servicio Nacional de Sanidad Agraria

RESUMEN

El “mazorquero del cacao” *Carmenta foraseminis* (Lepidoptera: Sesiidae) es una plaga que viene afectando el rendimiento del cultivo de cacao en la Región San Martín, debido a que su ataque es directamente al fruto. El objetivo del estudio fue determinar la patogenicidad de dos cepas nativas de *Beauveria bassiana*, sobre *Carmenta foraseminis* en tres estadíos (huevos, larvas (entre 4^{to} y 5^{to} instar) y pupas), para uso potencial como agente de control biológico. Se desarrolló en el Laboratorio de Sanidad Vegetal-Fitopatología de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. Se utilizaron dos cepas nativas de *Beauveria bassiana* provenientes de la zona de Tabalosos y Juanjui, que fueron reactivadas en medio PDA, para su manipulación en las pruebas. La patogenicidad del hongo se determinó en condiciones de laboratorio en una concentración de 8×10^6 conidias/ml. El análisis estadístico aplicado al porcentaje de mortalidad, porcentaje de esporulación y tiempo de mortalidad mostraron diferencias significativas (Tukey, $p < 0,05$). Los resultados obtenidos señalan que el mayor porcentaje de mortalidad y esporulación promedio fue en el T7 con 90% y 96,67 %, logrando a su vez el menor tiempo de mortalidad de la población, con 5,7 días; concluyendo que el estadío más susceptible de *Carmenta foraseminis* fue en estadío de huevo y que la cepa 2 tuvo mayor patogenicidad; lo cual muestra el potencial del hongo para el desarrollo de bioinsecticidas contra el mazorquero del cacao.

Palabras claves: Control Biológico, *Beauveria bassiana*, cepa nativa, *Carmenta foraseminis*, mazorquero, cacao.

ABSTRACT

The "cocoa mazorquero" *Carmenta foraseminis* (Lepidoptera: Sesiidae) is a plague that is affecting the performance of the cocoa crop in the San Martin region, because their attack is directly to the fruit. The objective of this study was to determine the pathogenicity of two native strains *Beauveria bassiana*, on *Carmenta foraseminis* in three stages (eggs, larvae (between 4th and 5th instar) and pupae) for potential use as a biological control agent. The work was developed at the Laboratory of Phytopathology Plant-Health of the National University of San Martin-Tarapoto. Two native strains of *Beauveria bassiana* from Tabalosos and Juanjui areas, which were reactivated on PDA medium, for handling tests were used. The pathogenicity of the fungus was determined under laboratory conditions in a concentration of 8×10^6 conidia/ml. The statistical analysis applied to the percentage of mortality percentage of time sporulation and mortality showed significant differences (Tukey, $p < 0,05$). The results indicate that the highest percentage of mortality and sporulation was in average 90% T7 and 96,67%, achieving turn the shortest time of death of the population, with 5,7 days; concluding that the most susceptible stage of *Carmenta foraseminis* egg stage and strain 2 was more pathogenicity; which shows the potential of the fungus to develop bio-insecticides against cocoa mazorquero.

Keywords: Biological Control, *Beauveria bassiana*, native strain, *Carmenta foraseminis*, cocoa mazorquero.



INTRODUCCIÓN

La región San Martín en la actualidad tiene el 43 % de la producción de grano en cacao del Perú, con un volumen de 37,3 mil toneladas, llegando a producir en promedio 815 kg/ha⁻¹. (García, 2010 y Minagri-DGPA-DEEIA, 2016). Estas cifras vienen siendo amenazadas por el devastador ataque del mazorquero del cacao (*Carmenta foraseminis*). La hembra de este insecto deposita los huevos en la superficie del fruto, y sus larvas recién eclosionadas perforan y llegan hasta la placenta de las cuales se alimentan perjudicando directa e indirectamente el fruto. Tanto es el daño, que en Huánuco hay reportes del 70% de frutos de cacao afectados, mientras que en San Martín supera el 30 % de daño al cultivo (Calderón, 2017 y SENASA, 2016).

Es por ello que el SENASA ha catalogado al mazorquero como una plaga de mayor importancia para los productores de cacao de la región San Martín. Con estos argumentos el control biológico es una herramienta de manejo de plagas que permite mantener en equilibrio la población de insectos plaga, en densidades que no causen daño al cultivo. Basándonos en este problema se buscó una alternativa que sea económicamente viable para el agricultor, como la utilización del hongo *Beauveria bassiana* como agente de biocontrol.

Para el trabajo de investigación se realizó la multiplicación de dos cepas nativas de *Beauveria bassiana*, que fueron facilitadas del cepario del proyecto de investigación “Estudio de los principales controladores biológicos para control de *Carmenta foraseminis* (Eichlin, 1995) y *Carmenta theobromae* (Busk, 1910) (Lepidoptera: Sesiidae) en el cultivo de Cacao en la Región San Martín”, y estudiadas con una sola concentración para las pruebas de patogenicidad. Por tal motivo, se planteó la hipótesis principal de que *Beauveria bassiana*, si tendrá control efectivo en el mazorquero del cacao (*Carmenta foraseminis*). El objetivo general fue determinar la patogenicidad de dos cepas nativas de *Beauveria bassiana* en el control de huevos, larvas y pupas de *Carmenta foraseminis* en condiciones de laboratorio, evaluando la cepa nativa de *Beauveria bassiana* más patogénica y el estadio de *Carmenta foraseminis* más susceptible, buscando solucionar el problema del “mazorquero”, para evitar el uso de productos químicos y pérdidas económicas al productor cacaotero.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Producción de cacao en las regiones del Perú

Con relación a las regiones donde se produce cacao en grano, destacan básicamente las regiones de San Martín con el 43%; Junín con el 18%, Cusco con 9%, Ucayali con 8% y Huánuco con 6%. Estas cinco regiones representan el 84% de toda la producción nacional. Regiones como Ayacucho, Amazonas, Cajamarca, Tumbes, Loreto, Puno y Madre de Dios, también tienen producción de cacao en menores volúmenes (García, 2010).

En términos de volumen, en el año 2015 el Perú, registra una producción en San Martín de 37,3 mil toneladas, 15,3 mil toneladas en Junín y 6,7 mil toneladas en Ucayali. La región San Martín rinde 815 kilogramos por hectárea; Junín, 924 kilogramos por hectáreas; y en el caso del Cusco (primer productor nacional en décadas pasadas), éste muestra el rendimiento más bajo a nivel nacional con 366 kilogramos por hectárea, debido a ciertas plagas que están atacando sus plantaciones de cacao: el Gobierno Regional ha informado que viene adoptando una serie de medidas, a mediano plazo, a fin de mitigar esta plaga. Ministerio de Agricultura y Riego- Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria (Minagri- DGPA – DEEIA, 2016).

1.2. Impacto de *Carmenta foraseminis* en el cultivo de cacao

Decenas de agricultores de la provincia de Leoncio Prado, confirman la destrucción de la mazorca del cacao por el denominado insecto Carmenta o Mazorquero que comenzó a invadir el cultivo de cacao en diferentes zonas del Huallaga. El insecto deposita sus huevos, para luego introducirse en el fruto como larva y al terminar su ciclo se convierte en mariposa de diversos tamaños, lo cual está afectando más de 10 000 hectáreas en diversas zonas de la selva (Shalom Noticias, 2016).

“Reportes indican que en algunas partes de Huánuco ha llegado a afectar hasta el 70% de frutos, mientras que en el Cusco ya alcanzó el 30 %” (Calderón, 2017).

Carmenta foraseminis, es conocido como “gusano mazorquero”, se ha convertido en una de las plagas de mayor importancia por los productores de cacao en la región San Martín, debido a las grandes pérdidas que viene provocando en su producción, que supera el 30% de daño del cultivo (SENASA, 2016).

1.3. *Carmenta foraseminis*

1.3.1. Origen

Eichlin (1995), describió la especie a partir de especímenes criados en semillas de *Gustavia angustifolia* Benth, *Gustavia superba* y *Eschweilera* sp. de Panamá y en frutos de cacao de Colombia y quien lo denominó *Carmenta foraseminis* Eichlin, que deriva del latín Foro (aburrir) y Seminis (semilla), el nombre se refiere a la perforación de semillas del comportamiento de las larvas; y afirmó que la especie se encuentra distribuido en Panamá, Colombia, Venezuela y probablemente en Brasil.

1.3.2. Biología

Carmenta foraseminis Eichlin, insecto del orden Lepidoptera y familia Sesiidae, fue detectado en las zonas productoras de los estados Aragua, Mérida y Zulia (Colombia). El reporte informa que el color de las larvas es blanquecino, con cabeza marrón, se alimentan del endocarpio del fruto y penetran por la base del pedúnculo, siguiendo la placenta y atrofiando las semillas. No se ha logrado diferenciar el sitio exacto de la oviposición y posterior entrada de las larvas en los frutos atacados, y externamente sólo se observa una mancha o “peca” sobre la superficie del fruto, bajo la cual ocurre la transformación de la larva en una pupa de color marrón claro. Los adultos, son de cuerpo predominantemente negro y alas con escamas negras, emergen de la pupa, rompiendo la película externa del fruto en el sitio donde se ubica la peca y dejan las exuvias o restos de la pupa adherida al orificio de salida. Las hembras ponen huevo de forma oval y tamaño aproximadamente a 0,6 x 0,3 mm. (Navarro, 2006).

Carmenta foraseminis (Eichlin) coloca los huevos en forma individual en las hendiduras y rugosidades tanto de frutos tiernos como en los próximos a alcanzar la madurez fisiológica. La larva al momento de la eclosión se introduce en el fruto

causando una perforación al lado del huevo muy pequeña, la cual es difícil de observar a simple vista, en los primeros instares, se alimentan del tejido placentario y los últimos del mesocarpio, dejando las excretas esparcidas dentro del fruto (Vivas, Sánchez, Moncada y Márquez, 2005).

