

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



**“PATOGENICIDAD DE SIETE AISLAMIENTOS DE HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA HORMIGA COQUI (*Atta
cephalotes* L.) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES -
MENCIÓN FORESTALES**

PRESENTADO POR:

CILES ROLDAN RODRIGUEZ DEL CASTILLO

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 12 de Febrero del 2018, a horas 4:00 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para calificar la Tesis titulada:

“PATOGENICIDAD DE SIETE AISLAMIENTOS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA HORMIGA COQUI (*Atta cephalotes* L.) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”

Presentado por el Bachiller: **CILES ROLDAN RODRIGUEZ DEL CASTILLO**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de **“MUY BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**, mención **FORESTALES**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del Título correspondiente.

Tingo María, 23 de Julio del 2018.


Dr. LADISLAO RUIZ RENGIFO
PRESIDENTE


Ing. M.Sc. CASIANO AGUIRRE ESCALANTE
VOCAL


Ing. EDILBERTO DÍAZ QUINTANA
VOCAL




Ing. M.Sc. GIANNFRANCO EGOAVIL JUMP
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES



**“PATOGENICIDAD DE SIETE AISLAMIENTOS DE HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE LA HORMIGA COQUI (*Atta
cephalotes* L.) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO”**

Autor	: Ciles Roldan Rodriguez Del Castillo	
Asesor	: Ing. M. Sc. Gianfranco Egoávil Jump	
Programa de Investigación	: Biotecnología	
Línea de Investigación	: Micología, innovación biotecnológica y enzimática en bosques tropicales.	
Eje Temático	: Patogenicidad de hongos.	
Lugar de Ejecución	: Laboratorio de entomopatógenos de la facultad de Agronomía – UNAS.	
Duración	: Inicio	: 23 de junio del 2014
	: Término	: 12 de febrero del 2018
Financiamiento	: FEDU	: 0
	: Propio	: S/. 3260
	: Otros	: 0

2018

DEDICATORIA

A Dios, quién siempre me da su infinito amor, sabiduría y fortaleza.

A mis amados padres: Florencio Rodriguez Mozombite y Hortencia Del Castillo Del Águila, con eterna gratitud, quienes, con mucho amor y sacrificio, me formaron con principios morales y éticos, e hicieron posible la culminación de mi especialidad.

A mi amada hija Margaret Anabel Rodriguez Montecinos, y a mi esposa Linda Vidhard Montecinos Bustillos, por el apoyo que me brindaron y siempre dándome fuerzas para poder salir adelante.

A mi hermano José Luis Rodriguez Del Castillo, mi tío Roldan Panduro Grández, y Dalú Del Castillo Peña (Q.E.P.D), a mis primos: Aner, Sandro, julio, a mis suegros: Roberto y Ana.

AGRADECIMIENTOS

- A mi alma mater, Universidad Nacional Agraria de la Selva, por haberme forjado como profesional.
- A todos mis profesores de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, quienes contribuyeron en mi formación académica.
- Al Ing. M. Sc. Gianfranco, Egoávil Jump asesor de la tesis, por su apoyo incondicional en la ejecución y redacción del informe final de mi tesis.
- A la Ing. Wilma Gonzáles Toscano técnica del laboratorio de entomopatogenos por el apoyo en toda la ejecución de mi tesis, a la Sra. Ana Erlinda Bustillos Orizano por el apoyo brindado en la culminación de mi investigación.
- A mis amigos: Ing. Jhon Keny Vega Cortez, Ing. Paul Engel Gutierrez Campos, que de una u otro forma contribuyeron a la culminación de mi trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Hormiga “coqui” (<i>Atta cephalotes</i> L.).....	4
2.1.1. Origen y distribución.....	4
2.1.2. Taxonomía.....	4
2.1.3. Biología y ciclo de vida.....	5
2.1.4. Síntomas y daños.....	8
2.2. Entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> (bálsamo) Vuillemin	8
2.2.1. Origen y distribución.....	8
2.2.2. Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	9
2.2.3. Características morfológicas	9
2.2.4. Importancia.....	10
2.2.5. Ciclo de vida.....	11
2.2.6. Modo de acción	12
2.3. Entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i>	13
2.3.1. Origen y distribución.....	13
2.3.2. Taxonomía de <i>Metarhizium anisopliae</i>	14
2.3.3. Características morfológicas	14

