

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA



TESIS DE GRADO

EVALUACIÓN DE TRES CEPAS DE (*Beauveria bassiana* A.) PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE (*Eloria noyesi* S.) DEL CULTIVO DE COCA (*Erythroxylum coca* L.) EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA COMUNIDAD DE EL COLPAR SUD YUNGAS DE LA PAZ

YOBAN EUDIS MAMANI BALLON

LA PAZ - BOLIVIA

2021

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**

**EVALUACION DE TRES CEPAS DE (*Beauveria bassiana* A.) PARA EL
CONTROL BIOLÓGICO DE (*Eloria noyesi* S.) DEL CULTIVO DE COCA
(*Erythroxylum coca* L.) EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA
COMUNIDAD DE EL COLPAR SUD YUNGAS DE LA PAZ**

Tesis de grado presentado como requisito parcial
Para optar el Título de Ingeniero Agrónomo

YOBAN EUDIS MAMANI BALLON

ASESORA:

Ing. M.Sc. Teresa Ruiz-Díaz Luna Pizarro

REVISORES:

Ing. PhD. David Cruz Choque

Ing. Freddy Antonio Cadena Miranda

Ing. Estanislao Poma Loza

APROBADO

Presidente Tribunal Examinador:

LA PAZ – BOLIVIA

2021

DEDICATORIA

A mí señor padre David E. Mamani V. y mí señora madre Mirian Ballón M. por su amor, comprensión y paciencia interminable.

A mí hermana por el apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la vida, salud y permitirme terminar con el proceso de investigación.

A los catedráticos por su calidad profesional, humana y contribución del presente trabajo:

Ing. M.Sc. Teresa Ruíz-Díaz Luna Pizarro (Asesora)

Ing. PhD. David Cruz Choque (Revisor)

Ing. Freddy Antonio Cadena Miranda (Revisor)

Ing. Estanislao Poma Loza (Revisor)

A la Universidad Mayor de San Andrés, pilar fundamental en el desarrollo científico de Bolivia, en especial los Docentes de la Facultad de Agronomía.

¡Que Dios los bendiga siempre!

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCION	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Justificación.....	2
II. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo General	2
2.2. Objetivo Específico	3
III. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
3.1. Producción nacional y regional de coca	3
3.1.1. Superficie cultivada con coca a nivel nacional	3
3.1.2. Superficie cultivada con coca a nivel regional	4
3.2. Caracterización del cultivo de coca	5
3.2.1. La Planta de la coca (<i>Erythroxylum coca</i>)	5
3.2.2. Clasificación Taxonómica	5
3.2.3. Plagas del cultivo de hoja de coca	6
3.3. Características de la plaga <i>Eloria noyesi</i>	6
3.3.1. El Ulo	6
3.3.2. Clasificación taxonómica.....	6
3.3.3. Morfología	7
3.3.4. Ciclo de vida	7
3.3.5. Daños al cultivo	8
3.4. Control biológico	9
3.5. Características de los hongos entomopatógenos	10
3.5.1. <i>Beauveria bassiana</i>	10

3.5.2. Clasificación taxonómica del hongo	11
IV. LOCALIZACION	12
4.1. Localización	11
4.2. Microlocalización	12
4.3. Fisiografía	13
4.4. Características del Ecosistema	14
V. MATERIALES Y METODOS	16
5.1. Materiales	16
5.1.1. Material de laboratorio	16
5.1.2. Material biológico	16
5.2. Metodología	17
5.2.1. Antecedentes de calidad de las cepas del hongo <i>B. bassiana</i>	17
5.2.2. Trabajos preliminares antes del bioensayo	17
5.2.2.1. Preparación del medio cultivo	17
5.2.2.2. Activación y siembra del hongo	18
5.2.2.3. Siembra del hongo a partir de la cepa madre	18
5.2.2.4. Control de Calidad	19
5.2.2.5. Recolección de larvas y aplicación del hongo	19
5.3. Diseño experimental	20
5.4. Croquis experimental	20
5.5. Análisis estadístico	21
5.6. Variables de respuesta	21
VI. RESULTADO Y DISCUCIONES	22

6.1. Temperatura.....	22
6.2. Humedad.....	22
6.3. Determinar la patogenicidad del hongo	23
6.4. Porcentaje de mortalidad	25
6.4.1. Mortandad por otras causas y sobrevivencia de <i>E. noyesi</i>	28
6.5. Modo de acción del entomopatogeno	28
6.6. Evaluación del grado de virulencia	29
6.6.1. Tiempo letal medio (TL ₅₀).....	29
6.6.2. Tiempo letal (TL ₉₅).....	30
VII. CONCLUSIONES	27
VIII. RECOMENDACIONES	28
IX. BIBLIOGRAFIA	29
X. ANEXOS	32

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de Ulo.....	8
Figura 2. Comunidad del Colpar.....	12
Figura 3. Croquis experimental	21
Figura 4. Temperatura	22
Figura 5. Humedad	23
Figura 6. Mapa del Municipio de Chulumani	37
Figura 7. Comunidad del Colpar	37

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cultivo de coca en Bolivia, 2009-2019 (hectáreas)	4
Tabla 2. Cultivos de coca por regiones 2009-2019 (hectáreas)	4
Tabla 3. Especies identificadas en la zona	15
Tabla 4. Calidad de las cepas en estudio.....	17
Tabla 5. Activación y reproducción masiva del hongo.....	19
Tabla 6. Análisis de varianza de patogenicidad	23
Tabla 7. Prueba de medias Duncan	24
Tabla 8. Análisis de varianza de mortalidad.....	25
Tabla 9. Prueba de medias Duncan	26
Tabla 10. Mortandad por otras causas y sobrevivencia	28
Tabla 11. Análisis de varianza tiempo letal medio	30
Tabla 12. Prueba de medias Duncan	30
Tabla 13. Análisis de varianza tiempo letal al 95%	31

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 1. Lavado de los materiales	41
Fotografía 2. Cubrimiento de las placas petri	41
Fotografía 3. Preparación de la solución SDA.....	41
Fotografía 4. Desinfección en olla a presión	41
Fotografía 5. Desinfección con ultra violeta	41
Fotografía 6. Solución SDA homogenizada	41
Fotografía 7. Cepa 24 activada	42
Fotografía 8. Cepa 13 activada	42
Fotografía 9. Cepa 9205 activada	42
Fotografía 10. Inoculación en medios de arroz	42
Fotografía 11. Pérdida de humedad.....	42
Fotografía 12. Área de inoculación para larvas	42
Fotografía 13. Cultivo de coca.....	43
Fotografía 14. Presencia de larvas en el cultivo.....	43
Fotografía 15. Larvas recolectadas	43
Fotografía 16. Solución SDA homogenizada.....	43
Fotografía 17. Cultivo infestado de larvas	43
Fotografía 18. Manifestación del hongo T ₃ (Cepa 24)	43
Fotografía 19. Larvas infestadas por <i>B. bassiana</i>	43
Fotografía 20. Larva cubierta por el hongo	44
Fotografía 21. Unidades experimentales afectadas	44
Fotografía 22. Tratamiento T ₁ (Cepa 9205) afectado	44
Fotografía 23. Tratamiento T ₃ (Cepa 24) afectado	44

Fotografía 24. Tratamiento T ₂ (Cepa 13).....	44
----------------------------------------------------------	----

RESUMEN

La Comunidad de el Colpar es una zona productora del cultivo de coca de los Yungas de La Paz, según las UNODC 2019 en los últimos años sea incrementado en un 10% la superficie cultiva, la plaga insectil *Eloria noyesi* causa daños en las hojas del cultivo provocando pérdidas en la economía de los productores y fomentando el uso de plaguicidas, los entomopatogenos son microorganismos que causas perjuicios sobre insectos plaga y son amigables con el medio ambiente.

Mediante el bioensayo se evaluó la patogenicidad, mortalidad, modo de acción y virulencia de las cepas del hongo *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Eloria noyesi* que fueron recolectados de un cultivo de coca con una restricción de aplicaciones químicas de 1 año favoreciendo el proceso germinativo del entomopatogeno, las larvas se desinfectaron por inmersión en solución de alcohol al 0,3% por 3 segundos y se lavaron 3 veces con agua destilada, luego se expusieron a soluciones fúngicas a una concentración de 1×10^7 conidias/mililitro por aspersion. Se colocaron las larvas en cajas Petri con discos de papel absorbente húmedo, se evaluó los siguientes tratamientos: T₀ (Sin inculo) T₁ (Cepa Bb. 9205) exótica de Colombia, T₂ (Cepa nativa 13 U/VB), T₃ (Cepas nativa 24 PV/CC). Después de las 24 horas de la inoculación, las larvas tratadas con el hongo presentaron síntomas de enfermedad; menor actividad, dificultad de movimiento y descoordinación. Los resultados mostraron larvas patogenizadas en promedio de los tratamientos; T₁ (Cepa 9205) con 5,5 larvas, T₂ (Cepa 13) con 3,25 larvas, T₃ (Cepa 24) con 7,25 larvas, con porcentajes de mortalidad de 57%, 63% y 75,5% y un TLM₅₀ de 83,52 horas, 72 horas, 46,8 horas en el orden ya mencionado, en cuanto al TL₉₅ no presentaron significancia obteniendo resultados similares. Se identificó un desarrollo del hongo *B. bassiana* sobre *Eloria. noyesi* donde los T₁ (Cepas 9205) y T₂ (Cepa 13) presentaron anomalías en el desarrollo llegando a desintegrarse antes de llegar a la momificación, el T₃ (Cepa 24) obtuvo la momificación cubriendo todo el cuerpo de la larva por el hongo. Estos resultados llevaron a concluir que existe variabilidad en términos de patogenicidad y virulencia, manifestando la calidad y el potencial agresivo (virulencia) de estas cepas.

ABSTRACT

The Community of El Colpar is an area that produces coca cultivation in the Yungas of La Paz, according to the UNODC 2019, in recent years the cultivated area has been increased by 10%, the insect pest *Eloria noyesi* causes damage to the leaves of the crop causing losses in the economy of producers and promoting the use of pesticides, entomopathogens are microorganisms that cause damage to pest insects and are friendly to the environment.

By means of the bioassay, the pathogenicity, mortality, mode of action and virulence of the strains of the *Beauveria bassiana* fungus on *Eloria noyesi* larvae that were collected from a coca crop were evaluated with a restriction of chemical applications of 1 year favoring the germination process of the entomopathogen, the larvae were disinfected by immersion in 0.3% alcohol solution for 3 seconds and washed 3 times with distilled water, then they were exposed to fungal solutions at a concentration of 1×10^7 conidia/milliliter by spraying. The larvae were placed in Petri dishes with wet absorbent paper disks, the following treatments were evaluated: T₀ (Without inoculum) T₁ (Strain Bb. 9205) exotic from Colombia, T₂ (native strain 13 U/VB), T₃ (native strains 24 PV/CC). After 24 hours of inoculation, the larvae treated with the fungus showed symptoms of disease; less activity, difficulty of movement and incoordination. The results showed pathogenic larvae in the average of the treatments; T₁ (Strain 9205) with 5.5 larvae, T₂ (Strain 13) with 3.25 larvae, T₃ (Strain 24) with 7.25 larvae, with mortality percentages of 57%, 63% and 75.5% and a TLM₅₀ of 83.52 hours, 72 hours, 46.8 hours in the order already mentioned, regarding the TL₉₅ they did not show significance, obtaining similar results. A development of the fungus *B. bassiana* was identified on *Eloria noyesi* where T₁ (Strains 9205) and T₂ (Strain 13) presented developmental abnormalities, disintegrating before reaching mummification, T₃ (Strain 24) obtained mummification covering the entire body of the larva by the fungus. These results led to the conclusion that there is variability in terms of pathogenicity and virulence, showing the quality and aggressive potential (virulence) of these strains.