Los frutos atacados presentan externamente la apariencia de sanos, observándose una mancha o peca que sella la abertura de la perforación, que corresponde a una capa muy delgada del epicarpio del fruto, que la larva deja para usarla de protección y evitar la entrada de otros insectos que puedan perjudicarlo; esta capa es destruida cuando emerge el adulto del capullo, dejando una perforación en el fruto que facilita el ingreso de otros agentes patógenos, ocasionando pérdidas importantes en la producción (Vivas *et al.*, 2005).

La presencia del perforador dentro del fruto sólo es evidente cuando en la corteza intacta se observa una mancha oscura redondeada de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, la cual es producida por la larva cuando está en fase de pre pupa; la larva traspasa el mesocarpio del fruto y se alimenta de las semillas; en consecuencia, además del daño primario, el comportamiento de este insecto favorece la pudrición y apelmazamiento de las semillas, por lo que el porcentaje de frutos aprovechables se ha reducido considerablemente (Navarro, Clavijo, Vidal y Delgado, 2001).

1.3.3. Ciclo biológico

Ramírez, Cabezas y Gil (2015), mencionan el ciclo del mazorquero del cacao, a temperatura de 28 °C y 80% de H.R., el periodo de incubación dura 7- 8 días, larva (5^{to} instar) es de 30 - 36 días, pupa de 21 – 22 días y adulto de 6- 7 días, su ciclo de vida está entre 64 – 73 días, con promedio de 68,5 días.

El mazorquero del cacao (*Carmenita foraseminis*), como todos los lepidópteros, presenta metamorfosis completa, el daño lo hace la larva al alimentarse principalmente de la placenta del fruto y el mucílago de la semilla. Se aprecian las distintas fases por las que pasa el insecto. El ciclo desde la postura hasta el adulto es de 71 días (Cubillos, 2013).

En la investigación realizada por Sánchez y Herrera (2005) en laboratorio, *Carmenta foraseminis* tuvo un ciclo de $74,71 \pm 12,64$ días, el tiempo de eclosión del huevo duró de $8,1 \pm 0,12$ días, la fase de larva posee 5 instares y tuvo una duración de $47,66 \pm 10,13$ días, la pupa duró $11,7 \pm 1,2$ días y el adulto $1,35 \pm 1,31$ días.

El imago de *Carmenta foraseminis* posee hábitos de alimentación nocturna, la hembra colocan sus huevos solitarios dispersos en las rugosidades del fruto, los cuales pueden llegar a tener hasta 70; las larvas en los primeros instares se alimentan del tejido placentario de la planta y en los últimos instares se alimentan de mesocarpio. El orificio de entrada lo realiza la larva inmediatamente al lado del huevo al eclosionar, observándose hasta 72 larvas por fruto, transcurriendo todos los instares larvales dentro del fruto y el adulto posee dimorfismo sexual (Sánchez y Herrera, 2005).

Los ciclos biológicos difieren entre un autor y otro, esto no es muy preciso.

1.3.4. Distribución geográfica

En agosto del 2001, se empezó a detectar daños esporádicos de este perforador en el Banco de Germoplasma de Cacao de la UNAS, Tingo María; posteriormente se registró en Tarapoto, VRAE, Piura, etc. (Gil, 2017). El mencionado autor dice que, la presencia de este barrenador se detecta, al observarse en el orificio de entrada los excrementos oscuros de la larva.

“El perforador de la mazorca del cacao, *Carmenta foraseminis*, ha sido reportado en Panamá, Venezuela y Colombia” (Eichlin, 1995; Harms y Aiello, 1995; Delgado, 2005). Recientemente el 2009, la Asociación Peruana de Productores de Cacao (APPCACAO) registró un perforador denominado mazorquero, presente en el 30% de las zonas de producción más importantes del Perú y que provoca daños en el 30% de la producción. Se sospecha que puede tratarse de *Carmenta foraseminis* (Cubillos, 2013).

1.3.5. Clasificación taxonómica de *Carmenta foraseminis*

Navarro (2006), menciona la siguiente clasificación taxonómica:

Orden	: Lepidoptera
Suborden	: Glossata
División	: Ditrysia
Superfamilia	: Sesiioidea
Familia	: Sesiidae
Género	: <i>Carmenta</i>
Especie	: <i>foraseminis</i>

1.3.6. Comportamiento

“Las larvas de este insecto al penetrar el fruto llegan hasta las semillas, en el proceso de alimentación las dañan y por lo tanto destruyen el producto comercial del cultivo, lo que ocasiona importantes pérdidas económicas” (Morillo *et al.*, 2007).

1.3.7. Daños de *Carmenta foraseminis*

Los frutos que se cosechan antes de la emergencia del adulto (frutos con excretas del insecto localizado sobre la epidermis), se aprovechan en más del 90%, pero en los frutos en los que ya se ha registrado la emergencia del adulto o en que los estados inmaduros (larvas-pupas) del insecto han sido parasitados después de contruidos los túneles para la salida del adulto, la intensidad del daño es total (Cubillos, 2013).

Las especies de importancia económica que dañan el fruto en la región noreste del estado de Aragua, son *Carmenta foraseminis* y *Carmenta theobromae*; los daños son ocasionados por las larvas que atacan los frutos, produciendo una o varias perforaciones, preferentemente en la base y en los surcos; donde se concentran los excrementos por estas perforaciones penetran hongos y bacterias que están asociados con las pudriciones; estas galerías generalmente son externas o en el pericarpio, sin llegar a afectar los granos, pero en otros casos pueden llegar a dañar la placenta y las semillas (Navarro, 2006).

En algunos casos, el fruto dañado presenta pudrición interna de apariencia acuosa por invasión de insectos del Orden: Diptera (moscas), y en otros, las semillas de adhieren fuertemente y se endurecen perdiéndose totalmente, porque presentan un

olor desagradable, lo cual hace que el fruto no se pueda aprovechar en forma comercial (Navarro, 2006).

Las larvas de esta especie perforan las mazorcas del cacao, pero se mantienen en el epicarpio de fruto y muy rara vez traspasan el mesocarpio para alimentarse de las semillas. En general, la presencia de este perforador se detecta, al observarse en el orificio de entrada los excrementos oscuros de la larva (Morillo *et al.*, 2007).

1.3.8. Síntomas

Cuando el insecto ataca frutos menores de 4 meses, exhiben una madurez prematura; en caso de que los frutos tengan más de 4 meses de edad, se observan excreciones del insecto taponando el orificio de salida o, bien, exudaciones acuosas por este mismo orificio; en frutos con síntomas de madurez prematura no se encuentran estados larvales del insecto probablemente debido a la acción parasítica de enemigos naturales (Cubillos, 2013).

1.4. Generalidades de los hongos entomopatógenos

En los últimos 50 años, la investigación en la protección de los cultivos contra los insectos plaga ha estado enfocada al uso de agentes de biocontrol (BCA) (Whipps y Lumsden, 2001). La creciente inquietud por los efectos nocivos sobre la salud causados por las prácticas de la agricultura tradicional intensiva que involucra el uso de insecticidas sintéticos; la aparición de resistencia a los insecticidas químicos en algunos insectos de importancia económica hacen que haya un interés cada vez mayor en el uso de insecticidas de origen biológico (Glare *et al.*, 2012). En consecuencia, desde mediados del siglo XX ha habido gran expansión del mercado en base a hongos patógenos con actividad selectiva contra las plagas de insectos (López, Rodríguez y Lopera, 2014). El uso de estos métodos de control se deriva de una disciplina denominada control biológico, que se basa en el principio natural en que muchas especies de organismos se alimentan, viven y se reproducen sobre otras, cuyas poblaciones son reguladas por las primeras en los diferentes ecosistemas, indirectamente esto logra que las cantidades alcanzadas por los grupos poblacionales no sean nocivas al sistema (Madrigal, 2001). Ernest y Brown (2001) definen la homeostasis como “las interacciones compensatorias entre especies, que

producen estabilidad en un ecosistema”, en consecuencia los hongos entomopatógenos y las enfermedades que de forma natural causan en los insectos son un ejemplo claro de esta relación y el control biológico es el aprovechamiento de estas interacciones regulatorias para disminuir las poblaciones de una plaga.

Entre los microorganismos entomopatógenos, los hongos son considerados controladores promisorios, ya que pueden infectar a los insectos directamente a través de la penetración de la cutícula y poseen múltiples mecanismos de acción que les confieren una alta capacidad para evitar que el hospedero despliegue mecanismos de resistencia (Hayek y Leger, 1994).

En la actualidad *Beauveria bassiana* es considerada una especie crítica, porque incluye un número aún no determinado de linajes muchos de ellos con distribuciones intercontinentales (Rehner *et al.*, 2006, Ghikas, Kouvelis y Typas, 2010), y que se encuentran como complejos de especies múltiples tanto en ambientes agrícolas como en los no intervenidos (Rehner *et al.*, 2006; Meyling Lubeck, Buckley, Eilenberg y Rehner, 2009).

1.4.1. Proceso infectivo de los hongos entomopatógenos en los insectos

La mayoría de estos hongos son patógenos obligados o facultativos que causan en el insecto enfermedades denominadas micosis (Tanada y Kaya, 1993). El proceso infectivo comienza con la Adhesión de la conidia a la cutícula del insecto este proceso está directamente relacionado con el tipo de conidias y la hidrofobicidad de la cutícula del insecto, cuando las conidias crecen aéreamente se unen bien a superficies hidrofóbicas pero la adhesión a superficies hidrofílicas es débil; las conidias que crecen sumergidas se unen bien a ambos tipos de superficies y las blastosporas (In vitro) se unen de una manera fuerte a superficies hidrofílicas y débilmente a superficies hidrofóbicas (Holder y Keyhani, 2005). La adhesión de las conidias también puede estar influenciada por la topografía cuticular, la presencia de setas o espinas puede facilitar este proceso (Sosa, Boucias y Nation, 1997). Una vez la conidia se ha adherido comienza el proceso de germinación que es el retorno de la actividad o metabolismo vegetativo, morfológicamente es la emergencia de la célula vegetativa en forma de un tubo germinativo que crece sobre la superficie cuticular formándose un apresorio que penetra la cutícula (Vargas, 2003), factores

como la humedad ambiental, la temperatura y estado de desarrollo, parte del cuerpo y balance nutricional del insecto pueden influenciar la germinación de la conidia de un hongo entomopatógeno (Volcy y Pardo, 1994; Tanada y Kaya, 1993). La rápida germinación de las conidias puede ser una ventaja ya que evita la exposición a ambientes que pueden ser adversos para el hongo y reduce la posibilidad de que el insecto tenga una respuesta al ataque del mismo (Vega, Meyling, Luangsa-ard y Blackwell, 2012).