2.3.4.	Importancia.....	15
2.3.5.	Ciclo de vida.....	15
2.3.6.	Modo de acción	16
2.4.	Entomopatógeno <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	17
2.4.1.	Origen y distribución.....	17
2.4.2.	Taxonomía de <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	17
2.4.3.	Características morfológicas	18
2.4.4.	Importancia.....	18
2.4.5.	Ciclo de vida.....	18
2.4.6.	Modo de acción	19
2.5.	Importancia del ensayo de patogenicidad	19
2.6.	Trabajos de investigación.....	20
2.6.1.	Hormigas coqui (<i>Atta cephalotes</i>).....	20
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1	Lugar de ejecución	30
3.2	Zona de vida	30
3.3	Características del lugar de procedencia de la hormiga “coqui”	30
3.3.1	Información general.....	30
3.3.2	Clima	31
3.3.3	Uso de la actual de la tierra.....	31

3.4	Multiplicación de los entomopatógenos.....	32
3.4.1	Procedencia de los entomopatógenos	32
3.4.2	Preparación de medio de cultivo	32
3.4.3	Siembra y repique de los entomopatógenos	34
3.4.4	Identificación de los entomopatógenos.....	35
3.5	Ritmo promedio de crecimiento micelial de los entomopatógenos en medio de cultivo agar papa dextrosa	36
3.5.1	Diseño estadístico	36
3.5.1.1	Componentes en estudio	36
3.5.1.2	Tratamientos.....	36
3.5.1.3	Diseño experimental	37
3.5.1.4	Disposición del experimento	38
3.5.1.5	Análisis estadístico	38
3.5.2	Prueba del Crecimiento Micelial.	39
3.5.2.1	Preparación de medios de cultivo.....	39
3.5.2.2	Plaqueo de los medios de cultivo	40
3.5.2.3	Siembra del patógeno.....	40
3.6	Ensayo de patogenicidad sobre la hormiga “coqui” <i>Atta</i> <i>cephalotes</i>	42
3.6.1	Diseño estadístico	42
3.6.1.1	Componente en estudio.....	42

3.6.1.2	Tratamientos.....	42
3.6.1.3	Diseño experimental	43
3.6.1.4	Croquis del ensayo de patogenicidad.....	44
3.6.2	Transformación de Datos estadísticos.....	45
3.6.2.1	Análisis estadístico	45
3.6.3	Procedimiento.....	47
3.6.3.1	Esterilización del sustrato de arroz	47
3.6.3.2	Siembra de los entomopatógenos en el sustrato de arroz.....	47
3.6.3.3	Incubación	48
3.6.3.4	Colección de la plaga.....	48
3.6.3.5	Determinación de la concentración de los tratamientos	49
3.6.3.6	Preparación para la prueba	51
3.6.3.7	Aplicación de los entomopatógenos	51
3.6.4	Evaluación	53
IV.	RESULTADOS	55
4.1.	Evaluación del crecimiento micelial y conteo de conidias desarrollado en arroz.....	55
4.1.1.	Evaluación del crecimiento micelial	55
4.1.1.1.	Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).....	55

4.1.1.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	55
4.1.1.3.	Tasa de crecimiento micelial de los entomopatogenos	55
4.1.2.	Evaluación de la concentración de conidias de los entomopatogenos por gramo de sustrato.	58
4.1.2.1.	Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).....	59
4.1.2.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	62
4.2.	Patogenicidad de los entomopatogenos sobre la hormiga coqui.	63
4.2.1.	Mortalidad de la hormiga coqui	63
4.2.2.	Tiempo letal medio (TL50)	64
4.2.3.	Etapa de inoculación a muerte de la hormiga coqui (<i>Atta cephalotes</i> L.).....	64
4.2.3.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	64
4.2.3.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	65
4.2.4.	Inicio de la producción de micelio en horas	66
4.2.4.1.	Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)	66
4.2.4.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	67
4.2.5.	Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos	68
4.2.5.1.	Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)	68

4.2.5.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	68
4.2.6.	Inicio del cubrimiento micelial.....	70
4.2.6.1.	Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$).....	70
4.2.6.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	70
4.2.7.	Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (<i>Atta cephaotes</i> L.).....	71
4.2.7.1.	Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$).....	71
4.2.7.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	72
V.	DISCUSIÓN.....	75
5.1.	Evaluación del crecimiento micelial y la concentración de conidias por gramo de sustrato de arroz.....	75
5.1.1.	Evaluación del crecimiento micelial.....	75
5.1.1.1.	Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).....	75
5.1.1.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	76
5.1.1.3.	Tasa de crecimiento micelial de los entomopatogenos.....	77
5.1.2.	Evaluación de la concentración de conidias de los entomopatogenos por gramo de sustrato.....	78
5.1.2.1.	Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).....	79
5.1.2.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	79
5.2.	Patogenicidad de los entomopatogenos sobre la hormiga coqui.....	80