I. INTRODUCCION

La hoja de coca es una especie sudamericana originaria de las escarpadas estribaciones de los andes amazónicos jugando un rol importante en la subsistencia de varias familias en Bolivia, es cultivada en el Departamento de La Paz, en las provincias de Nor Yungas, Sud Yungas, Inquisivi y Franz Tamayo en áreas tradicionales protegidas por Ley y en el Departamento de Cochabamba en los Yungas de Vandiola y Chapare, aunque en éste último caso, junto a la provincia Caranavi de La Paz y parte de las áreas protegidas no son reconocidos por la Ley 1008 (ONUDC, 2017). Los Yungas, es una zona productora de cultivos tradicionales como cítricos, café, banano, coca, yuca, wualusa y otros productos agrícolas, cultivados orgánicamente, con el pasar del tiempo fueron sustituidos por el monocultivo de la coca, cuyo sistema convencional es de producción intensiva, dando lugar a la presencia cada vez más frecuente de plagas y enfermedades y por ende al uso de pesticidas y fertilizantes químicos (Rodríguez, 2012).

La producción a nivel nacional de acuerdo a los resultados del monitoreo del 2018 muestra un 10% de incremento de la superficie con cultivos de coca, estimándose una superficie de 25.500 ha de cultivos de coca. El 64% de la superficie cultivada con coca se cuantificó en la región de los Yungas de La Paz, el 34% en el Trópico de Cochabamba y el 2% en el Norte de La Paz. En comparación con 2017, las tres regiones mostraron un incremento de 9%, 13% y 44% respectivamente. Las provincias que presentaron un mayor incremento fueron Sud Yungas y Nor Yungas y Carrasco en la región del Trópico de Cochabamba. Los mayores incrementos en Áreas Protegidas, ocurrieron en los Parques Nacionales y Áreas Naturales de Manejo Integrado Madidi y Amboró (ONUDC, 2019).

1.1. Planteamiento del problema

El ulo (*Eloria noyesi*) nombre dado por los comunarios de los Yungas de La Paz, del orden Lepidóptera es actualmente la plaga insectil que mayor daño causa a la hoja, del cultivo de coca en estado de larva, convirtiéndose en una plaga de importancia económica (Crespo, 2017).

Hace varios años que la polilla llamada Ulo (*Eloria noyesi*) que no es nativa de la región, es uno de los más grandes problemas que tienen los productores de la hoja de coca. Todo esto debido al desequilibrio creado por el mismo cultivo extensivo, que fue reduciendo paulatinamente la población de la hormiga *Monomorium pharaonis*, controlador natural de estas polillas en su fase de larva (Crespo, 2019).

1.2. Justificación

La coca es un arbusto que se cultiva desde épocas milenarias, se utiliza para rituales religiosos y medicinales. Es un elemento de vital importancia en la vida de la población quechua y aymará. La tradición de acullicar se usa en muchos ritos sagrados, medicinales, sociales, laborales y alimenticios de la cultura andina (Espinoza, 2011). Por lo tanto, la revalorización del cultivo de la coca debe estar sujeta a una producción ecológica y sostenible en el tiempo, para este fin se necesitan alternativas para el control de la plaga. Los hongos entomopatógenos son una alternativa para el control y pueden ser cultivados en laboratorio y llevados a campo en diferentes sustratos y condiciones para generar perjuicios sobre el insecto plaga. El uso de los entomopatógenos constituye una alternativa viable y promisoría en la regulación de la población, que no produce efectos adversos en el medio ambiente, que sí poseen los insecticidas convencionales (Monzón, 2001).

El cultivo actualmente es producido con el uso de productos agroquímicos generalmente etiquetas rojas y amarillas, las cuales están prohibidas por su alta toxicidad, se usan una gran variabilidad de los productos agroquímicos debido al incremento de la población y a la resistencia de la plaga.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Evaluación de tres cepas de (*Beauveria bassiana* A.) para el control biológico de (*Eloria noyesi* S.) del cultivo de coca (*Erythroxylum coca* L.) en condiciones de laboratorio en la Comunidad de el Colpar Sud Yungas de La Paz.

2.2. Objetivos Específicos

- Activación de tres cepas de *Beaveria bassiana* para el control de la plaga *Eloria noyesi*.
 - Determinar la patogenicidad de tres cepas de *Beaveria bassiana* sobre *Eloria noyesi*.
 - Determinar la virulencia del hongo entomopatogeno *Beaveria bassiana* sobre la plaga.
- **Hipótesis**

H_a La aplicación de tres cepas de *Beaveria bassiana* si ejerce control sobre la plaga *Eloria noyesi* del cultivo de coca.

H₀ La aplicación de tres cepas de *Beaveria bassiana* no ejerce control sobre la plaga *Eloria noyesi* del cultivo de coca.

III. REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1. Producción nacional y regional de coca

3.1.1. Superficie cultivada con coca a nivel nacional

La superficie cuantificada con cultivo de coca en Bolivia ha incrementado en un 10% registrando 25.500 ha, 2.400 ha más que el 2018, donde se cuantificaron 23.100 ha. La ONUDC para el cálculo registrado del presente informe ha ajustado los datos reportados para el 2018 de acuerdo al actual límite político administrativo proporcionado por el viceministerio de autonomías plurinacional de Bolivia. De acuerdo con este ajuste, se ha registrado para el 2019 en la región de los Yungas Departamento de La Paz, una superficie de cultivo de coca de 16.296 ha, con un incremento de 9% en comparación de 2018. En la región del trópico de Cochabamba se registró una superficie de 8.769 ha, con un incremento del 13%. En el Norte de La Paz se registró una superficie 468 ha, con un incremento por segundo año consecutivo de 44%. (ONUDC, 2019).

Tabla 1. *Cultivo de coca en Bolivia, 2009 – 2019 (en hectáreas)*

Regiones	Departamento	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	% Cambio 2018-2019
Yungas de La Paz	La Paz	20.900	20.500	18.200	16.900	15.700	14.200	14.000	15.700	15.900	15.015	16.296	9%
Norte de La Paz	La Paz	300	400	370	320	230	130	150	240	220	325	468	44%
Sub total		21.200	20.900	18.600	17.200	15.900	14.300	14.200	15.900	16.100	15.340	16.764	9%
	Cochabamba	9.700	10.090	8.500	8.060	7.030	6.070	5.900	7.080	8.250	7.539	8.282	10%
Trópico	Santa Cruz	0	40	50	50	50	60	90	80	140	101	291	188%
	Beni	0	0	0	0	0	0	20	60	10	147	196	33%
Sub total		9.700	10.100	8.600	8.100	7.100	6.100	6.000	7.200	8.400	7.787	8.769	13%
Total redondeado		30.900	31.000	27.200	25.300	23.000	20.400	20.200	23.100	24.500	23.100	25.500	10%

Nota; Recuperado del Informe de Monitoreo del cultivo de coca por la UNODC (2019).

3.1.2. Superficie cultivada con coca a nivel regional

En la región de los Yungas de La Paz, se ha cuantificado una superficie de coca de 16.269 ha, lo que representa el 9% en comparación de 2018 mientras que en la región del Norte de La Paz se registró una superficie de 468 ha, lo que representa un incremento del 44%. La región de los Yungas de La Paz y el Norte de La Paz representa el 97% y 3% respectivamente de la superficie cultivada de coca en el Departamento de La Paz (ONUDC, 2019).

Tabla 2. *Cultivos de coca por regiones, 2009 – 2019 (en hectáreas)*

Provincia	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	% Cambio 2018-2019
Sud Yungas	13.731	13.068	11.205	10.619	9.793	9.009	9.309	10.534	10.692	9.777	10.374	6%
Nor Yungas	4.936	4.912	4.899	4.234	4.112	3.467	3.057	3.255	3.246	3.264	3.605	10%
Inquisivi	909	978	790	905	819	808	822	1.000	1.064	1.109	1.245	12%
Caranavi	1.211	1.349	1.205	999	839	797	720	755	781	769	960	25%
Fran Tamayo	220	327	250	193	121	93	106	122	119	174	245	41%
Murillo	74	102	81	78	78	78	65	91	86	79	76	9%
Larecaja	0	92	52	56	57	57	38	59	69	81	118	46%
Muñecas	55	29	48	47	43	19	21	37	33	54	72	33%
Bautista Saavedra	35	42	71	81	64	15	18	45	27	33	48	45%
Abel Ituralde	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	21	133%
Total	21.171	20.899	18.601	17.211	15.933	14.349	14.162	15.898	16.117	15.340	16.764	9%

Nota; Recuperado del Informe de Monitoreo del cultivo de coca por la UNODC (2019).

3.2. Caracterización del cultivo de coca

3.2.1. La Planta de la coca

De acuerdo al origen geográfico de la coca, la zona ecológica apta para su cultivo está localizada sobre todo en los flancos orientales de la cordillera oriental de los Andes, entre 500 a 1500 metros de altura aproximadamente, en la región de los “yungas” bolivianos y en la vertiente oriental de los Andes Peruanos. Los pisos altitudinales que permiten el cultivo de la coca están dispuestos a alturas variables desde los 2300 msnm en las serranías yungueñas, como en las terrazas y planicies sub andinas hasta una altura de 500 msnm en la región del Chapare del departamento de Cochabamba y Santa Cruz (Ortega, 2015).

La especie comercialmente más importante es *Erythroxylum coca*, el primero que la describió científicamente fue el botánico francés Lamarck en 1786. Etimológicamente, la palabra coca proviene de la voz aymara Quqa, que significa árbol (Mamani, 2006), crece en los suelos aluviales y litosólicos, prefiere el clima húmedo, caluroso y lluvioso de gran luminosidad (Copa, 2011).

3.2.2. Clasificación Taxonómica

A continuación, se presenta la clasificación taxonómica.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliópsida

Orden: Malpighiales

Familia: Erythroxylaceae

Género: *Erythroxylum*

Especie: *E. coca*

Lamarck 1786.

3.2.3. Plagas del cultivo de hoja de coca

La producción de la hoja de coca conlleva el combate a una diversidad de plagas y enfermedades generadas por el desequilibrio ecológico, en los últimos años se ha podido verificar la presencia de plagas que se ha incrementado. Así tenemos la presencia de lepidópteros como la *Phillophaga spp.* (Gallina ciega), la *Eloria noyesi* (Gusano de hojas), *Aphis gossipii* (Pulgon), *Epicauta spp.* (Challu o vieja), *Trips sp.* (Piqui piqui), etc. (Crespo, 2007).