Una vez la conidia ha germinado comienza la penetración en la cutícula del hospedero que ocurre como resultado de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica ejercida por el extremo de una hifa invasiva que forma un botón de penetración donde la capa cuticular es deformada por presión (Tanada y Kaya, 1993; Humber, 2009). El modo de penetración principalmente depende de las propiedades de la cutícula del insecto, grosor, esclerotización y la presencia de sustancias anti fúngicas y nutricionales en ella (Charleyn, 1989). El mecanismo químico de penetración de la cutícula involucra una serie de enzimas como proteasas, aminopeptidasas, esterases, lipasas y quitinasas, las cuales causan degradación del tejido en la zona de penetración (Vega *et al.*, 2012).

Durante este proceso de penetración en algunos casos se produce una respuesta no celular, llamada melanización cuticular que puede retardar o detener el proceso de germinación mediante el endurecimiento de la cutícula que forma una barrera contra la penetración del hongo (Humber, 2009; Schrank y Vainstein, 2010). Una vez que el hongo atraviesa la cutícula debe vencer el sistema inmunológico del hospedero antes de entrar a la hemolinfa y desarrollarse dentro del insecto (Madrigal, 2001).

Después de llegar al hemocele, la mayoría de los hongos pasan a una fase levaduriforme o de crecimiento por gemación. Las infecciones causadas por hongos en su gran mayoría tardan más de dos días en causar la muerte del hospedero. Se producen toxinas y enzimas, aunque algunos hongos aparentemente no poseen toxinas, matan el insecto al consumir todos los nutrientes o por destrucción física de sus tejidos (Bustillo, 2001). En la medida que avanza el

proceso de infección el hongo crece y comienza a absorber una proporción cada vez mayor de nutrientes del hospedero, se da una creciente competencia por el oxígeno disuelto disponible y por el crecimiento de las estructuras del hongo se produce una invasión del espacio que impide la circulación de la sangre a través del hemocele (Humber, 2009).

La colonización del hemocele por el hongo produce una alteración del estado fisiológico del insecto y de sus funciones de excreción y respiración provocando la muerte del insecto (Humber, 2009). Los insectos tienen una serie de mecanismos de respuesta al ataque de los hongos como la melanización, la fagocitosis o la encapsulación, también pueden modificar su comportamiento exponiéndose al sol para incrementar su temperatura corporal (Rolff y Reynolds, 2009; Elliot, Blanford, y Thomas, 2002; Roy, Steinkraus, Eilenberg, Hajek y Pell, 2006).

Por otro lado, los hongos pueden evitar la defensa inmune de los insectos mediante diferentes mecanismos como desarrollo de protoplastos que no son reconocidos por los hemocitos del insecto, la formación de cuerpos hifales multiplicándose y dispersándose rápidamente (Samson, Evans y Latge, 1988) y la producción de micotoxinas (Tanada y Kaya, 1993). El papel de las toxinas en el proceso de patogénesis es entre otros actuar como inhibidores de las reacciones de defensa del hospedante por alteraciones de los hemocitos y retardo en la agregación de las células de la hemolinfa (López, Martínez y Barandica, 1994). Posterior al crecimiento del hongo en el hemocele, la micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto y cambios en la coloración en insectos atacados. Después de muerto el insecto, si existe una alta disponibilidad de agua los hongos emergen al exterior a través de la cutícula y esporulan sobre el cadáver produciendo inóculo para infectar a otros insectos. Si las condiciones no son favorables, estos quedan dentro del cadáver, donde pueden sobrevivir por algunos meses y eventualmente producir conidias cuando lleguen las condiciones favorables.

1.5. Hongo *Beauveria bassiana*

1.5.1. Generalidades

Este hongo ha sido aislado de más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de cultivos de importancia económica. La fructificación

está constituida por células conidiógenas que forman conidios sucesivas en un raquis que se desarrolla en forma de zigzag. Ésta fructificación ocurre como synmema o conjunto de células conidiógenas unidas (Gómez, Zapata, Torres y Soberanís, 2011).

Estos hongos presentan colonias blancas que se vuelven crema, amarillo pálidas, incoloras al reverso, amarillas o rojizas, en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) O Agar Extracto de Malta (MEA) presentan aspecto aterciopelado a polvoriento (Gómez, *et al*, 2011).

1.5.2. Importancia

Beauveria bassiana, al igual que otros hongos entomopatógenos, antes de matar a su hospedero le causa síntomas importantes como son: pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis. Con la muerte del insecto, el beneficio se incrementa pues la esporulación y posterior dispersión del hongo, permite un control más allá de la aplicación (Estrada, Romero y Snowball, 1997; Vargas, 2003; Malpartida, 2004).

1.5.3. Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana* descrita por Bischoff *et al.* (2006) es:

Reino	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Clase	: Sordariomycetes
Orden	: Hypocreales
Familia	: Clavicipitacea
Género	: <i>Beauveria</i>
Especie	: <i>bassiana</i>

1.5.4. Características morfológicas

El hongo, a los 15 días de desarrollo forma un micelio de aspecto algodonoso de color blanco. A medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillento. El revés es de color rojizo al centro y amarillento en la periferia, este hongo produce una

enfermedad conocida como “muscardina blanca” debido a que los insectos presentan una morfología característica algodonosa en su cuerpo. El micelio se ramifica formando conidióforos simples e irregulares que terminan en vértices en formas de racimo, el conidióforo es abultado en su base, surgiendo un adelgazamiento en el área donde se insertan los conidios los cuales son globosos de 3 μm de largo y 2 μm de ancho (Ames y Cañedo, 2004).

Los insectos infectados por *Beauveria bassiana*, presentan signos de la enfermedad conocida como muscardina blanca. Los cadáveres, muestran en su superficie una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo, quedando generalmente, momificados (Acosta, 2006; Carballo *et al.*, 2004).

1.6. Antecedentes de investigación

Rodríguez, Gerding y France (2006), reportaron que el mayor porcentaje de mortalidad fue del 50 % en huevos de *Tuta absoluta* Meyrick (Gelechiidae), con una cepa de *Beauveria bassiana*; y las pruebas de aislamientos presentaron 60 % de esporulación.

“La mayor susceptibilidad de los huevos al ataque de patógenos, se debe a que éstos están inmóviles, y los recursos nutricionales que abastecen a las larvas neonatas hasta su eclosión, son también un buen sustrato para microorganismos” (Rupert y Kellner, 2002).

“Las diferencias en los niveles de virulencia de cepas pertenecientes a una misma especie de hongo, se pueden deber a las variaciones genéticas dadas por la especialización hacia un determinado hospedero y por la distribución geográfica de las cepas” (Alves, 1998; Coates *et al.*, 2002).

Malpartida, Narrea y Dale (2013) reportaron en larvas de *Dione juno* con *Beauveria bassiana* a una concentración de 10^7 y 10^6 conidias/ml, 60 y 32% de mortalidad. Solis-Soto *et al.* (2006) a una concentración de 2.4×10^8 conidias/ml, obtuvieron una mortalidad del 93% en larvas de *Cydia pomonella* (Tortricidae).

La patogenicidad evaluada de dos aislamientos de *Beauveria bassiana* (cepas Bb1 y Bb5) sobre larvas de *Diatraea saccharalis*, encontraron que la cepa Bb5 ocasionó

mortalidad de 82,5%, mientras que con la cepa Bb1 la mortalidad fue de 21,3%, lo que indica que se deben buscar cepas específicas de hongos entomopatógenos para el control de la plaga (Arcas, Díaz y Lecuona, 1999).

“De los ensayos de control en larvas de *Carmenta foraseminis*, criadas en laboratorio, se ha logrado determinar que el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* presentó el mayor porcentaje de control de 44% de mortalidad” (Moron, 2017).

“En larvas de *Stenoma cecropia* (Lepidoptera: Elachistidae) con *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio, se reportó promedios con valores superiores al 90% de esporulación” (Valencia, 2007).

Bacca y Lagos (2014), demuestran que la inoculación de las larvas de *Galleria mellonella*, en los diferentes tratamientos con *Beauveria bassiana* presentaron 83,5% y 86,1% de esporulación.

Srisukchayakul, Wiwat y Pantuwatana (2005), mencionan que la germinación de esporas en aislamientos de cepas nativas depende del estadio del hospedero, debido a la variación del integumento, la penetración de los hongos infectivos a través de la cutícula que es precedida por la formación de un apresorio que se fija a la epicutícula y proporciona el punto de apoyo para los procesos mecánicos y enzimáticos. Esto es considerado importante, no sólo desde el punto de vista patogénico, sino que también productivo, ya que una cepa que cause una alta esporulación a bajas concentraciones es más económica para su producción masiva (Butt y Goettel, 2000).

“Las larvas de *Galleria mellonella* en bioensayo de efectividad murieron a los 3 días (72 horas) en todas las formulaciones con *Beauveria bassiana* a excepción del testigo absoluto, en este último no se observó mortalidad mientras duró el bioensayo” (Espinoza y Vallejos, 2016).

“El aislamiento de *Beauveria bassiana* que causó mayor mortalidad fue el obtenido de larvas infectadas de *Spodoptera frugiperda* (Bb42), con mortalidad máxima de 96,6 %, y tiempo de mortalidad de 3,6 días” (García, González y Bautista, 2011).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Ubicación experimental

El trabajo de tesis se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal - Fitopatología, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín, ubicado en la Ciudad Universitaria, Distrito de Morales, Región San Martín.

2.1.2. Aislamientos de *Beauveria bassiana* nativa

Se utilizó dos cepas nativas de *Beauveria bassiana*, procedentes del cepario implementado por el proyecto “Estudio de los principales controladores biológicos para control de *Carmenta foraseminis* (Eichlin, 1995) y *Carmenta theobromae* (Busk, 1910) (Lepidoptera: Sesiidae) en el cultivo de Cacao en la Región San Martín”, dichas cepas según información sin publicar, han sido colectadas sobre larvas de *Carmenta foraseminis* en las zonas de Tabalosos y Juanjui (Tabla 1).

Tabla 1
Descripción de aislamientos

Género	Aislamiento	Procedencia	
		Especie	Lugar
<i>Beauveria bassiana</i>	Cepa 1 (Bs-SMF)	<i>Carmenta foraseminis</i>	Tabalosos
<i>Beauveria bassiana</i>	Cepa 2 (Bb-SMr)	<i>Carmenta foraseminis</i>	Juanjui

Fuente: Elaboración propia, 2018.

2.2. Metodología

2.2.1. Tipo y nivel de investigación

El trabajo se enmarcó en el tipo de investigación aplicada, debido a que busca la utilización y consecuencias prácticas de los conocimientos, siendo su nivel de investigación explicativo, es decir, busca el porqué de los hechos con una investigación experimental.

2.2.2. Diseño experimental

En la investigación se utilizó el diseño completo al azar (DCA); con 9 tratamientos, cada tratamiento tuvo 3 repeticiones, cada repetición tuvo 10 unidades (representando la unidad cada huevo, larva y pupa con su cocón), generando 270 unidades experimentales (Tabla 2). Se desarrolló un análisis de varianza con un nivel de significancia de $p < 0,05$, probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre los tratamientos; previo para el análisis de varianza se sometieron los datos a la evaluación del supuesto de normalidad utilizándose la prueba de Shapiro Wilk (Diz, 2008) y para el supuesto de homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene (Font, 2007), cumpliendo los dos supuestos.

Previo al análisis de varianza, los datos de las variables porcentaje de mortalidad y esporulación fueron transformados a $\arcsen \sqrt{\%}$ (Box y Hunter, 1989). Así mismo para la variable tiempo de mortalidad (días) fue transformado a $\sqrt{(X+0,5)}$ por originarse de conteo (Padron, 1996). Finalmente, los datos fueron sometidos a la prueba Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$. Se almacenaron y analizaron los datos en el software InfoStat 16-04-15, posteriormente para su interpretación, los valores promedios se convirtieron a las unidades originales.

Tabla 2
Descripción de tratamientos de estudio

Tratamiento	Cepa	Estadio
T1	Testigo	Huevo
T2	Testigo	Larva (entre 4 ^{to} y 5 ^{to} instar).
T3	Testigo	Pupa
T4	Cepa 1	Huevo
T5	Cepa 1	Larva (entre 4 ^{to} y 5 ^{to} instar).
T6	Cepa 1	Pupa
T7	Cepa 2	Huevo
T8	Cepa 2	Larva (entre 4 ^{to} y 5 ^{to} instar).
T9	Cepa 2	Pupa

Fuente: Elaboración propia, 2018.

2.2.2.1. Modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} representa la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento, μ representa a la media poblacional a partir de los datos del experimento; τ_i es el efecto del i -ésimo tratamiento a estimar a partir de los datos del experimento, ε_{ij} es el efecto aleatorio de variación.

2.2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.2.3.1. Obtención de *Carmenita foraseminis*.

Para obtener los huevos, larvas y pupas, se tuvo que hacer colectas de frutos de cacao infestados de la parcela del Sr. Genaro Linares, ubicado en la ciudad de Tabalosos.

Para eso se instaló cajas pandora con dieta artificial, establecida por Parra (2007) y modificada a la vez, estas fueron pre esterilizadas por tindalización, que se utilizó en el desarrollo biológico de larvas, desinfectadas al 0,5% de hipoclorito de sodio (NaClO), durante 1 minuto y enjuagadas tres veces con AD estéril, para la obtención de cocones con pupas para las pruebas de patogenicidad. En cuanto a los huevos viables y larvas (entre 4^{to} y 5^{to} instar), se obtuvo mediante la colecta directa de campo, de la misma parcela, desinfectándolos el mismo día de colecta, para ser utilizadas en las pruebas (Figura 1), siguiendo la misma técnica en la desinfección y dieta artificial.



Figura 1. Obtención de *Carmenita foraseminis*. A) En estadio de huevo. B) En estadio de larva. C) En estadio de pupa.

2.2.3.2. Multiplicación del inóculo de *Beauveria bassiana*

a. Preparación de medio de cultivo

Papa Dextrosa Agar (PDA): Se preparó PDA, medio óptimo para el desarrollo de las cepas nativas utilizadas; para un litro de medio se lavó 250 g de papa, estas en trozos se pusieron a cocer (horno microondas) en 500 ml de agua destilada (AD) durante 10 minutos aproximadamente, evitando que se deshaga, después el caldo de papa se filtró en un recipiente limpio y se agregó 10 g de dextrosa. En otro recipiente que contiene 500 ml de AD se diluyó 20 g de agar en el horno microondas. Ambas diluciones fueron mezcladas y agitadas.

La mezcla antes que solidifique, se distribuyó en botellas de vidrio de 200 ml, después fue cerrado con un tapón de algodón y cubierto con papel reciclable, para luego esterilizar a 121°C de temperatura, 15 libras de presión y por espacio de 20 minutos con ayuda de una autoclave vertical a vapor. A la botella de vidrio que contiene el medio de cultivo estéril y tibio (temperatura 25°C aproximadamente) se agregó 10 mg de Cloranfenicol como antibiótico, inmediatamente después el medio de cultivo fue distribuido en placas de Petri 15 x 60 mm (Figura 2).



Figura 2. Preparación de medio (PDA). A) Dilución de papa dextrosa agar embotellado. B) Esterilización de medio PDA en la autoclave. C) Plaqueo de medio PDA en placas de Petri 15 x 60 mm.

b. Reactivación y multiplicación de dos cepas nativas.

Las cepas nativas de *Beauveria bassiana* fueron reactivadas en placas de Petri de 15 x 60 mm que contenían medio PDA+ Cloranfenicol (Antibiótico). Para ello, de los viales se extrajo el hongo y se transfirió a las placas de Petri en condiciones

asépticas (Figura 3). Las placas se colocaron en cámara de incubación a temperatura ambiente por 8 días.

Con las cepas reactivadas se procedió a realizar las pruebas de patogenicidad.

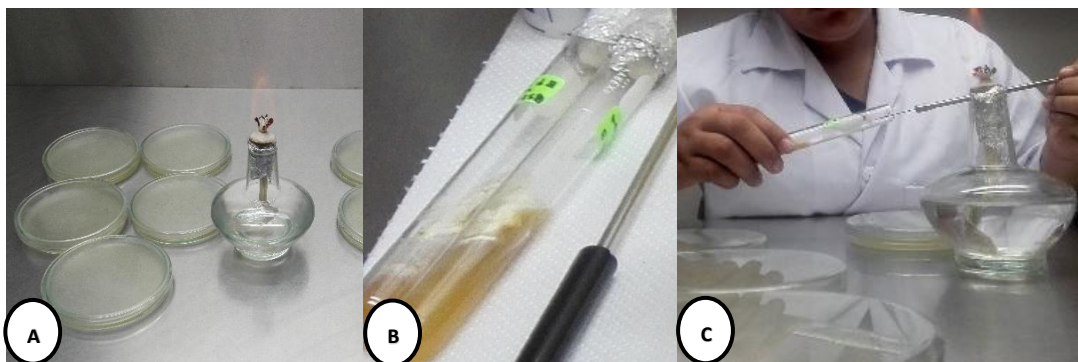


Figura 3. Reactivación e incremento del inóculo de cepas de *Beauveria bassiana*. A) Placas de Petri de 15 x 60 mm conteniendo medio PDA. B) Viales con el hongo. C) Repique de cepas.

2.2.3.3. Determinación de la concentración de conidias.

La cuantificación de la concentración de conidias permitió determinar el número de unidades infectivas, utilizando el siguiente protocolo:

Se preparó la suspensión original de 10 ml de agua estéril con Tween 20 (0,1%), que ayudó a la separación de conidias y a su vez permitió una mejor contabilización, lo que constituyó la dilución 10^0 . Posteriormente se agitó la muestra en vortex aproximadamente por 30 segundos. Luego se realizó la dilución 10^{-1} tomando 1 ml del primer tubo (suspensión madre) y se le adicionó a un tubo con 9 ml de AD estéril, se repitió el procedimiento llevando 1 ml de esta dilución (10^{-1}) a un tubo con 9 ml de AD estéril obteniendo la dilución 10^{-2} .

Después de haber realizado este proceso, las muestras fueron llevadas a observación. Con una pipeta se tomó una alícuota de la última dilución (10^{-2}) y se llenó la cámara de Neubauer por capilaridad, luego se llevó al microscopio binocular y se procedió a contar los conidias en el cuadrante central de la cámara, en la que se consideró cinco cuadrados, los 4 de las esquinas y el del centro (Figura 4). Con esto se determinó las conidias por ml mediante la siguiente fórmula, descrita por French y Hebert (1982):

Conidias / ml = SUMA de 5 C.S. x 50 000; si las conidias son pequeñas.