Según Alvarez (2015), son numerosas las plagas “naturales” de la planta de coca. Las plagas más importantes son:

- El “Ulo” o mariposa de la coca (*Eloria noyesi.*)
- El “Tujo” u hormiga cortadora (*Atta sp.*)
- La Chacka u hormiga Cortadora pequeña (*Acromyrmex sp.*)
- El “Pulgón” de la coca (*Aphis sp.*)

3.3. Características de la plaga

3.3.1. El Ulo

Es un insecto nocturno, nace, vive y se alimenta de la hoja de coca cuando está en estado de larva o gusano, ataca exclusivamente a las hojas provocando grandes pérdidas, bajo rendimiento, reducción de vida y destrucción de la planta de coca. Es una plaga directa que causa daños a la parte foliar del cultivo, en su fase adulta puede recorrer largas distancias moviéndose de un lugar a otro ovipositando en las plantas de siquili, cítricos, mango, malezas y en el cultivo mismo (Carvajal y Escobar, 2016).

3.3.2. Clasificación taxonómica

A continuación, se presenta la clasificación taxonómica.

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Lepidoptera

Familia: Erebidae

Género: *Eloria*

Especie: *E. noyesi*

Schaus 1927.

3.3.3. Morfología

El Ulo es una mariposa muy pequeña de unos 14 mm de longitud, posee una envergadura de unos 16 mm, las alas son de color beige (Gómez, 2005). La polilla de la coca es un lepidóptero ovíparo, es decir, colocan sus huevos en las hojas del cultivo o malezas para luego terminar su ciclo embrionario, larvas son polipodas conocida como larvas eruciformes, tienen patas abdominales o patas falsas. Al completar el desarrollo la oruga se protege en un lugar resguardándose y allí se transforma en pupa en volviéndose en un capullo de seda (Resh *et. al*, 2009).

3.3.4. Ciclo de vida

El Ulo nace de los huevos que son colocados por los adultos en el envés de las hojas y se vuelven gusanos o larvas después de 5 a 6 días. El gusano o larva tiene una vida de 20 a 28 días, en esta fase realiza los mayores daños, posteriormente se convierte en crisálida con una duración de 6 a 8 días, esta crisálida o pupa se convierte luego en adulto por un tiempo de 5 a 8 días, la hembra pone entre 70 a 100 huevos para empezar otro nuevo ciclo (Carvajal y Escobar, 2016).

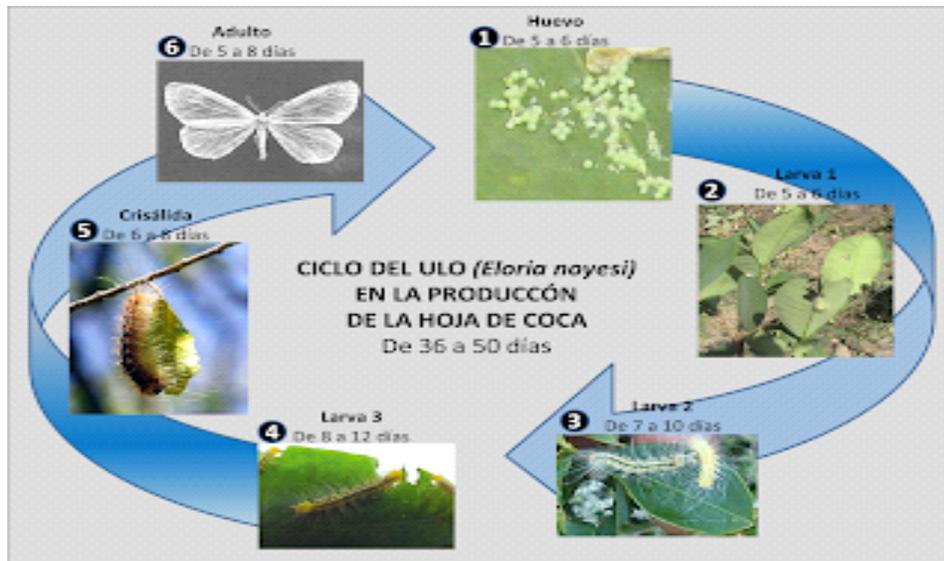


Figura 1. Ciclo biológico del Ulo (*Eloria noyesi*). Fuente: Carvajal y Escobar (2016).

3.3.5. Daño al Cultivo

La dieta del Ulo es llamativa por decir lo menos, si consideramos que el alcaloide es producido por la planta de coca como defensa química contra insectos, curiosamente el ingrediente que los ahuyenta o incluso los mata, es devorado con gusto por la oruga de la *Eloria noyesi*. Es de hecho su único alimento y el lugar donde deposita sus huevos cuando es mariposa. Científicos han descubierto que su secreto es la alta resistencia que presentan a la sustancia, lo que le permite devorar cerca de 1,5 veces de su peso diariamente sin ningún efecto adverso. Cabe destacar que la gringa es nativa de Colombia, por lo que su propagación no supone peligro para el equilibrio del ecosistema. Con estas características las que califican a la oruga como un ideal contra las plantaciones ilegales (Gómez, 2005).

3.4. Control Biológico

Control Biológico es la represión de las plagas mediante sus enemigos naturales; es decir mediante la acción de predadores, parásitos y patógenos. Los parásitos de las plagas, llamados también parasitoides, son insectos que viven a expensas de otro insecto (hospedero) al que devoran progresivamente hasta causarle la muerte. Durante ese tiempo completan su propio desarrollo larval. Los predadores son

insectos u otros animales que causan la muerte de las plagas (víctimas o presas) en forma más o menos rápida succionándoles la sangre o devorándolos. Los patógenos son microorganismos: virus, rickettsias, bacterias, protozoarios, hongos y nematodos, que causan enfermedades o epizootias entre las plagas. El control biológico se considera natural, cuando se refiere a la acción de los enemigos biológicos sin la intervención del hombre; y se le denomina artificial o aplicado cuando, de alguna manera, es afectado o manipulado por el hombre (Cisneros, 1995).

Características Generales del Control Biológico

De acuerdo a Cisneros (1995), el control biológico tiene características propias que lo distinguen de otras formas de control de plagas, particularmente del control químico:

- El control biológico tiende a ser permanente, aunque con fluctuaciones propias de las interacciones entre parasitoides y hospederos, y los efectos de las variaciones físicas del medioambiente.
- Los efectos represivos del control biológico son relativamente lentos en contraste con la acción inmediata de los insecticidas.
- La acción del control biológico se ejerce sobre grandes áreas, de acuerdo a las condiciones climáticas y biológicas predominantes.

A estas tres características esenciales se agregan otras que pueden separarse en favorables y desfavorables. Entre las características favorables se encuentran las siguientes:

- Los parásitos y predadores buscan a sus hospederos y presas en los lugares donde éstos se encuentran, incluyendo sus refugios.
- Los enemigos biológicos, a diferencia de los pesticidas, no dejan residuos tóxicos sobre las plantas ni contaminan el medioambiente.
- La acción de los enemigos biológicos tiende a intensificarse cuando las gradaciones de las plagas son más altas.
- Los enemigos biológicos no producen desequilibrios en el ecosistema agrícola.
- Las plagas no desarrollan resistencia a sus enemigos biológicos.

- Existe el fenómeno de "encapsulamiento" que consiste en la formación de un tejido especial o sustancia que rodea al huevo del parásito, o a su larvita recién emergida, causándole la muerte; pero no se conocen casos en que este fenómeno se haya incrementado como una manera de adquirir resistencia.

Entre las características desfavorables del control biológico, además de su efecto represivo lento, se señalan las siguientes:

- Los enemigos biológicos son influenciados por las condiciones climáticas y biológicas del lugar, las que en gran proporción escapan al control del hombre.

3.5. Características de los hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que se adhieren a la superficie de los insectos y se desarrollan hacia el interior de los mismos, generando daños internos que pueden producir la muerte del insecto. Se trata de hongos de diferentes géneros que se encuentran de forma natural en el ambiente, ya sea sobre insectos, en el suelo o plantas (Gómez, *et. al*, 2014).

De todos los hongos entomopatógenos conocidos por su efecto sobre plagas, los más utilizados corresponden a las especies *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de las cuales se han evaluado muchas cepas contra plagas de importancia agrícola (Monzon, 2001). Obteniendo resultados positivos en el control de la *Varroa destructor* (Acaro), *Achroia grisella* (Lepidóptera, Familia: Pyralidae), “polilla mayor de las ceras” *Galleria mellonella* L. (Lepidóptera, Familia: Pyralidae), el Instituto Nacional de Investigación Agrícola de Chile realiza el control de las plagas *Aegorhinus superciliosus*, *Hylamorpha elegans*, *Asynonychus cervinus*, *Naupactus xantographus*, *Otiorhynchus sulcatus*, *Phytoloema herrmanni*, *Pseudococcus viburni*, *Sericoides viridis* con hongos entomopatógenos (Sepúlveda, 2017).

3.5.1. *Beauveria bassiana*

Los primeros datos sobre *Beauveria bassiana* fueron emitidos por Agostino Bassi en 1834 cuando demostró que este hongo era el agente causal de una enfermedad del gusano blanco *Bombix mori*, conocido como muscardina blanca. El hongo *Beauveria*

bassiana se conoce muy bien por su amplio rango de hospederos y distribución geográfica, probada por su patogenicidad contra más insectos plaga que cualquier otra especie de hongo (Carballo *et. al*, 2004).

3.5.2. Clasificación taxonómica del hongo

A continuación, se presenta la clasificación taxonómica según CABI (2019).

Dominio: Eukaryota

Reino: Hongos

Filo: Ascomycota

Subfilo: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Cordycipitaceae

Género: *Beauveria*

Especie: *B. bassiana*

El género *Beauveria* está compuesto por varias especies: *B. bassiana*, *B. brongniartii* ó *B. tenella*, *B. amorpha*, *B. velata*, sin embargo, las más frecuentemente estudiadas son *B. bassiana* (Bálsamo) Vuillemin y *B. brongniartii* (De Lacroix) Siemzko. El género se caracteriza por presentar un micelio blanco, conidióforos sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, la cual se presenta en forma de zig-zag, después de que varias conidias se producen; las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares. El hongo *B. bassiana* posee conidias de globosas a subglobosas (2-3 x 2.0-2.5 µm) y las estructuras conidióforas forman densos grupos (Bustillo, 2002).

IV. LOCALIZACION

4.1. Localización

La comunidad se encuentra dentro del Municipio de Chulumani de la Provincia Sud Yungas del Departamento de la Paz, ubicado geográficamente entre los meridianos 16°18'25" y 16°26'46" de latitud sur y entre los paralelos 67°26'18" a 67°37'11" de longitud oeste, a una altitud que varía entre 1.200 a 3.921 metros sobre el nivel del mar (msnm.) la altitud promedio registrada es de 1.740 msnm. y se encuentra sobre una superficie de 287 km²., que representa el 7.5 % de la superficie de la provincia Sud Yungas (INE, 2017).

El Municipio de Chulumani limita al norte con Coripata de la Provincia Nor Yungas y parte de quinta sección la Asunta, al este con la segunda sección Irupana, al oeste con la tercera sección Yanacachi (PDM Chulumani, 2001).