De las cuales se obtuvo 8×10^5 conidias/ml, y para el número total de conidias, es decir la concentración, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Conidias total} = \frac{\text{Conidias}}{\text{ml}} \times \text{Vol. de suspensión original de conidias}$$

$$\text{Conidias total} = 8 \times 10^5 \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{Conidias total} = 8 \times 10^6 \text{ conidias /ml}$$

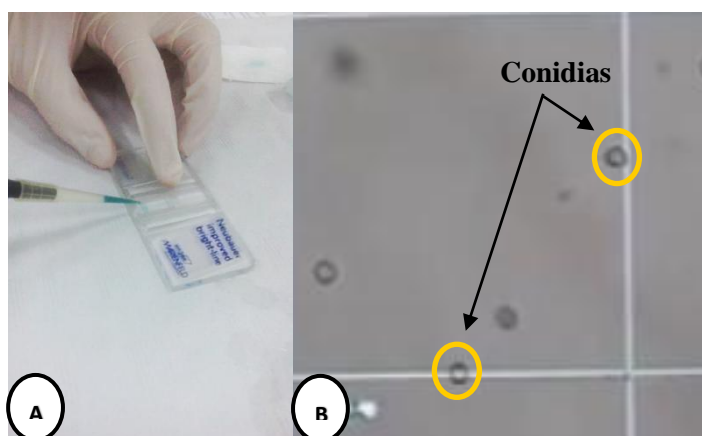


Figura 4. Determinación de la concentración de conidias en cámara de Neubauer. A) Cámara de Neubauer con la dilución preparada del hongo. B) Vista y conteo de los conidias en microscopio binocular.

2.2.3.4. Pruebas de patogenicidad

a. Infección de huevos, larvas y pupas de *Carmenta foraseminis* con *Beauveria bassiana*.

Para la prueba de patogenicidad se utilizaron huevos, larvas (entre 4^{to} y 5^{to} instar) y pupas con cocón de *Carmenta foraseminis* que fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 0,5%, después se realizó mediante inmersión la infección con las dos cepas nativas del hongo *Beauveria bassiana* a concentración de 8×10^6 conidias/ml durante 1 minuto (Figura 5). Como testigo se trataron huevos, larvas y cocones con pupa en AD estéril. Los huevos y larvas tratados fueron transferidos a recipientes de plásticos que contenían dieta artificial pre esterilizada para su alimentación. A diferencia de los cocones con pupas tratadas, que no fueron

ubicados en dietas artificiales, sino en cámaras húmedas. Realizado las pruebas de patogenicidad estos se mantuvieron en un cepario, a temperatura de 28 °C y una H.R. de 60-70%. Las observaciones de mortalidad, esporulación y tiempo de mortalidad se hicieron diariamente durante 15 días.

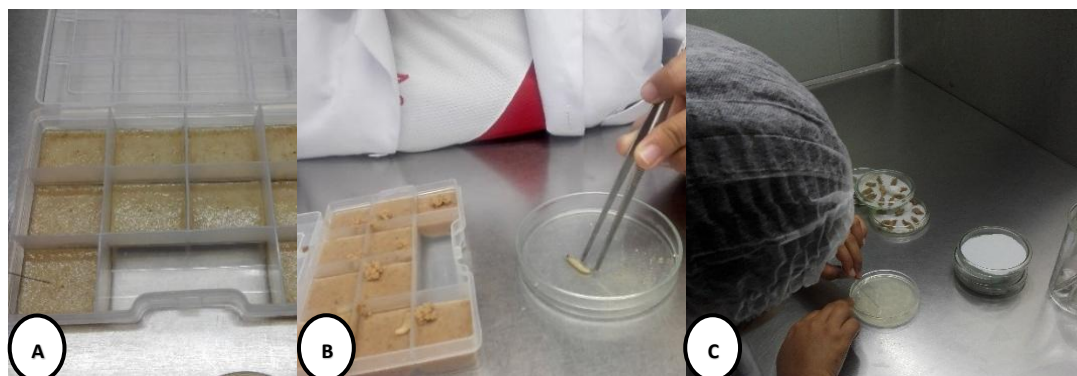


Figura 5. Infección de tres estadios de *Carmentia foraseminis* con *Beauveria bassiana*. A) En estadio de huevo. B) En estadio de larva. C) En estadio de cocón con pupa.

b. Verificación de mortandad con medio PDA

Los individuos tanto en huevos, larvas y pupas, que tenían la característica de mortalidad y esporulación respectivamente, se colocaron en placas de Petri con medio de cultivo, para observar el crecimiento del micelio y verificar si estos murieron por el hongo aplicado (Figura 6).



Figura 6. Verificación de mortandad en medio de cultivo. A) Placas con huevos esporulados. B) Placas con larvas esporulados. C) Placas de cocón con pupas y adultos muertos y esporulados.

2.2.4. Indicadores evaluados

a) Porcentaje de mortalidad

Se determinó con el número de individuos muertos (huevo, larva y pupa) sobre el número inicial de individuos, multiplicado por 100.

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\text{N}^\circ \text{ individuos muertos}}{\text{N}^\circ \text{ inicial de individuos}} \times 100$$

b) Porcentaje de esporulación

Este indicador evaluado se realizó con los individuos muertos, que fueron sometidos a medios de cultivo para verificar si en los tratamientos con las cepas se produce la esporulación de los mismos, y calculamos con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Esporulación} = \frac{\text{N}^\circ \text{ individuos con esporulación}}{\text{N}^\circ \text{ inicial de individuos}} \times 100$$

c) Tiempo de mortalidad

Se determinó el tiempo de mortalidad, cuando la concentración aplicada del hongo, mató más de la mitad de la población, por un periodo de 15 días.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados

3.1.1. Porcentaje de mortalidad

La tabla 3 y la figura 7 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para porcentaje de mortalidad.

Tabla 3

*Análisis de varianza del porcentaje de mortalidad de *Carmenta foraseminis* con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Datos convertidos arcsen $\sqrt{\%}$*

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	24493,861	8	3061,733	81,877	0,00 **
Error	673,093	18	37,394		
Total	25166,954	26			

$R^2 (\%) = 96,1$

CV (%) = 14,6

** = Altamente significativo

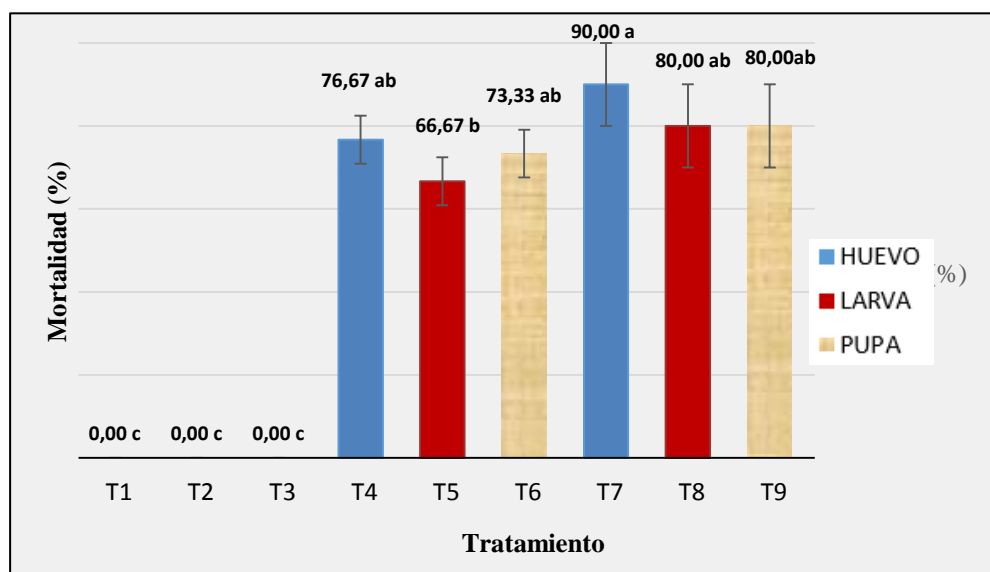


Figura 7. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del porcentaje (%) de mortalidad de *Carmenta foraseminis* (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

3.1.2. Porcentaje de esporulación

La tabla 4 y la figura 8 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para porcentaje de esporulación.

Tabla 4

*Análisis de varianza del porcentaje de esporulación de *Carmenta foraseminis* con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Datos convertidos arcsen $\sqrt{\%}$*

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	28938,421	8	3617,303	121,646	0,00 **
Error	535,253	18	29,736		
Total	29473,674	26			

R^2 (%) = 97,4

CV (%) = 12,0

** = Altamente significativo

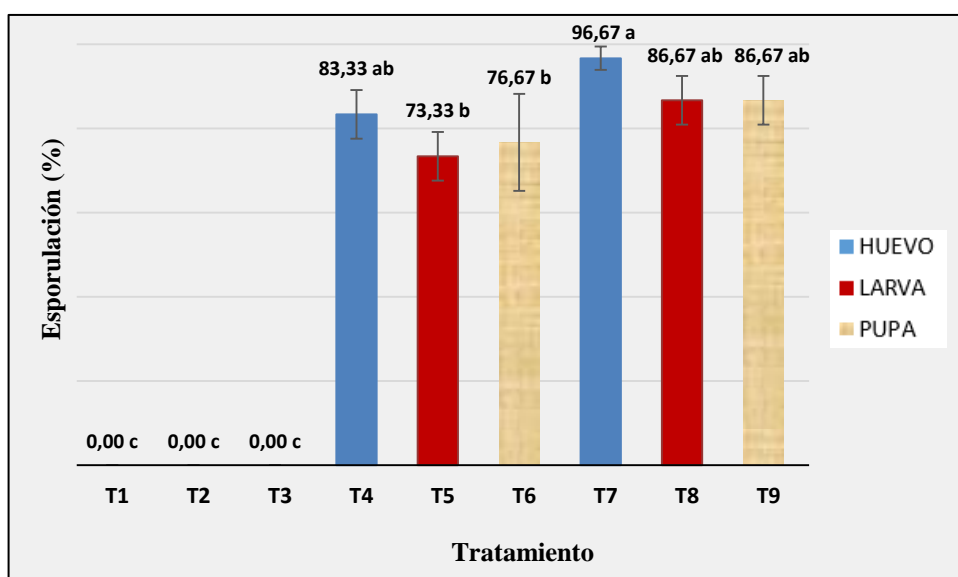


Figura 8. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del porcentaje de esporulación de *Carmenta foraseminis* (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

3.1.3. Tiempo de mortalidad

La tabla 5 y la figura 9 muestran el ANVA y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) respectivamente, para tiempo de mortalidad.