4.2. Microlocalización

La comunidad del Colpar está ubicada a 8,9 km de la capital de Chulumani Sud Yungas, está conformada en su mayoría por descendientes afrobolivianos entre hombre y mujeres, con una población de 750 habitantes y un área de 6,8 km² aproximadamente, la fuente laboral principal es el cultivo de coca con 350 socios pertenecientes a la Asociación Departamental de Productores de Coca (ADEPCOCA), aunque también en el lugar produce cítricos, plátano, gualusa, mango, palto, yuca, maíz. (PDM Chulumani, 2001).



Figura 2. Comunidad del Colpar. Fuente: Propia (2020).

4.3. Fisiografía

El ecosistema del Municipio de Chulumani contempla diferentes pisos ecológicos y es además uno de los más completos del sistema ecológico a nivel nacional se observa tres pisos ecológicos que se definen a continuación:

a) Piso sub andino (Semi húmeda montañosa)

A una altitud de 1.000 – 2.000 msnm se caracteriza por la presencia de la sabana semi húmeda montañosa antropogénica. La topografía es típicamente montañosa, prevaleciendo laderas de fuerte pendiente. El desbosque con fines agrícolas, la quema y los cultivos de coca, reemplazaron el bosque húmedo siempre verde por un ambiente de fisonomía sabanoide donde predominan pastos secos, helechos de porte mediano (*Pteridium aquilinum*), y arbustos de especies indicadoras de sabana (PDM Chulumani, 2001).

b) Piso montañoso (bosque húmedo montañoso)

A una altitud de 2.000 – 3.000 msnm. El cual se caracteriza por estar situado en laderas fuertemente inclinadas, con suelos poco profundos y pedregosos. La estructura es tan compleja como los bosques de las tierras bajas y cuenta con tres o más estratos; el dosel varía entre 8 y 15 metros, y los árboles emergentes alcanzan hasta 20 metros de alto. Los árboles rara vez tienen aletones y son siempre verdes en su mayoría. Debido a la erosión hídrica y a la alta frecuencia de derrumbes naturales y provocados por la construcción de carreteras, el bosque montañoso presenta un mosaico de comunidades en diferentes etapas de sucesión (PDM Chulumani, 2001).

c) Piso ceja de monte (bosque nublado)

A una altitud de 3.000 a más msnm. esta formación está presente en el flanco oriental cordillerano, como un cinturón paralelo a la cordillera. Tiene una topografía característica con crestas, laderas abruptas y profundos valles. Los suelos son mayormente superficiales y con una gran acumulación de materia orgánica. Se

estima la precipitación entre 2.500 - 3.500 mm. anuales, con la presencia de 11 - 12 meses húmedos y un promedio de temperatura de 20.41 °C. En la zona se encuentran áreas orográficas donde las serranías estorban el paso de las nubes húmedas descargándose la lluvia en un solo lado y dejando el otro lado seco o con “lluvia vestigial”. Las neblinas son constantes y la condensación sobre la vegetación es frecuente aportando montos hídricos por goteo interior (PDM Chulumani, 2001).

4.4. Características del Ecosistema

Clima

El clima varía según la altitud, desde tropical pasando por sub tropical a templado, la humedad es generalmente muy alta. Esta variabilidad climática de la región (clima húmedo, templado y subtropical) es debido también a factores como las constantes precipitaciones pluviales y las corrientes atmosféricas que descienden de la cordillera y por el cerco montañoso que rodea a toda la zona (Espinoza, 2011). Con una época relativamente seca de mayo a octubre, la precipitación media anual varía de 1.200 a 1.750 mm. La temperatura media anual es de 20.41 °C, donde su gradiente regional es de 0.46°C cada 100 m, debido a que las alturas están cubiertas constantemente por nubes durante la mayor parte del año (SENAMHI, 2016).

Vegetación

La vegetación natural de estos paisajes, son arbustos perennes de porte bajo, así como pocos árboles ralos, también se visualizan gramíneas de porte alto y bajo. Las principales especies son: Chusi, Sábila (*Aloe sp.*), Kanapaco (*Sonchus asper*), Yerba Buena (*Menta piperita*), Cola de caballo, Matico (*Piper angustifolia*), Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Solda-solda, Charara, Yerba luisa (*Cymbopogon citratus*), Kolomuni, Siquile, Cedro, Nogal, Laurel, Ceibo, Thipti. La vegetación nativa existente es aprovechada para usos medicinales, para la construcción, leña. El siquili y el ceibo son especies mejoradoras de suelos. (PDM Chulumani, 2001).

Flora

Presenta un bosque de árboles de porte bajo, mediano y alto, siempre verdes y de hojas coriáceas. Las epifitas, especialmente musgos y líquenes, abundan formando colchones verdes que cubren desde el suelo hasta las copas de los árboles. Las familias arbóreas más importantes son: *Cunoniaceae*, *Clusiaceae*, *Ericaceae*, *Araliaceae*, *Symplocaceae*, *Theaceae*, *Compositae*, *Clethraceae*, *Melastmataceae* y *Myricaceae*. La comunidad vegetal más común es un bosque de árboles enanos que se desarrolla en lomas expuestas a los vientos con lluvia y neblina. El suelo está completamente cubierto de *Sphagnum* y otros musgos; los árboles achaparrados alcanzan una altura de cuatro metros, como *Thibaudia crenulata*, *Gaiadendron punctatum*, *Persea ruizii*, *Oreopanax pentlandianues*, *Saracha punctata*, *Prunus brittoniana* y varias especies de *Freziera*; además existen numerosos arbustos de *Ericaceae* y colonias de chusque (bambú) y el helecho *Gleichenia*. En los bosques nublados se explotan la quina (*Cinchona officinalis*, *Cinchona calisaya*), el copal (*Protium sp*) se extrae madera, especialmente del cedro y pino colorado (PDM Chulumani, 2001).

Fauna

De acuerdo al PDM Chulumani (2001), en las partes bajas de los Yungas, existe predominancia de especies amazónicas, en tanto que en las zonas altas existe influencia de la región andina. Las especies identificadas a través de los autodiagnósticos son las siguientes:

Tabla 3. *Especies identificadas en la zona*

ESPECIE	NOMBRE CIENTÍFICO
Zorro	<i>Pseudalopex gymnocerus</i>
Zorro Rojo	<i>Pseudalopex incae</i>
Jucumari	<i>Tremarctos ornatos</i>
Tapir o Anta	<i>Tapirus terrestres</i>
Venado	<i>Mazama gouazoubira</i>
Urina	<i>Mazama americana</i>

Gato Montés	<i>Oncifelis geoffroyi</i>
Onza	<i>Herpailurus yagouarondi</i>
Puma	<i>Felis concolor</i>

Nota; Recuperado del PDM Chulumani (2001).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Materiales

5.1.1. Materiales de Laboratorio

- Agua destilada
- Alcohol
- Olla a presión
- Asa bacteriológica
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Cubre bocas desechables
- Estufa
- Guantes desechables
- Mandil
- Marcador de CD
- Mechero
- Medio de cultivo SDA
- Alcohol en gel
- Papel secante
- Parafilm

- Piceta
- Placas de petri
- Barrilla de vidrio
- Tijera
- Matraz de Erlenmeyer
- Vaso precipitado
- Cubre cabeza
- Bolsas de polipropileno

5.1.2. Material Biológico

- Hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Cepas 24, 13 y 9205 que fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía UMSA).
- Plaga del cultivo *Eloria noyesi* (320 larvas).

5.2. Metodología

5.2.1. Antecedentes de calidad de las cepas del hongo *B. bassiana*

Las cepas promisorias del hongo *B. bassiana* tienen diferentes orígenes de los cuales, dos son nativas de la región Yungueña codificadas como: 24 PV/CC de Puente Villa, recolectado el 15-03-97 por Nicanor Cuba y David Cordero; 13 U/VB de Uyunense, recolectado el 05-02-97 por Verónica Benavides; y la cepa exótica codificada como Bb. 9205 proveniente de CENICAFE-Colombia. Parte de los antecedentes se detallan en el siguiente cuadro (Bustillo, 2002).

Tabla 4. *Calidad de las cepas en estudio.*

Cepa	Origen	Concentración		Viabilidad (%)	Pureza (%)	Patogenicidad (%)
		conidias/mililitro	conidias/gramo			
24 PV/CC	Yungas	3,5*10 ⁷ /(105 l.)	1,4*10 ⁹	91	-	98,0
13 U/VB	Yungas	3.50*10 ⁷ /(37 l.)	1,4*10 ⁹	92	-	97,0
Bb. 9205	Colombia	3,9*10 ¹¹ ± 0,4* 10 ¹¹	7,7*10 ⁹	85 - 100	99,8	97,0

Nota; Antecedentes de las cepas de *B. bassiana* recuperado de Bustillo et al. (1998) y Cordero (1999).

5.2.2. Trabajos preliminares antes del bioensayo.

5.2.2.1. Preparación del medio cultivo

El medio de cultivo artificial se empleó para obtener unidades reproductivas del hongo (conidias) en forma pura y libre de contaminantes, el medio fue: Saboraud Dextrosa Agar (SDA) presentando características altamente higroscópicas. La preparación del medio de cultivo fue llevada de acuerdo a especificaciones estándar del mismo, con peso y volumen determinado (6,5gr/100 ml), se homogeneizó en una hornilla hasta obtener una solución óptima, se esterilizó en una olla a presión el medio y las placas Petri (limpias previamente) a 121°C por 30 minutos, trasladar a la “cámara de flujo laminar” dotado de rayos ultravioleta, donde se enfrió y distribuyó el medio en cajas Petri (Cañedo y Ames, 2004).

5.2.2.2. Activación y siembra del hongo

Con un asa bacteriológica flameado y enfriado se trasladó las conidias a las cajas Petri con medio de cultivo ya preparados, registrando la identificación fecha y cepa correspondiente. Las cajas Petri sembradas fueron llevadas al área de incubación para su respectivo desarrollo. A partir del segundo día después de la siembra se tomaron los siguientes datos: Contaminación, crecimiento, forma y coloración del hongo, que se realizaron mediante estimación visual (CENICAFE, 1995).

5.2.2.3. Siembra del hongo a partir de la cepa madre

Para la multiplicación masiva del hongo *Beauveria bassiana* a partir de la cepa madre, se realizó en sustrato de arroz con el objetivo de facilitar la concentración de conidias del hongo. Se emplearon bolsas de polipropileno con una cantidad de sustrato de 200 gramos/bolsa pre cosida por un tiempo de 10 minutos en la autoclave, se dejaron enfriar a temperatura ambiente para luego ser trasladados a la “Cámara de flujo laminar” donde se sometieron a rayos ultravioleta. Manteniendo el área aséptica con un asa y mechero se realizó la multiplicación masiva del hongo, las esporas fueron depositadas en un vaso con 60 ml de agua destilada, la inoculación se realizó con una jeringa desinfectada a razón de 6 cc. De la suspensión, asegurando el cerrado con grapas y registrando fecha, código y replica. Las bolsas inoculadas se llevaron al área de “Desarrollo y maduración” el periodo de incubación demora unos 15 días y se divide en dos fases que son la de incubación y el secado, una vez que el hongo cubra el sustrato se procedió a abrir las bolsas para la pérdida de humedad. (Monzón, 2001).

La cosecha consiste en separar el arroz de la estructura del hongo (conidias y esporas), se colocó el sustrato en una malla luego por agitación y frotación se separa el polvo de los granos de arroz (Monzón, 2001).

5.2.2.4. Control de Calidad

Después de la maduración del hongo se realiza una inspección minuciosa, descartando aquellas bolsas con el más mínimo contaminante, sean esto bacterias, hongos saprofitos (*Aspergillus sp*, *Penicillium*) (FODUR/FDTA-TH, 2005).

Tabla 5. Activación y reproducción masiva del hongo

Cepas del hongo	N° medios artificiales SDA	N° bolsas (200 g)		
		Contaminados		Contaminados
13 U/VB	3	0	4	1
24 PV/CC	3	1	4	1

Bb. 9205	3	0	4	0
Total	9	1	16	2

Nota: Cultivos en arroz contaminados y no contaminados.

5.2.2.5. Recolección de las larvas e inoculación

Se recolectaron 320 larvas del cultivo de coca en diferentes estadios 20 individuos por unidad experimental, se desinfectaron por inmersión en una solución de alcohol al 0,3%, luego se lavaron por tres veces consecutivas en agua destilada, se pasaron a papel absorbente para su secado, las larvas se infectaron en soluciones fungosas por aspersión. Con la recomendación de Gonzales *et. al*, (1993) y Bernal *et, al*. (1994) se aplicó la concentración de 1×10^7 conidias/mililitro (200gr/bolsa) del hongo para su aplicación sobre las larvas en forma independiente con las Cepas 24, 13 y 9205, se colocaron en cajas petri con papel absorbente previamente humedecidas con agua destilada formando una cámara húmeda donde se observó el desarrollo.

La inoculación sobre las placas petri y desarrollo de las larvas infestadas se realizó en la Comunidad respetando las condiciones ambientales de la plaga para favorecer el desenvolvimiento del hongo, en la germinación, invasión y colonización sobre la plaga Ulo.

5.3. Diseño experimental

Para determinar el modo de acción del hongo se realizó una descripción Cualitativa nominal que tomara valores en base a clasificación: Leves <30%, 30-50% ataque, >60% ataque.

En las variables patogenicidad, porcentaje de mortalidad y virulencia se empleó un Diseño Completamente al Azar realizando un análisis de varianza ANOVA con cuatro tratamientos (inoculo de hongo de tres cepas y un testigo sin inoculo) en cuatro repeticiones, con 16 unidades experimentales, empleando 20 larvas por tratamiento con 80 individuos por repetición, un total de 320 larvas con un margen de error del 5%. A continuación, se presenta el modelo lineal aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_j$$

Dónde:

Y_{ij} = En concreto es la variable de respuesta, valor observado en la j-ésima unidad experimental donde se aplica el i-ésimo tratamiento.

μ = Media general

α_i = Efecto fijo del i-ésimo tratamiento

ϵ_j = Efecto aleatorio del error experimental

5.4. Croquis experimental

A continuación, se presenta el croquis experimental.

	T0	T1	T2	T3
I				
II				
III				
IV				

Figura 3. Croquis experimental

T_0 = Testigo (Sin inoculo)

T_1 = Cepa 9205

T_2 = Cepa 13

T_3 = Cepa 24

5.5 Análisis estadístico

Los datos se tabularon e interpretaron en tablas realizando algunas pruebas: Análisis de varianza, prueba Duncan, desviación estándar, promedios. Por regla general, los datos en porcentaje requirieron una transformación apropiada obteniéndose mediante la fórmula: $\arcsen \sqrt{X/100}$.

5.6. Variables de respuesta

- Determinar la patogenicidad del hongo (La patogenicidad está ligada a la muerte de las larvas a las 24 horas por el entomopatogeno).
- Porcentaje de mortalidad (Larvas muertas expresadas en porcentaje al final de la investigación).
- Modo de acción del entomopatogeno (Manifestación interna y externa mediante la presentación de síntomas de enfermedad y momificación sobre la larva).
- Evaluación del grado de virulencia de *B. bassiana* (Comportamiento del hongo hacia la larva; tiempo letal medio al 50%, tiempo letal al 95%).

VI. RESULTADO Y DISCUSIÓN

6.1. Temperatura

La temperatura en el periodo de inoculación, patogenización y esporulación sobre la larva *E. noyesi* se muestra en la Figura 4. donde se registraron diferentes valores con una temperatura media de 21,11 °C estando en el rango de temperatura aceptable para el desarrollo del entomopatogeno.

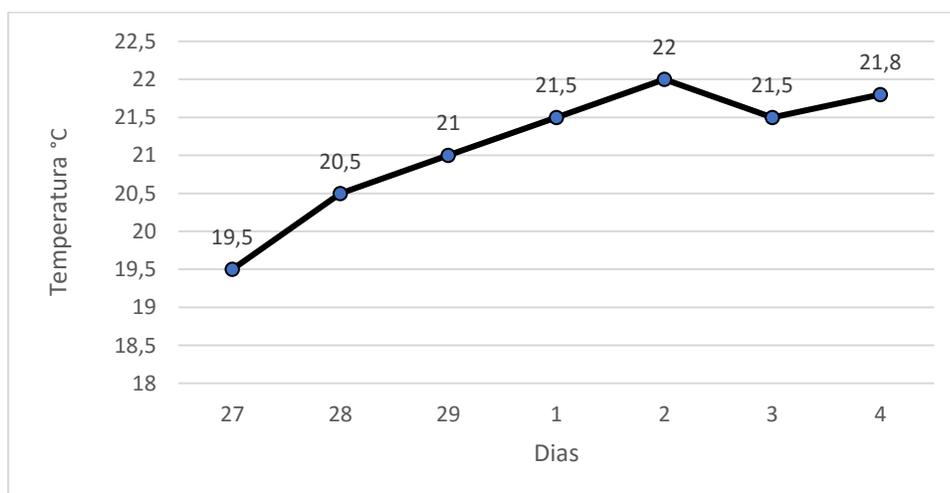


Figura 4. Temperatura registrada de los Meses de Febrero y Marzo del 2020

Fuente: Datos extraídos del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología SENAMHI Bolivia.

6.2. Humedad Relativa

La humedad relativa en el periodo de inoculación, patogenización y esporulación sobre la larva *E. noyesi* se muestra en la Figura 5. donde se registraron diferentes valores con un promedio del 80 % Humedad Relativa estando en el rango para el desarrollo del entomopatógeno.

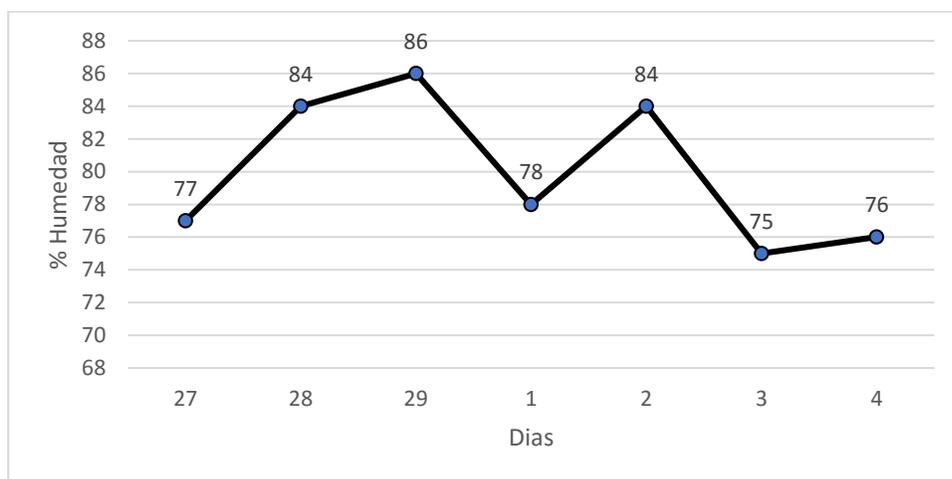


Figura 5. % Humedad Relativa Febrero Marzo del 2020

Fuente: Datos extraídos del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología SENAMHI Bolivia.

6.3. Determinar la patogenicidad del hongo

La sobrevivencia de las larvas después de la desinfección con alcohol al 0,3% fue del 80%, no afectando ni inhibiendo el proceso germinativo de conidias de las cepas estudiadas del hongo.

Tabla 6. *Análisis de varianza*

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft (0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	3	9,6	3,2	9,41 **	3,44	5,95
Error	12	4,08	0,34			
Total	13	13,68				

Coefficiente de Variabilidad = 15,33 %.

Nota; Larvas patogenizadas a las 24 horas después de la inoculación.

Una vez realizado el análisis de varianza se observa una alta significancia (**) lo que indica una diferencia entre los tratamientos, con un coeficiente de variabilidad del 15,33% teniendo un buen manejo de las unidades experimentales.

Tabla 7. *Prueba de medias Duncan*

Tratamientos	T ₀ (Sin inoculo)	T ₁ (Cepa 9205)	T ₂ (Cepa 13)	T ₃ (Cepa 24)
Promedios	0,5	5,5	3,25	7,25
Letras	A	B	C	D
Línea				

Duncan $P \leq 0.05$

Nota: Análisis Duncan para larvas patogenizadas.

La comparación de medias Duncan muestra que en la variable patogenicidad los tratamientos obtienen diferentes resultados lo que es términos estadísticos es significativo, indicando un comportamiento diferenciado del hongo sobre la larva.

A las 24 horas después de la aplicación, se observó en las larvas tratadas con *B. bassiana* T₁ (Cepa 9205), T₂ (Cepa 13), T₃ (Cepa 24) síntomas de enfermedad, reflejándose en la dinámica del insecto, menor actividad y dificultad en movimiento.

El tratamiento T₁ (Cepa 9205) a las 24 horas después de la aplicación se observó 5 individuos muertos en la repetición uno, 5 individuos muerto en la repetición dos, 3 individuos muertos en la repetición tres y 9 individuos muertos en la repetición cuatro, haciendo un total de 22 individuos muertos después de las 24 horas con una media de 5,5 larvas patogenizadas.

El tratamiento T₂ (Cepa 13), a las 24 horas después de la aplicación se observó 4 individuos muertos en la repetición uno, 3 individuos muertos en la repetición dos, 4 individuos muertos en la repetición tres, y 2 individuos muertos en la repetición cuatro, haciendo un total de 13 individuos muertos después de las 24 horas con una media de 3,25 larvas patogenizadas.

El tratamiento T₃ (Cepa 24), a las 24 horas después de la aplicación se observó 5 individuos muertos en la repetición uno, 6 individuos muertos en la repetición dos, 7

individuos muertos en la repetición tres, y 11 individuos muertos en la repetición cuatro, haciendo un total de 29 individuos muertos después de las 24 horas con una media de 7,25 larvas patogenizadas.

El tratamiento T₀ (sin inóculo) donde no se aplicó ninguna dosis, no se observó síntomas de enfermedad, pero si se observó muerte de dos individuos por otras causas, en las repeticiones 2 y 3 mas no así en las demás repeticiones con una media de 0,5. Analizando los datos obtenidos muestran que el T₃ (Cepa 24) tiene el mayor número de larvas muertas con 7,5 seguido del T₁ (Cepa 9205) con 5,5 y T₂ (Cepa 13) con 3,25.