Tabla 5

*Análisis de varianza del tiempo de mortalidad de *Carmenta foraseminis* con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Datos convertidos $\sqrt{(X+0,5)}$*

FV	SCT	GL	SCM	F	Sig.
Tratamiento	30,470	8	3,809	395,519	0,00 **
Error	0,173	18	0,010		
Total	30,643	26			

R^2 (%) = 99,2

CV (%) = 4,6

**= Altamente significativo

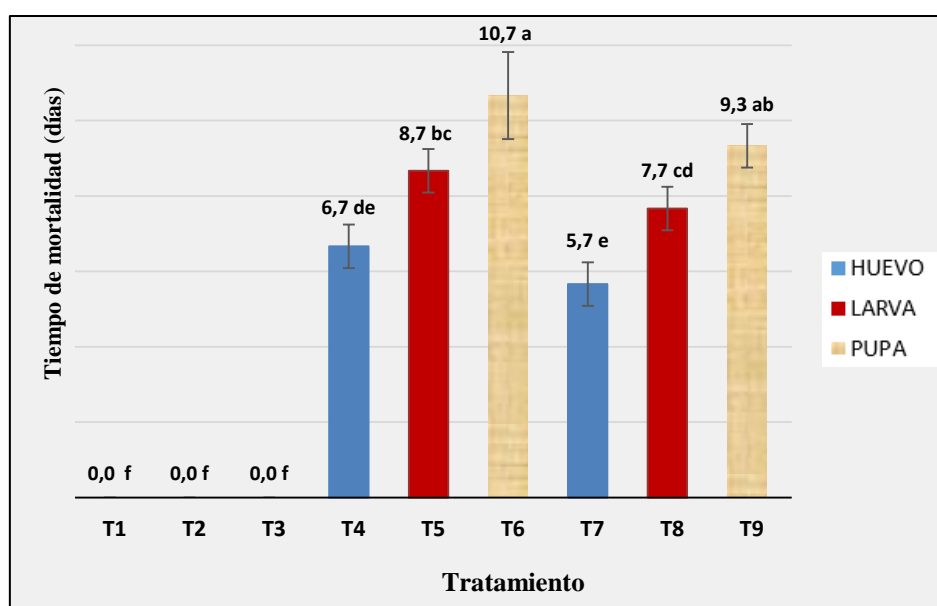


Figura 9. Prueba de Tukey ($p < 0,05$) del tiempo de mortalidad (días) de *Carmenta foraseminis* (huevo, larva y cocón con pupa) con cepas nativas de *Beauveria bassiana*. Letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

3.2. Discusión

3.2.1. Porcentaje de mortalidad

La figura 7, muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con nivel de confianza al 95 % para el porcentaje de mortalidad. Se puede visualizar que el T7 (Cepa 2 en estadio huevo) con 90 %, consiguió el mayor porcentaje de mortalidad, así mismo los tratamientos T1, T2 y T3 considerados como tratamientos testigos, al no haber sido infectados con ninguna cepa de *Beauveria Bassiana*, presentaron 0 % de mortalidad; el porcentaje de mortalidad fluctuó de 76,67-90 %, 66,67-80 %, 73,33-80%, para huevos, larvas y pupas respectivamente.

El estadio de huevo con mortalidad de 76,67-90 %, fue el más susceptible en ambas cepas, esto es sustentado por Rupert y Kellner (2002), cuando manifiestan que la mayor susceptibilidad de los huevos al ataque de patógenos, se debe a que éstos están inmóviles, y los recursos nutricionales que abastecen a las larvas neonatas hasta su eclosión, son también un buen sustrato para microorganismos.

Pero la mortalidad en huevos es superior a lo observado por Rodríguez *et al.* (2006), cuando reportaron 50 % de mortalidad en huevos de *Tuta absoluta* Meyrick (Gelechiidae), con una cepa de *Beauveria bassiana*.

Para la mortalidad de larvas de *Carmenta foraseminis* con *Beauveria Bassiana*, en condiciones de laboratorio, Morón (2017), reportó mortalidad de 44 %. Así mismo Malpartida *et al.* (2013) consiguieron en larvas de *Dione juno* con *Beauveria bassiana* a una concentración de 10^7 y 10^6 conidias/ ml, entre 60 y 32% de mortalidad; los resultados obtenidos son superiores a los resultados que encontraron estos autores, pero es inferior a lo obtenido por Solis-Soto *et al.* (2006), que obtuvieron en larvas de *Cydia pomonella* (Tortricidae) con *Beauveria bassiana* a una concentración de 2.4×10^8 conidias/ ml, la mortalidad del 93%.

Las cepas nativas de *Beauveria bassiana* aisladas de *Carmenta foraseminis* de Tabalosos y Juanjui tienen diferentes resultados en los estadios en estudio, esto es corroborado por Arcas *et al.* (1999), cuando mencionan que dos aislamientos de *Beauveria bassiana* (cepas Bb1 y Bb5) sobre larvas de *Diatraea saccharalis*,

encontraron que la cepa Bb5 ocasionó mortalidad del 82,5%, mientras que con la cepa Bb1 la mortalidad fue del 21,3%, lo que indica que se deben buscar cepas específicas (nativas) de hongos entomopatógenos para el control de la plaga.

Del mismo modo tiene relación (Alves, 1998 y Coates *et al.*, 2002) cuando afirman que las diferencias en los niveles de virulencia de cepas pertenecientes a una misma especie de hongo, puede que se deba a las variaciones genéticas dadas por la especialización hacia un determinado hospedero y por la distribución geográfica de las cepas.

3.2.2. Porcentaje de esporulación

La figura 8, muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con nivel de confianza al 95 % para el porcentaje de esporulación. Se puede visualizar que el T7 (Cepa 2 en estadio de huevo) con 96,67 %, obtuvo el más alto porcentaje de esporulación, así mismo los tratamientos T1, T2 y T3 considerados como tratamientos testigos, al no haber sido infectados con ninguna cepa de *Beauveria Bassiana*, presentaron 0 % de esporulación.

El porcentaje de esporulación fluctuó de 83,33- 96,67%, 73,33-86,67%, 76,67-86,67%, para huevo, larva y pupa respectivamente.

El estadio de huevo con esporulación de 83,33-96,67 %, fue el más susceptible en ambas cepas, estos resultados fueron superiores a lo reportado en otra especie, por Rodríguez *et al.* (2006), que en huevos de *Tuta absoluta* Meyrick (Gelechiidae) de tres aislamientos de *Beauveria bassiana*, tuvieron 60 % de esporulación.

Valencia (2007), reportó en larvas de *Stenoma cecropia* (Lepidoptera: Elachistidae) con *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio, promedios con valores superiores al 90% de esporulación; para otra especie en la esporulación de larvas de *Galleria mellonella*, con *Beauveria bassiana*, Bacca y Lagos (2014), reportaron 83,5% y 86,1% de esporulación; siendo estos resultados inferiores a lo obtenido en el presente trabajo.

Acreditando lo señalado por Srisukchayakul *et al.* (2005), quienes indican que la germinación de esporas en aislamientos de cepas nativas depende del estadio del

hospedero, debido a la variación del integumento, la penetración de los hongos infectivos a través de la cutícula que es precedida por la formación de un apresorio que se fija a la epicutícula y proporciona el punto de apoyo para los procesos mecánicos y enzimáticos. Esto es considerado importante, no sólo desde el punto de vista patogénico, sino que también productivo, ya que una cepa que cause una alta esporulación a bajas concentraciones es más económica para su producción masiva (Butt y Goettel, 2000).

3.2.3. Tiempo de mortalidad

La figura 9, muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey con nivel de confianza al 95 % para el tiempo de mortalidad, se puede observar que el T7 (Cepa 2 en estadio de huevo) obtuvo menor tiempo con 5,7 días, así mismo los tratamientos T1, T2 y T3 considerados como tratamientos testigos, que no fueron infectados con ninguna cepa de *Beauveria Bassiana*, no presentaron tiempo de mortalidad.

El tiempo de mortalidad fluctuó de 5,7-6,7 días, 7,7-8,7 días, 9,3-10,7 días, para huevo, larva y pupa respectivamente.

Para el tiempo de mortalidad de larvas de *Galleria mellonella* con *Beauveria bassiana*, Espinoza y Vallejos (2016), reportaron 3 días de mortalidad, evidenciando menor tiempo con respecto a lo obtenido en larvas de *Carmentia foraseminis* que fluctuó de 7,7-8,7 días.