Según Flores (2009), a las 36 horas después de la inoculación con *B. bassiana* presento síntomas de enfermedad, reflejándose en la dinámica del insecto, menor actividad, descoordinación en los movimientos en comparación con el testigo que manifestó todo lo contrario (actividad dinámica).

6.4. Porcentaje de mortalidad

El análisis en base a datos obtenidos durante el periodo de investigación demuestra que existe diferencia con relación a los tratamientos y el testigo respectivamente.

Tabla 8. *Análisis de Varianza*

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft (0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	3	3018	1006	16,49 **	3,59	6,22
Error	11	675	61			
Total	14	3693				

Coefficiente de Variabilidad = 16,37 %.

Nota; Porcentaje de mortalidad por el hongo entmopatógeno.

Una vez realizado el análisis de varianza (ANVAR) se observa una alta significancia (**) lo que indica una diferencia entre los tratamientos en estudio, con un coeficiente de variabilidad del 16,37% teniendo un buen manejo de las unidades experimentales.

Tabla 9. Prueba de medias Duncan

Tratamientos	T (Sin inoculo)	T ₁ (Cepa 9205)	T ₂ (Cepa 13)	T ₃ (Cepa 24)
Promedios	9,50	57,00	63,00	75,50
Letras	A	B	C	D
Línea				
Duncan	P ≤ 0.05			

Nota; Prueba de medias Duncan para el porcentaje de mortalidad por *B. bassiana*.

La prueba de comparación de medias Duncan muestra, que en la variable porcentaje de mortalidad los tratamientos son diferentes entre si a la prueba de significancia, aplicando una concentración estándar de 1×10^7 conidias/mililitro del hongo en los tratamientos T₁ (Cepa 9205), T₂ (Cepa 13), T₃ (Cepa 24) y el T₀ (Sin inoculo) que no presento mortalidad alguna por causa patogénica si no por otras causas.

El tratamiento T₃ (Cepa 24) fue el tratamiento que obtuvo mejores resultados respecto a los demás tratamientos con una mortalidad del 75,50% superando por 12,50% al T₂ (Cepa 13), 18,50% al T₁ (Cepa 9205) y 66% al tratamiento T₀ (Sin inoculo), el T₂ (Cepa 13) tiene un porcentaje de mortalidad del 63% superando al T₁ (Cepa 9205) con una diferencia del 6% y 53,50% al tratamiento T₀ (Sin inoculo), el T₁ (Cepa 9205) obtuvo una mortalidad del 57% superando al T₀ (Sin inoculo) con una diferencia del 47,50%, se tiene un tratamiento T₀ (Sin inoculo) que obtuvo un mortalidad del 9,50% por otras causas.

Los tratamientos en estudio alcanzaron un porcentaje de mortalidad diferenciado sobre el hospedero, el T₁ (Cepa 9205) tiene el menor porcentaje de mortalidad en comparación a las demás tratamientos con inoculo, probablemente se debe a que la Cepa es proveniente de Colombia que fue introducida al país con el proyecto CENICAFE en comparación a los demás tratamientos codificadas como T₂ (Cepa 13) y T₃ (Cepa 24) que obtuvieron los mejores resultados siendo estas nativas de la región Yungueña del Departamento de La Paz.

El porcentaje de mortalidad alto se obtuvo por el T₃ (Cepa 24), probablemente se debe a que esta es nativa de la región, aislada el 15 de Marzo de 1997 de la

Comunidad de Puente Villa Provincia Sud Yungas del Municipio de Yanacachi por Nicanor Cuba y David Cordero FODUR/FDTA-TH, (2005) que se encuentra a una distancia de 36 km del Municipio de Chulumani donde se realizó el trabajo de investigación.

CENICAFE (1995), menciona que el hongo aislado directamente de la región es más virulento en comparación a aquellas que no son nativas del lugar teniendo una ventaja de mayor adaptabilidad y agresividad.

Uno de los factores preponderante de no obtener una mortalidad alta puede ser la presencia de vellosidad (penachos) en todo el cuerpo de la larva, que le proporciona sensibilidad y una forma de protección al contacto con la superficie blanda del insecto. Según Leach (1815), las larvas de *E. noyesi* pertenecen a la Familia Arctiidae, las orugas a menudo son de colores vivos, los arctidos son de tamaño muy variable y suelen estar cubiertas de penachos de pelos, que salen de verrugas prominentes, tienen cabezas brillantes y con pocos pelos, los pelos del cuerpo suelen ser largos y densos, y algunas pueden ser urticantes, aunque las especies apenas afectan a las personas.

6.4.1. Mortandad por otras causas y sobrevivencia de *E. noyesi*

La mortalidad por otras causas y la sobrevivencia de *E. noyesi* se resume en la siguiente tabla, los datos correspondientes se detallan sobre 80 individuos lo que representa el 100%, lo que indica que cada larva tome el valor de 1,25%.

Tabla 10. *Mortandad por otras causas y sobrevivencia de E. noyesi*

Tratamientos	Total	Mortalidad (%)		Vivos	Total
	Larvas	<i>E. noyesi</i>	Otras causas	(%)	(%)
T ₃ (Cepa 24)	80	75,5	24,7	0	100
T ₂ (Cepa 13)	80	63	37	0	100
T ₁ (Cepa 9205)	80	57	43	0	100
T ₀ (Sin inoculo)	80	0	9,5	90,5	100

Nota; Porcentaje de larvas muertas por otras causas y no patogenizadas

En lo referente a la mortandad por otras causas el mayor porcentaje obtuvo T₁ (Cepa 9205), por encima de 6% y 18,3% respecto al T₂ (Cepas 13) y el T₃ (Cepa 24) respectivamente, el T₀ (Sin inoculo) tiene una mortalidad del 9,5% dando a entender que las larvas murieron por causas de manipuleo en la recolección, desinfección, aplastamiento y causas desconocidas.

6.5. Modo de acción del entomopatógeno

Para la variable se clasifico de la siguiente manera: Leve < 30% daño, 30-60% daño, >60% daño

Tabla 11. *Análisis de Varianza*

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft (0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	2	15,5	7,75	14,35 **	5,14	10,92
Error	6	3,25	0,54			
Total	8	18,75				

Coefficiente de Variabilidad = 10,97 %.

Nota; Larvas afectadas por el hongo entomopatógeno.

El análisis de varianza muestra una alta significancia mostrando una diferencia en el porcentaje de daño, con una variabilidad del 10,97% obteniendo un buen manejo de las unidades experimentales

Tabla 12. *Prueba de medias Duncan*

Tratamientos	Leve < 30% daño	30-60% daño	>60% daño
Promedios	14,5	23,5	22
Letras	A	B	C

Línea

Duncan $P \leq 0.05$

Nota; Larvas afectadas por el hongo entomopatógeno.

La prueba de medias Duncan muestra una significancia en la clasificación de daño obteniendo diferentes valores entre sí.

Los Tratamiento T₁ (Cepa 9205) y T₂ (Cepa 13) fueron patogenizadas causando la muerte de las larvas inoculadas, pero presentaron algunas anormalidades en el

desarrollo del hongo entomopatógeno, antes de completar la momificación de las larvas, comenzaron a desintegrarse afectando el desarrollo del hongo. Probablemente sea debido a que el cuerpo del insecto en estado de larva está constituido en su mayoría por agua dando como resultado un cuerpo blando y frágil respecto a otros insectos que permanecen muertos por varios días.

El tratamiento T₃ (Cepa 24) obtuvo la momificación completa después de la aplicación, presentando un crecimiento leve del hongo de color blanquecino por las extremidades y por la superficie expuesta al contacto con el hongo para llegar a la momificación completa del insecto plaga a las 168 horas, las larvas estuvieron cubiertas y colonizadas por el hongo que daban dicho aspecto en forma de momia.

El hongo pertenece a un grupo de entomopatógenos avanzado que llegan a causar la mortalidad del huésped, presumiendo una acción de adhesión y germinación de conidios donde inicia el desarrollo del hongo que le permite fijarse a la superficie del insecto, después de la fijación mediante mecanismos físicos (acción de presión sobre la superficie de contacto) y químico (acción de enzimas: proteasas, lipasas y quitinasas), el hongo ingresa en el insecto a través de las paredes blandas, dentro del insecto, el hongo ramifica sus estructuras y coloniza las cavidades del hospedero produciendo toxinas llamadas "Beauvericina" que ayuda a romper el sistema inmunológico del patógeno lo que facilita la invasión del hongo a todo los tejidos provocando desajustes fisiológicos y posterior la muerte del insecto marcando la fase patogénica y dando inicio a la momificación evidenciándose el desarrollo externo del hongo (Bustillos, 2002).

En este sentido rescatamos a BROCARIL (2002), Bustillo y Baker (1990), que afirman que, sin excepción, los entomopatógenos penetran e infectan al insecto directamente a través de la cutícula usando un complejo de enzimas; una vez en el interior del insecto el hongo se multiplica rápidamente por gemación o fisión hifal, y las células se diseminan en el cuerpo provocando la muerte del insecto.

6.6. Evaluación del grado de virulencia de *B. bassiana*

Por las condiciones del bioensayo en condiciones cercanas a laboratorio se realizó la medición de virulencia (grado de agresividad) con respecto a la patogenicidad, especificando el comportamiento del hongo hacia la larva, con las siguientes acciones básicas: tiempo letal medio (TL₅₀), Tiempo letal de mortandad (TL₉₅).

6.6.1. Tiempo letal medio (TL₅₀)

La mortalidad acumulada muestra un comportamiento variable en la población de *E. noyesi* por acción de *B. bassiana* de manera progresiva, esto permite determinar el tiempo letal medio (TL₅₀), tiempo en que muere el 50% de la población en estado de larva.

Tabla 11. *Análisis de Varianza*

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft (0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	2	262,8	231,4	5,8 *	4,26	8,02
Error	9	359,1	39,9			
Total	11	621,9				

Coefficiente de Variabilidad = 13,49 %.

Nota; Larvas muertas al 50% de la población por el hongo entmopatogeno.

Una vez realizado el ANVAR se observa una alta significancia lo que indica una diferencia en los tratamientos, con un coeficiente de variabilidad del 13,49% teniendo un buen manejo de las unidades experimentales.

Tabla 12. *Prueba de medias Duncan*

Tratamientos	T ₁ (Cepa 9205)	T ₂ (Cepa 13)	T ₃ (Cepa 24)
Promedios	41,00	39,75	59,75
Letras	B	B	C
Línea	_____		
Duncan	P ≤ 0.05		

Nota; Larvas muertas al 50% de la población por el hongo entomopatogeno.

La prueba de comparaciones de medias Duncan muestra una no significancia entre los tratamientos T1 (Cepa 9205) y T2 (Cepa 13) pero una significancia en el tratamiento T₃ (Cepa 24) que obtuvo un buen resultado.

Analizando los resultados obtenidos del TL₅₀ se evidencia una superioridad significativa un tratamiento de las otras en el siguiente orden, T₃ (Cepa 24) a las 46,8 horas seguido del T₂ (Cepa 13) a las 72 horas y el T₁ (Cepa 9205) a las 83,52 horas, superando el T₃ (cepa 24) a los demás tratamiento con una diferencia de 25,2 horas respecto al T₂ (13) y 36,72 horas respecto al T₁ (9205) en ese mismo orden.

6.6.2. Tiempo letal (TL₉₅)

Tabla 13. *Análisis de Varianza*

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft (0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	2	482	124	1,2 ^{ns}	5,14	10,92
Error	6	616	102,7			
Total	8	1098				

Coefficiente de Variabilidad = 13,5 %.

Nota; Larvas muertas al 95% de la población por el hongo entmopatogeno.

Una vez realizado el ANVAR se observa una no significancia lo que indica que no hay diferencia significativa en los tratamientos, dando a entender que tienen un comportamiento similar entre los tratamientos, con un coeficiente de variabilidad del 13,5% teniendo un buen manejo de las unidades experimentales.

Analizando los resultados obtenidos del TL₉₅ de la población en estudio no se observa una superioridad de los tratamientos, el T₁ (Cepa 9205) a las 165,8 horas obtuvo un promedio de 79,3% el T₂ (Cepa 13) a las 140,30 obtuvo un promedio de 94,3% y el T₃ (Cepa 24) a las 140,3 horas obtuvo un promedio de 97%.

Alves (1986), indica que la virulencia de un microorganismo patógeno medido a través de bioensayos utilizando hospederos (dinámica y edad) en condiciones de laboratorio, puede ser cuantificado a través de Tiempos Letales (TL₅₀) siendo posible determinar la virulencia máxima de un patógeno con el objeto de ofrecer a condiciones externas de campo.

VII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio se tiene las siguientes conclusiones:

1. La activación de las tres cepas de *B. bassiana* muestra que T₂ (Cepa 13) y T₁ (9205) no lograron la momificación del insecto, pero si llegaron a la fase patogénica del hongo manifestándose como síntomas de enfermedad (Pérdida de movimiento, descoordinación, menor radio de movimiento y la muerte). Sin embargo, el T₃ (Cepa 24) obtuvo la momificación completa de todo el cuerpo del insecto teniendo un buen comportamiento sobre la plaga en estudio.
2. La patogenicidad expresada en términos de mortandad del insecto por causa de hongo, presento diferencias significativas entre los tratamientos: la mortalidad causada fue de 75,50%, 63% y 57% en los T₃ (Cepas 24), T₂ (Cepa 13) y T₁ (Cepa 9205).
3. El grado de virulencia se determinó de acuerdo al tiempo en el cual ocurrió el TL₅₀ de la población de larvas sometidas al hongo que fue variable. Siendo el más corto tiempo el T₃ (Cepa 24) manifestando superioridad, alcanzando la mortandad a las 46,8 horas, el T₁ (Cepa 9205) y el T₂ (Cepa 13) a las 83,52 horas y 72 horas. El tiempo total al 95% de larvas muertas en el orden establecido fue de 140,3 horas, 165,8 horas y 140,3 horas.
4. De manera general se concluye, que existe variabilidad patogénica de las cepas promisorias de *B. bassiana* estudiados, vale decir que tienen efectos individuales de control sobre el hospedero *Eloria noyesi*, manteniendo su alta calidad agresiva.

VIII. RECOMENDACIONES

En base a las conclusiones obtenidas del presente estudio a manera de sugerencia se hace las siguientes recomendaciones:

1. En condiciones de laboratorio, con el objetivo de continuar el estudio de la cepa promisoría se recomienda realizar una caracterización del hongo patogenizado sobre la plaga *E. noyesi* para determinar si existe alguna modificación en su estructura.
2. Se recomienda realizar trabajos similares en diferentes regiones de los Yungas de La Paz para poder establecer una recomendación más precisa a los agricultores de cada región.
3. Investigar la patogenicidad y virulencia del hongo *B. bassiana* en diferentes hospederos con el objetivo de determinar el potencial agresivo específico de un insecto a otro.
4. Para lograr un control de la plaga *Eloria noyesi* es necesario establecer en forma integrada una serie de medidas ecológicas con normas y reglas que el productor de coca debe asumir para una producción aceptable, en convivencia con la plaga con niveles de la población que no permita el daño económico.

IX. BIBLIOGRAFIA

- ❖ Alean, C. I. (2003). Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Homóptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia. p.101.
- ❖ Alves, S. B. (1986). *Control microbiano de insectos entomopatogenicos*. Sao Paulo, Brasil. Editorial Manole. Pp. 73-75
- ❖ Alvarez, H. (2012). Diversificación de la producción y el cultivo de coca en los Yungas del Departamento de La Paz. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia.
- ❖ Bustillo, P., A. E. (2002). El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Programa de Investigación Científica CENICAFE (Colombia). N° 24: Pp. 1-40
- ❖ Bustillo, P., A. E.; Cardenas M., R.; Villalba G., D.A.; Benavidez M., P.; Orozco H., J.; Posada F., F. J. (1998). Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná, CENICAFE. p. 134
- ❖ Bustillo, P., A. E. Y Baker, P., S. (1990). Manual de capacitación en control biológico. CENICAFE. Chinchina, Caldas, Colombia. P. 229.
- ❖ BROCARIL. (2002). Alternativa biológica para el control de la broca del café. Cali, Colombia. LAVERLAM. División Agrícola. p. 4.
- ❖ Carvajal y Escobar. (2016). ECOTOP S.R.L. Control del Ulo en coca. Disponible en : <http://ximexluna.blogspot.com/p/controla-al-ulo-en-tu-cocal-hoja.html>
- ❖ Carballo, M.; Falguni, G.; Lopez, P. (2004). Control biológico de plagas agrícolas. 1ª Edición. Managua: CATIE, (Manual técnico/CATIE; N° 53). p. 232.
- ❖ CABI. (2019). Centre for Agricultural Biosciencie International Disponible en : www.cabi.org
- ❖ Cañedo, v.; Ames, T. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatogenos. Lima-Perú. p.3.

- ❖ Cisneros V, F. (1995). Control de plagas Agrícolas. Disponible en : http://www.avocadosource.com/books/cisnerosfausto1995/CPA_8_PG_102-147.pdf
- ❖ Copa, L. (2011). Producción Ecológica de la Coca Departamento de La Paz. (Trabajo dirigido). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia Pp. 45 – 47.
- ❖ Cordero, A., J. D. 1999. Selección de cepas del hongo *Beauveria bassiana* (Bálsamo) en laboratorio para el control de la broca del café, en diferentes pisos ecológicos de los yungas de La Paz, (Tesis de grado). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia. p. 83
- ❖ Crespo, M. (2007), Impactos socio ambientales del cultivo de coca, *Pagina siete*. Disponible en : <https://www.paginasiete.bo/opinion/2017/3/11/impactos-socioambientales-cultivo-hoja-coca-130160.html>
- ❖ CENICAFE. (1995). Avances técnicos de CENICAFE. Tomo II. Chinchiná, Caldas, Colombia. Pp. 243 – 254.
- ❖ Espinoza, C. (2011). Plan de producción del cultivo de coca para la certificación ecológica en el Municipio de Chulumani Provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz. (Trabajo dirigido). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia. p. 34.
- ❖ FOMENTO AL DESARROLLO URBANO Y RURAL/FDTA-TH. (2005). Control Biológico de la Broca del Café en los Municipios de Coroico y Caranavi del Departamento de La Paz. Informe Final. Bolivia. p. 62.
- ❖ Gómez, R, H.; Zapata, G, A.; Torrez, A, E.; Tenorio, C, M. (2014). Manual de Producción y Uso de Hongos Entomopatógenos. Laboratorio de Entomopatógenos SENASA. Perú. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/> Pp. 17-21.
- ❖ Gomez, A. (2005). El espector. Disponible en : <http://axxon.com.ar/mus/info/05016.htm>
- ❖ Gonzales, G., MT.; Posada, F. F.; Bustillo, P., A. E. (1993). Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. CENICAFE, (Colombia). Pp. 93-102.

- ❖ Instituto Nacional de Estadística. (2017). Disponible: www.ine.com.bo
- ❖ Monzón, A. (2001). Producción uso y control de calidad de hongos entomopatógenos. Nicaragua. CATIE. Pp.63-103.
- ❖ Naciones Unidas. (2019). Monitoreo del cultivo de coca. Gobierno de Bolivia. Informe de monitoreo. PDF.
- ❖ PDM, Municipio Chulumani. (2001). Proporcionado por la Dirección de Desarrollo Productivo Económico y Ecológico.
- ❖ Rodríguez, N. (2012). Uso de plaguicida en el cultivo de coca (*Erythroxylum coca*) Municipio de Chulumani Departamento de La Paz. (Trabajo Dirigido). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia. p. 12.
- ❖ Resh, Vincent H.; Ring T. Carde (2009). *Encyclopedia of Insects* (2 edición). U. S. A.
- ❖ Slam, H. (1990). Evaluación Ecológica del cultivo de la coca en los Yungas de La Paz. Estudio de impacto ambiental. La Paz, Bolivia. LIDEMA.
- ❖ Sepúlveda E. (2017). Control biológico de plagas usando hongos Entomopatógenos BioINIA. Disponible en: <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/2017/05/5-Control-Biol%C3%B3gico-de-plagas-usando-Hongos-Entomopat%C3%B3genos-BioINIA.pdf> p. 34.
- ❖ Ortega, D. (2015). Estudio del Uso de Fertilizantes en el Cultivo de Coca y su Incidencia en la Producción y la Economía Familiar en el Municipio de Coripata Provincia Nor Yungas del Dpto. de La Paz. (Trabajo Dirigido). Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. Bolivia. p. 13.
- ❖ Vélez, F. (2004). La *Eloria noyesi*, una especie nocturna, nace, vive y se alimenta de la hoja de coca. Disponible en: <http://www.mamacoca.org/Octubre2004/doc/Eloria%20Noyesi%20contra%20la%20coca.htm>

X. ANEXOS

ANEXÓ 1. Ubicación geográfica del lugar.