En larvas de *Spodoptera frugiperda* con *Beauveria bassiana*, García *et al.* (2011), menciona que la mortalidad máxima fue de 96,6 %, y con tiempo de mortalidad de 3,6 días, siendo superior a los resultados logrados en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

En base a las condiciones que se realizó el trabajo de investigación y a los resultados obtenidos en el período de evaluación, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. De las evaluaciones a nivel de laboratorio, sobresalió el tratamiento T7 (Cepa 2 en estadio de huevo) con 90 % de mortalidad y 96,67 % de esporulación.
2. El T7, logró un menor tiempo de mortalidad con 5,7 días, correspondiente a la cepa 2 de *Beauveria bassiana* y al estadio de huevo de *Carmenta foraseminis*.
3. Por lo que se concluye que la cepa 2 de *Beauveria bassiana* y que el estadio de huevo tuvieron mejores resultados en los tres indicadores evaluados, deduciendo que si es patogénico para el control de la plaga *Carmenta foraseminis*, a comparación de la cepa 1, y de los estadios de larva y cocón con pupa que han tenido buenos resultados pero no superan al T7.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda aplicar cepas nativas de *Beauveria bassiana*, en este caso la Cepa 2, que alcanzó mayor efectividad en el control de *Carmenta foraseminis*, como parte del Manejo Integrado del Cacao, además de disminuir la presencia del mazorquero del cacao, contribuye a la conservación del medio ambiente y no es perjudicial o tóxico al hombre, todo esto en condiciones de campo.
2. Por las dificultades en la obtención de huevos de las hembras de *Carmenta foraseminis* y a su vez el desarrollo del ciclo biológico, se recomienda adecuar metodologías para lograr una crianza en laboratorio.
3. Los bajos rendimientos del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en la zona de San Martín, se deben entre otras razones, a la presencia de *Carmenta foraseminis*, ocasionando importantes pérdidas económicas, por ello se recomienda ejecutar más trabajos de investigación para el manejo de esta plaga con otros entomopatógenos nativos y otras tácticas de control.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S. (1998). *Fungos entomopatogenicos*. In S.B. Alves (ed.) Controle microbiano de insetos. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), Piracicaba, Sao Paulo, Brasil, pp. 289-370.
- Ames, T., y Cañedo, V. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos* (Primera edición). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú, pp.62.
- Arcas, J., Díaz, B. y Lecuona, R. (1999). *Bioinsecticidal activity of conidia and dry mycelium preparations of two isolates of Beauveria bassiana against the sugarcane borer Diatraea saccharalis*. *Journal of biotechnology*, 67(2): 151-158.
- Bacca, T., y Lagos B. (2014). Efecto de *Beauveria bassiana* y del entomonemátodo *Steinernema* sp. sobre larvas de *Galleria mellonella*. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas*, 18 (1), 247-258.
- Bischoff, J., Domrachev, M., Federhen, S., Hotton, C., Leipe, D., Soussov, V., Sternberg, R., y Turner, S. (2006). *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. Recuperado de: <http://ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
- Box, G. y Hunter, W. (1989). *Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de los datos y construcción de modelos*. Ed. Reverté S.A. Estados Unidos, p. 675.
- Bustillo, A. (2001). *Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia*. In: seminario. Uso de entomopatógenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, pp. 30–53.
- Butt, T., y Goettel, M. (2000). *Bioassays of entomogenous fungi*. In A. Navon y K.R. Ascher (eds.). *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 141-196.
- Calderón, J. (2017). *La temible “Carmenita” avanza y devora entre el 30 y 70 por ciento de cacao en Huánuco y Cusco*. Recuperado de:

<https://agronegociosperu.org/2017/04/07/la-temible-carmenta-avanza-y-devora-entre-el-30-y-70-por-ciento-de-cacaos-en-huanuco-y-cusco/>

- Charleyn, A. (1989). *Mycoinsecticides: present use and future prospects*. BCPC mono. Progress and prospects. USA. *Insect Control*, (43), 165-181.
- Coates, B., Hellmich, R., y Lewis, L. (2002). Allelic variation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) minisatellite is independent of host range and geographic origin. *Genome*, 45, 125-132.
- Cubillos, G. (2013). *Manual del perforador de la mazorca del cacao. Carmenta foraseminis* (Busck) Eichlin. Medellín, Colombia.
- Delgado, P. (2005). *Caracterización morfológica de los Sesiidae* (Insecta: Lepidoptera) perforadores del fruto del cacao (*Theobroma cacao* L.), presentes en la región costera del estado Aragua, Venezuela. *Entomotropica*, 20(2), 97-111.
- Diz, R. (2008). *Métodos para evaluar normalidad y homogeneidad de varianza*. Relación con el tamaño de muestra. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba, p. 44.
- Eichlin, D. (1995). A new Panamanian Clearwing Moth (Sesiidae: Sesiine). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 49, 39-42.
- Elliot, S., Blanford, S., y Thomas, M. (2002). *Host pathogen interactions in a varying environment: temperature, behavioural fever and fitness*. Proc. R. Soc. Lond. B, 269, 1599-1607.
- Ernest, S., y Brown, J. (2001). *Homeostasis and compensation: The role of species and resources in ecosystem stability*. *Ecology*, 82(8), 2118-2132
- Espinoza, G. y Vallejos, F. (2016). *Desarrollo de formulaciones bioplaguicidas a base de Beauveria bassiana (Bals & Vuils) con materiales sólidos y líquidos* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía, Managua, Nicaragua.

- Estrada, M., Romero, M., y Snowball, M. (1997). Aplicación de *Beauveria bassiana* en la Lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*. *Revista Caña de Azúcar*. 15 (1), 39-43.
- French, E., y Hebert, T. (1982). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.
- Font, H. (2007). *Estudio de precisión en la variable de producción* (Tesis de maestría). 84 p.
- García, C., González, M. y Bautista, N. (2011). Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Colomb. Entomol*, 37(2).
- García, C. (2010). *Cultivares de Cacao del Perú*. MINAGRI, DEVIDA. Lima, Perú, 108 p.
- Ghikas, D., Kouvelis, V., y Typas, M. (2010). Phylogenetic and biogeographic implications inferred by mitochondrial intergenic region analyses and ITS1-5.8S-ITS2 of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii*. *BMC Microbiol*, 10, 174.
- Gil, J. (2017). El “Mazorquero del cacao” (*Carmenta foraseminis* Echlin) destruye los cacaotales en la Amazonía Peruana. Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Köhl, J., y Stewart, A. (2012). *Have biopesticides come of age*. *Trends in biotechnology*, 30 (5), 250-258.
- Gómez, H., Zapata, A., Torres, E. y Soberanís, W. (2011). *Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos*. Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú.
- Harms, K., y Aiello, A. (1995). Seed-boring by tropical clearwing moths (Sesiidae). Aberrant behavior or widespread habit. *Journal of the Lepidopterist' Society*, 49(1), 43-48.

- Hayek, A., y Leger, R. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect host. *Annual Review of Entomology United States*, (39), 293 – 322.
- Holder, D., y Keyhani, N. (2005). Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to substrates. *Appl. Environ Microbiol*, 71, 5260-5266
- Humber, R. (2009). *Entomogenous fungi*. In M. Schaechter (Tercera Edición). San Diego: Academic Press. *Encyclopedia of Microbiology*, 3, 443-456.
- López, M., Rodríguez, D., y Lopera, O. (2014). Production of conidia of *Beauveria bassiana* in solid-state culture: current status and future perspectives. *Critical reviews in biotechnology*, (0), 1-8.
- López, F., Martínez, M., y Barandica, J. (1994). *Four new species of the genus Leptanilla from Spain - Relationships to other species and ecological issues*. *Sociobiology*, 24 (2), 179-212.
- Madrigal, A. (2001). *Fundamentos de Control Biológico*. Universidad Nacional de Medellín, Facultad de Ciencias, p. 453.
- Malpartida, J. (2004). Patogenicidad de *Beauveria brongniartii* en *Premnotrypes suturicallus*. Tesis para optar el grado de Biólogo. Universidad Nacional Federico Villarreal.
- Malpartida, J., Narrea, M. y Dale, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12, 2.
- Meyling, N., Lubeck, M., Buckley, E., Eilenberg, J., y Rehner, S. (2009). *Community composition, host range and genetic structure of the fungal entomopathogen Beauveria in adjoining agricultural and seminatural habitats*. *Molecular Ecology*, 18, 1282–1293.
- Ministerio de Agricultura y Riego - Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria (Minagri-DGPA-DEEIA). (2016). *Estudio del cacao en el Perú y en el Mundo*. Un análisis de la producción y el comercio.

- Morillo, F., Hernández, V., Sánchez, P., Herrera, B., Liendo, C., Muñoz, W., y Rengifo A. (2007). Biología y Comportamiento del Perforador de frutos del Cacao, *Carmenta theobromae*, (Busck) (Lepidoptera: Sesiidae). *Entomología Mexicana*, 6(1), 149-154.
- Moron, S. (2017). Estado fitosanitario del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en el sector de Altos Peregrinos, Distrito de Daniel Alomía Robles, Provincia de Leoncio Prado.
- Navarro, R. (2006). *Control de insectos perforadores de la mazorca del cacao en la zona central de Venezuela*. INIA Divulga, pp. 19-21.
- Navarro, R., Clavijo, J., Vidal, R., y Delgado, N. (2001). *Carmenta foraseminis* Eichlin (Lepidoptera: Sesiidae), nuevo insecto plaga de importancia económica en el cacao de la zona norte costera del estado Aragua. Resúmenes XVII Congreso Venezolano de Entomología, Maturín, p. 99.
- Padron, E. (1996). *Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería*. Ed. Trillas. México, p. 215.
- Parra, J. (2007). *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. ESALQ/USP/Dpto. de Entomologia, Fitopatologia y Zoologia Agrícola, p. 134.
- Ramírez, M., Cabezas, O., y Gil, J. (2015). *Estado fitosanitario del cultivo de cacao en el Valle del Huallaga y Monzón, Región Huánuco*. Laboratorio de Fitopatología, Universidad Nacional Agraria de la Selva-UNAS.
- Rehner, S., Posada, F., Buckley, E., Infante, F., Castillo, A., y Vega, F. (2006). Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *J Invert Pathol*, 93, 11–23.
- Rodríguez M., Gerding M., y France, A. (2006). *Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, Tuta absoluta meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae)*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, Chile. *Agricultura Técnica*, 66(2), 151-158.