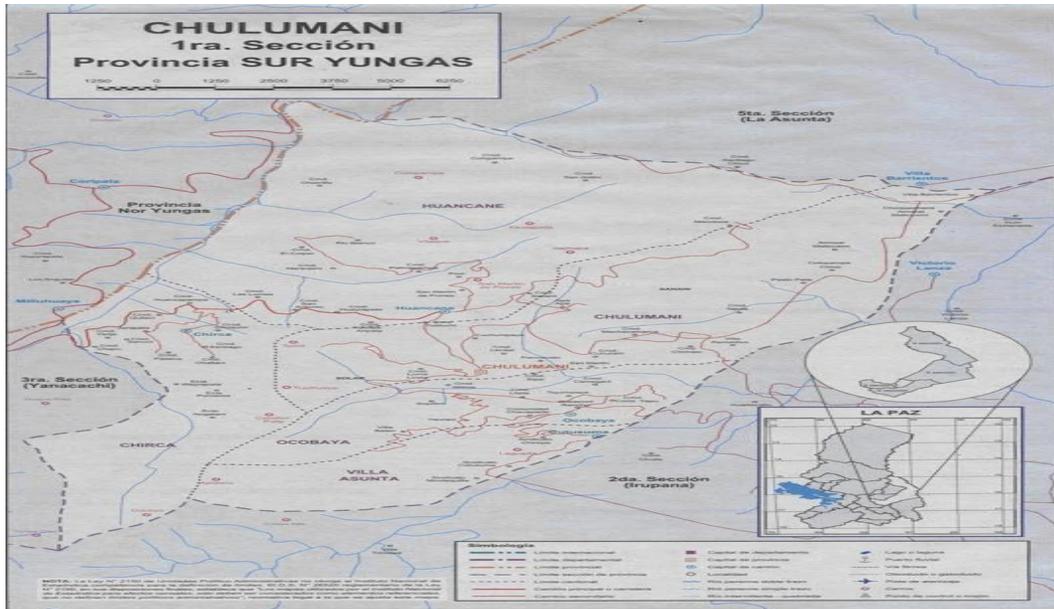


Figura 6, Mapa del Municipio de Chulumani. Fuente: Atlas Estadístico de Municipios de Bolivia, (2005)



Figura 7. Foto satelital de la comunidad del Colpar. Fuente: <https://earth.google.com>

ANEXÓ 2. Memoria de cálculo

Registro de porcentaje de mortalidad

Días		27	28	29	1	2	3	4
T0 (Testigo)	I	0	10	10	10	10	10	10
	II	5	10	10	25	25	25	25
	III	5	5	5	5	5	30	35
	IV	0	0	0	0	0	0	0
T1(9205)	I	25	30	35	40	60	60	100
	II	25	30	35	40	40	50	85
	III	15	15	45	50	75	80	100
	IV	45	45	75	100	100	100	100
T2 (13)	I	20	30	50	85	95	100	100
	II	15	20	20	25	60	100	100
	III	20	30	45	65	85	90	100
	IV	10	15	85	100	100	100	100
T3 (24)	I	255	45	45	50	75	90	95
	II	30	40	90	100	100	100	100
	III	35	35	55	75	100	100	100
	IV	55	85	90	100	100	100	100

Registro de larvas patogenizadas por día

Días		27	28	29	1	2	3	4
T0 (Testigo)	I	0	2	2	2	2	2	2
	II	1	2	2	3	5	5	5
	III	1	1	1	1	1	6	7
	IV	0	0	0	0	0	0	0
T1(9205)	I	5	6	7	8	12	12	20
	II	5	6	7	8	9	10	17
	III	3	3	9	10	15	16	20
	IV	9	9	15	20	20	20	20
T2 (13)	I	4	6	10	17	19	20	20
	II	3	4	4	5	12	20	20
	III	4	6	9	13	17	18	20
	IV	2	3	17	20	20	20	20
T3 (24)	I	5	9	9	10	15	18	19
	II	6	8	18	20	20	20	20
	III	7	7	11	15	20	20	20
	IV	11	17	18	20	20	20	20

Registro de estadios por tratamiento

N. de larvas por Unidad Experimental					
		20 larvas			
Total		320 larvas			
		T0(Testigo)	T1(Cepa 9205)	T2(Cepa 13)	T3(Cepa 24)
R1	L1	5	7	8	5
	L2	7	9	8	10
	L3	8	4	4	5
R2	L1	6	9	6	11
	L2	10	7	5	7
	L3	4	4	9	2
R3	L1	5	10	6	4
	L2	9	7	10	7
	L3	6	3	4	9
R4	L1	6	9	8	3
	L2	4	6	5	8
	L3	10	5	7	9

Modo de acción del hongo daño en las larvas

		leves 30% daño	30-50% daño	> 60% daño
T1 (9205)	I	2	8	10
	II	5	10	5
	III	3	7	10
	IV	7	5	8
T2(13)	I	3	9	8
	II	2	9	9
	III	6	11	3
	IV	7	5	8
T3 (24)	I	8	7	5
	II	3	12	5
	III	7	2	11
	IV	5	9	6

ANEXÓ 3. Registro de Temperatura y humedad de los meses de Febrero y Marzo 2020.

Febrero Temperatura °C

D	L	M	M	J	V	S
						21,5
21,8	21,5	20,8	21	21,3	20,4	20,1
20,5	20,3	21,4	20,5	20,9	20,5	19,5
18,8	21,3	20,4	20	21,5	21	20,7
21,1	20,3	19,5	20,5	21	21,5	22

Marzo Temperatura °C

D	L	M	M	J	V	S
21,5	21,5	20,3	21,8	20,4	20,5	20
20,5	19,6	19,5	20,5	21,5	21,8	21
20	21	22,8	21,5	23,3	18,9	21,5
22	21,5	21,1	20	21,6	21	19
21,4	21	21,4				

Febrero % Humedad

D	L	M	M	J	V	S
						62
79	85	84	87	85	86	85
78	81	86	83	81	82	73
82	73	80	83	79	86	79
90	77	84	79	90	77	84

Marzo % Humedad

D	L	M	M	J	V	S
75	76	79	75	80	80	80
75	86	75	70	71	73	69
68	84	70	72	74	80	73
73	89	80	67	84	84	78
82	75	80				

ANEXO 4. Archivo fotográfico



Fotografía 1. Lavado de los materiales.



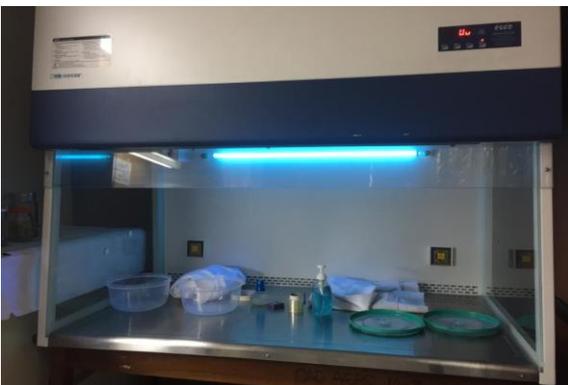
Fotografía 2. Cubrimiento de las placas petri.



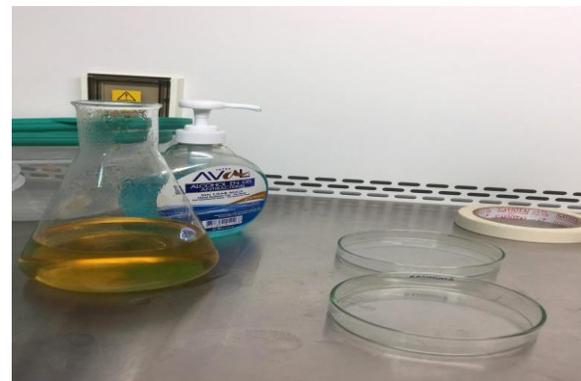
Fotografía 3. Preparado de la solución de SDA.



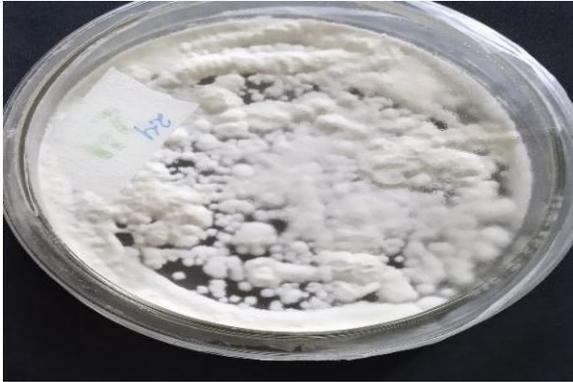
Fotografía 4. Desinfección en olla a presión.



Fotografía 5. Desinfección con ultra violeta.



Fotografía 6. Solución de SDA homogenizada.



Fotografía 7. Cepa 24 activada.



Fotografía 8. Cepa 13 activada.



Fotografía 9. Cepa 9205 activada.



Fotografía 10. Inoculación en medios de arroz.



Fotografía 11. Perdida de humedad del medio.



Fotografía 12. Área de inoculación para larvas.



Fotografía 13. Cultivo de coca.



Fotografía 14. Presencia de larvas en el cultivo.



Fotografía 15. Larvas recolectadas.



Fotografía 16. Cultivo infestado de larva.



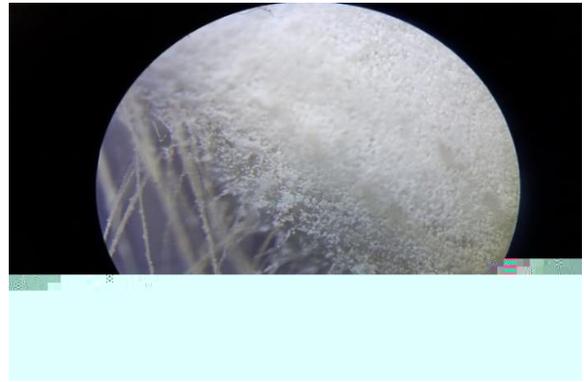
Fotografía 17. Manifestación del hongo T_3 (Cepa 24).



Fotografía 18. Larvas infestadas por *B. bassiana*.



Fotografía 19. Larva cubierta por el hongo.



Fotografía 20. Vista al estereoscopio.



Fotografía 21. Unidades experimentales afectadas.



Fotografía 22. Tratamiento T₁ (Cepa 9205).



Fotografía 23. Tratamiento T₃ (Cepa 24).



Fotografía 24. Tratamiento T₂ (Cepa 13).

La Paz 16 Noviembre de 2020

Ing. Ph. David Cruz

DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE FITOPATOLOGIA

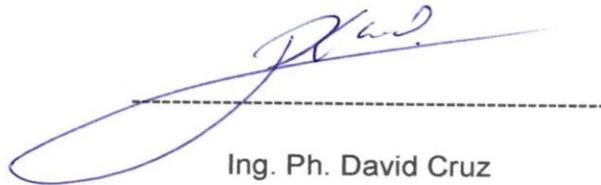
Ref.: Uso del laboratorio

El Univ. Yoban Eudis Mamani Ballon con R.U. 1695019, realizo el uso del **Laboratorio de Fitopatología** en fecha 19 de Noviembre del 2019 solicitando algunos materiales.

A continuación, se detalla el uso de materiales:

- Cámara de Flujo Laminar
- Autoclave
- Agitador
- Piceta
- Pipeta
- Vaso precipitado
- Mechero
- Varilla de vidrio

Atentamente.



Ing. Ph. David Cruz

La paz, 14 de Noviembre del 2020

Ref.: Certificación de trabajo de investigación

Mediante la presente tengo el agrado de hacer llegar un saludo cordial a su persona deseándole que tenga éxito en sus funciones que desempeña.

Yo Manuel Meneses Palli como Str. General

Certifico al señor Yoban E. Mamani Ballon estudiante egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica quien realizó su trabajo de investigación en la Comunidad de El Colpar del Municipio de Chulumani Provincia Sud Yungas, aplicando hongos entomopatogenos en la plaga de la coca Ulo, dicha investigación contribuye a la Comunidad dándonos alternativas para el control de la plaga y disminuir el uso de agroquímicos.

Sin nada más me despido de su persona.

Atentamente.



Manuel Meneses Palli
Manuel Meneses Palli
STRIO. GEN.
Comunidad Colpar - Prov. Sud Yungas