- Rolff, J., y Reynolds, S. (2009). *Insect Infection and Immunity: Evolution, Ecology and Mechanisms*. Oxford: Oxford University Press.
- Roy, H., Steinkraus, D., Eilenberg, J., Hajek, A., y Pell, J. (2006). *Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts*. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 331-357.
- Rupert, L., y Kellner, L. (2002). *The role of microorganisms for eggs and progeny*. In M. Hilker and T. Meiners (eds.). *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*. Blackwell Publishing Ltd., Berlin, Germany, p. 149-164.
- Samson, R., Evans, H., y Latge, J. (1988). *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, New York, pp. 187.
- Sánchez, J., y Herrera, M. (2005). Ciclo biológico del perforador del fruto de cacao *Carmenta foraseminis* en condiciones de laboratorio.
- Schrank, A., y Vainstein, M. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, 56, 1267-1274.
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA. (2016). Estado Fitosanitario del cultivo de cacao (*Theobromae cacao* L.) en San Martín.
- Shalom Noticias (22 de noviembre de 2016). *La Carmenta” destruye producción de cacao en Tingo María*. Recuperado de: <http://www.shalomplus.com.pe/la-carmenta-o-masoquero-destroza-producción-de-cacao-en-tingo-maría/>
- Solis-Soto A., García-Gutiérrez C., González-Maldonado M., Medrano-Roldán H. y Galán-Wong L. (2006). Toxicidad de Blastosporas de *Beauveria bassiana* contra palomilla del Manzano *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Folia Entomol. Mex.*, 45(2): 195-200.
- Sosa, D., Boucias, D., y Nation, J. (1997). Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. *J. Invertebr. Pathol*, 69, 31-39.

- Srisukcha yakul, P., Wiwat, C., y Pantuwatana, S. (2005). Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*. *Science Asia* 31, 273-276.
- Tanada, Y., y Kaya, H. (1993). *Insect Pathology*. Academy Press. New York: Mc-Graw Hill.
- Valencia, C. (2007). *Patogenicidad de hongos entomopatógenos del género Beauveria sp. sobre larvas de Stenoma cecropia (Lepidoptera: Elachistidae), en condiciones de laboratorio*. Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite - Cenipalma ISSN.
- Vargas, M. (2003). *Caracterización de tres cepas de Beauveria brongniartii y su efecto en larvas de Phthorimaea operculella* (Tesis de pregrado). UNMSM. Perú, p. 14.
- Vega, F., Meyling N., Luangsa-ard J., y Blackwell M. (2012). *Fungal Entomopathogens*. En: insect pathology, Segunda edición.
- Vivas, A., Sánchez, L., Moncada, A., y Márquez, D. (2005). *Cacao: Aspectos agronómicos para su cultivo*. San Cristóbal- Estado de Táchira.
- Volcy, C., y Pardo, V. (1994). *Principios de Micología*. Décimo novena edición. Centro de publicaciones, Universidad Nacional de Colombia, p. 141.
- Whipps, J., y Lumsden, R. (2001). *Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects*. Fungal biocontrol agents: progress, problems and potential, pp. 9-22.

ANEXOS

Tabla 6

Datos generales de las evaluaciones de cada tratamiento

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	Descripción	% de Mortalidad	% de Mort.Conv.	% de Esporulación	% de Esp.Conv.	Tiempo de mortalidad (Días)	Tiemp.Mor.Conv.
T1	1	Testigo en Huevo	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T1	2	Testigo en Huevo	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T1	3	Testigo en Huevo	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T2	1	Testigo en Larva	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T2	2	Testigo en Larva	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T2	3	Testigo en Larva	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T3	1	Testigo en Pupa	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T3	2	Testigo en Pupa	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T3	3	Testigo en Pupa	0	0.0	0	0.0	0	0.7
T4	1	Cepa 1 en huevo	70	56.8	90	71.6	6	2.5
T4	2	Cepa 1 en huevo	80	63.4	80	63.4	7	2.7
T4	3	Cepa 1 en huevo	80	63.4	80	63.4	7	2.7
T5	1	Cepa 1 en larva	70	56.8	80	63.4	8	2.9
T5	2	Cepa 1 en larva	70	56.8	70	56.8	9	3.1

T5	3	Cepa 1 en larva	60	50.8	70	56.8	9	3.1
T6	1	Cepa 1 en pupa	70	56.8	70	56.8	10	3.2
T6	2	Cepa 1 en pupa	80	63.4	90	71.6	12	3.5
T6	3	Cepa 1 en pupa	70	56.8	70	56.8	10	3.2
T7	1	Cepa 2 en huevo	90	71.6	100	90.0	6	2.5
T7	2	Cepa 2 en huevo	80	63.4	90	71.6	5	2.3
T7	3	Cepa 2 en huevo	100	90.0	100	90.0	6	2.5
T8	1	Cepa 2 en larva	70	56.8	80	63.4	8	2.9
T8	2	Cepa 2 en larva	90	71.6	90	71.6	8	2.9
T8	3	Cepa 2 en larva	80	63.4	90	71.6	7	2.7
T9	1	Cepa 2 en pupa	90	71.6	90	71.6	10	3.2
T9	2	Cepa 2 en pupa	80	63.4	90	71.6	9	3.1
T9	3	Cepa 2 en pupa	70	56.8	80	63.4	9	3.1
		PROMEDIO		41.99		45.38		2.18
		CME		37.394		29.736		0.010
		CV (%)		14.6		12.0		4.6

Tabla 7

Supuesto de normalidad de datos utilizándose la prueba de Shapiro Wilk

V. Dependiente	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
% Mortalidad	0,754	27	0,084
% Esporulación	0,735	27	0,060
Tiempo de Mortalidad	0,835	27	0,790

Tabla 8

Supuesto de igualdad de varianzas de datos utilizándose la prueba de Levene

Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error				
V. Dependiente	F	df1	df2	Sig.
% Mortalidad	2,100	8	18	0,091
% Esporulación	4,111	8	18	0,084
Tiempo de Mortalidad	3,923	8	18	0,078



Figura 10. Establecimiento del estadio de huevo - *Carmenta foraseminis* con *Beauveria bassiana* (Prueba de patogenicidad).



Figura 11. Establecimiento del estadio de larva - *Carmenta foraseminis* con *Beauveria bassiana* (Prueba de patogenicidad).



Figura 12. Establecimiento del estadio de pupa - *Carmenta foraseminis* con *Beauveria bassiana* (Prueba de patogenicidad).

Acta de Entrega de Material Biológico

Banco de Hongos de Entomopatógenos de Cacao – SENASA, Vitarte

Fecha: 26/01/2018

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

MARISCAL CASERES - JUANJUI - CHAMBIRA Y HUICUNGO					
CLAVE	SEÑOR	HONGO	N° DE TUBOS	C. SENASA	
d	MCJJH	PEDRO	<i>Beauveria bassiana</i>	2	Bb-SMd
k	MCJJCH	JOSE	<i>Fusarium verticilloides</i>	2'	Fsp-SMk
M	MCJJH	PEDRO	NN	2	M-SM-NN
p	MCJJCH	JOSE	<i>Beauveria bassiana</i>	2	Bb-SMp
q	MCJJCH	KELLY	<i>Isaria fumosorosea</i>	2	If-SMq
r	MCJJCH	JOSE	<i>Beauveria bassiana</i>	2	Bb-SMr
u	MCJJH	EDILBERTO	<i>Beauveria bassiana</i>	2	Bb-SMu
v	MCJJH	EDILBERTO	<i>Isaria fumosorosea</i>	2	If-SMv
y	MCJJH	KELLY	<i>Fusarium sp.</i>	2	Fsp-SMy
a ¹	MCJJCH	JOSE	N. N	2	SMa1
b ¹	MCJJCH	JOSE	<i>Fusarium sp.</i>	2	SMb1

MCJJ: Mariscal Cáceres – Juanjui

LAMAS - TABALOSOS - SAN ROQUE DE CUMBAZA – URUWASHA					
CLAVE	SEÑOR	HONGO	N° DE TUBOS	C. SENASA	
E)	LSRC	JORGE	N.N	2	E-SM
F)	LT	GENARO	<i>Beauveria bassiana</i>	2	Bs-SMF
I)	LSRC	RUPERTO	<i>Isaria sp.</i>	2	I.Sp-SMI
K)	LT	GENARO	<i>Fusarium verticilloides</i>	2	F.sp-SMK

LSRC: San Roque de Cumbaza LT: Lamas – Tabalosos



EYSIS JOSE FLORES GARCÍA
UNSM-T



JAVIER MARTIN TENORIO CANTORAL
Laboratorio de Entomopatógeno

Figura 13. Identificación y validación de las cepas de *Beauveria bassiana* por el SENASA.



PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego



SENASA
Servicio Nacional de Sanidad Agraria
PERÚ

"Decenio de igualdad de oportunidades para mujeres y hombres"
"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

SERVICIO TÉCNICO EN IDENTIFICACIÓN

ST. 01b. 2018

DESTINATARIO:
Ing. Manuel Doria Bolaños
Coordinador General del Proyecto Carmenta
Universidad Nacional de San Martín
gfachinr@gmail.com
FECHA DE RECEPCIÓN: 08/01/2018

PROCEDENCIA: Chimbira- San Martín
COLECTOR: Gracia Fachin Ruiz
FECHA DE COLECCIÓN : Diciembre 2017
REFERENCIA: Carta N°01-2018/ UNSM-INIA/PNIA/UPSM/IE Fecha 08 Enero 2018

FECHA DE IDENTIFICACIÓN : 18/01/2018
FECHA ENVÍO DOCUMENTO: 18/01/2018

Código CCB	ESPECIE IDENTIFICADA	HOSPEDADOR O PRESA	CULTIVO	N° INDIVIDUOS		IDENTIFICADO POR
				H	M	
002 (T)	<i>Carmenta forseminis</i> Eichlin		Cacao	05	04	Elizabeth Núñez S

OBSERVACIONES:
RECOMENDACIONES:
Para publicaciones referir la fuente indicando el nombre del identificador y SENASA como institución de apoyo



ENF
Elizabeth Núñez Sacarias de Dioses
Unidad MIP/MUSEO SCB

ENF
Elizabeth Núñez Sacarias.
Taxónomo

Av. La Molina N° 1915, La Molina - Lima
T: (511) 313-3300
www.senasa.gob.pe
www.minagri.gob.pe



Trabajando para todos los peruanos

Figura 14. Identificación y validación de la especie *Carmenta forseminis* por el SENASA.