5.2.1.	Mortalidad de la hormiga coqui	80
5.2.2.	Tiempo letal medio (TL50)	82
5.2.3.	Etapa de inoculación a muerte de la hormiga coqui (<i>Atta cephalotes</i> L.).....	83
5.2.3.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	83
5.2.3.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	83
5.2.4.	Inicio de la producción de micelio en horas	85
5.2.4.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	85
5.2.4.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	85
5.2.5.	Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos	87
5.2.5.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	87
5.2.5.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	87
5.2.6.	Inicio del cubrimiento micelial	88
5.2.6.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	88
5.2.6.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	89
5.2.7.	Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (<i>Atta cephaotes</i> L.).....	90
5.2.7.1.	Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).....	90
5.2.7.2.	Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).....	90
VI.	CONCLUSIONES	92

VII. RECOMENDACIONES.....	94
VIII. ABSTRAC.....	95
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXO	104

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Componentes en estudio	36
2. Tratamientos en estudio.....	36
3. Modelo del Análisis de Variancia (F. tab. = 0.05).....	38
4. Prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) de los promedios de los tratamientos.	39
5. Componentes en estudio	42
6. Tratamientos en estudio.....	43
7. Modelo del Análisis de Variancia	46
8. Prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) de los promedios de los tratamientos.	46
9. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la evaluación del crecimiento micelial.....	56
10. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la evaluación del crecimiento micelial.	56
11. Concentración promedio de conidias de los entomopatógenos y determinación el volumen de agua	60
12. Concentración de conidias de los entomopatógenos por cada lectura realizada en la cámara de neubauer	61
13. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la concentración de conidias.....	62
14. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la concentración de conidias	62

15. Análisis de Variancia ($\alpha=0.05$) de la etapa de inoculación a muerte de <i>A. cephalotes</i>	65
16. Prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) para la etapa de inoculación a muerte de <i>A. cephalotes</i>	65
17. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) del Inicio de la producción de micelio en horas.....	66
18. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) del Inicio de la producción de micelio en hora.....	67
19. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos.....	68
20. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos.....	69
21. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) del inicio del cubrimiento micelial.....	70
22. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) del inicio del cubrimiento micelial.....	70
23. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (<i>Atta cephaotes</i> L.).....	71
24. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (<i>Atta cephaotes</i> L.).....	72
25. Evaluación del crecimiento micelial del T ₁ - <i>Beauveria bassiana</i> SENASA CCB-LE 2118 (siembra: 17/07/2014).....	106

26. Evaluación del crecimiento micelial del T ₂ - <i>Beauveria bassiana</i> SENASA CCB-LE 2118 (siembra: 17/07/2014).....	106
27. Evaluación del crecimiento micelial del T ₃ - <i>Paecilomyces</i> <i>fumososroseus</i> (siembra: 16/07/2014).....	107
28. Evaluación del crecimiento micelial del T ₄ - <i>Beauveria Bassiana</i> UNAS (siembra: 15/07/2014).....	107
29. Evaluación del crecimiento micelial del T ₅ - <i>Beauveria brongniartii</i> (siembra: 15/07/2014).....	108
30. Evaluación del crecimiento micelial del T ₆ - <i>Beauveria bassiana</i> CCB- LE 265 SENASA (siembra: 16/07/2014).....	108
31. Evaluación del crecimiento micelial del T ₇ - <i>Verticillium lecani</i> (siembra: 16/07/2014)	109
32. Registro del tercer día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	109
33. Registro del sexto día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	110
34. Registro del noveno, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	110
35. Registro del doceavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	111

36. Registro del quinceavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	111
37. Registro del dieciochoavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.	112
38. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación.	112
39. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación.	113
40. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación.	113
41. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación.	114
42. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación.	114
43. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación.	115
44. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación.	115
45. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación.	116

46. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi.r^2$) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación	116
47. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi.r^2$) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación	117
48. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi.r^2$) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación.....	117
49. Calculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi.r^2$) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación	118
50. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación.....	118
51. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación	119
52. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación	119
53. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación	120
54. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación.....	120
55. Calculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación	121

56. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación	121
57. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación.....	122
58. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación.....	122
59. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación	123
60. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación	123
61. Transformación a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación	124
62. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación	124
63. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación.....	125
64. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{x+1}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación.....	125

65. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación	126
66. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación	126
67. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación	127
68. Valores de los radios promedio de crecimiento micelial, de los tratamientos en estudio, al 3 ^{er} , 6 ^{to} , 9 ^{no} , 12 ^{avo} , 15 ^{avo} y 18 ^{avo} día de evaluación.	128
69. Cuadro resumen de la concentración de conidias por gamo de arroz de los tratamientos en estudio.....	130
70. Evaluación de la mortalidad de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.	137
71. Evaluación del crecimiento micelial (esporulación) de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.....	138
72. Evaluación del cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.	139

73. Calculo del TL ₅₀ de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.	140
74. Resumen del TL ₅₀ de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.	141
75. Calculo del tiempo (horas) de la mortalidad de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.....	142
76. Calculo del tiempo (horas) del crecimiento micelial (esporulación) de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.....	143
77. Calculo del tiempo (horas) del cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui <i>Atta cephalotes</i> en 17 días de evaluación.....	144
78. Etapa de inoculación a muerte de <i>A. cephalotes</i> , de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.	145
79. Inicio de la producción de micelio en horas de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.	145

80. Muerte a producción de micelio en horas de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.	146
81. Inicio del cubrimiento micelial en horas, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.	146
82. Muerte a cubrimiento micelial, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.	147

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Preparación de medio PDA, a) Pesando la dextrosa y el tubérculo de papa, b) Caldo papa, c) Mezclando la dextrosa en el caldo papa, d) Conservando el medio PDA en la refrigeradora.	33
2. a) Plaqueo de medio de cultivo PDA, y b) repique de <i>M. anisopliae</i>	35
3. Observación de la estructura del hongo (40x) mediante montajes en lactofenol de azul de metileno	35
4. Ensayo de crecimiento micelial con siete medios de cultivo diferente	38
5. Esquema de la repetición (10 Atta cephalotes) de cada tratamiento	44
6. Disposición de los tratamientos.....	45
7. a) Pesando 20 g de arroz y b) Siembra del hongo en el sustrato de arroz	48
8. a) Incubación y b) Colección de la plaga	49
9. Determinación de la concentración de los tratamientos: Imagen digital de los campos de la cámara de Neubauer.	50
10. Aplicación de los entomopatógenos: a) Suspensión de conidias de <i>Metarhizium anisopliae</i> , b) Aplicación del entomopatógeno	52
11. Acondicionamiento de las hormigas coquí después de la aplicación con registro diario de temperatura y humedad.	53

12. a) Verificación del cubrimiento micelial del hongo sobre la hormiga coqui b) Cubrimiento micelial del T ₆ y primera repetición (r ₅).	53
13. Crecimiento micelial de los hongos <i>B. bassiana</i> , <i>B. brongniartii</i> , <i>M. anisopliae</i> <i>P. fumosoroseus</i> y <i>V. lecanii</i>	57
14. Ecuación lineal del crecimiento de los hongos entomopatógenos en estudio en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa	58
15. Concentración de conidias de la hormiga coqui.....	63
16. Porcentaje de mortalidad de la hormiga coqui.	63
17. Tiempo letal medio (TL ₅₀) de los tratamientos de estudio.....	64
18. Horas desde la etapa de inoculación a muerte de <i>A. cephalotes</i> en cada uno de los tratamientos en estudio.	66
19. Inicio de la producción de micelio en horas en cada uno de los tratamientos en estudio	67
20. Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos.	69
21. Inicio del cubrimiento micelial de cada uno de los tratamientos.....	71
22. Cubrimiento micelial de <i>B. bassiana</i> , <i>B. brongniartii</i> , <i>M. anisopliae</i> <i>P. fumosoroseus</i> y <i>V. lecanii</i> , sobre <i>A. cephalotes</i> L.	73
23. Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (<i>Atta cephaotes</i> L.) en cada uno de los tratamientos.	74

24. Conteo de cuadrícula, vista frontal	129
25. Conteo de cuadrícula vista al reverso.....	129
26. Crecimiento de los tratamientos en estudio en arroz.	131
27. Cámara de neubauer marca Marienfeld de procedencia alemana	131
28. Conteo de conidias, vertiendo alícuota de la suspensión del hongo entomopatógeno.....	132
29. Conteo de conidias a través de la cámara neubauer con el microscopio conectada al computador.	132
30. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>B.</i> <i>bassiana</i> tratamiento T ₁ (BB – 2118).....	133
31. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>M.</i> <i>anisopliae</i> del tratamiento T ₂ (MA-302).....	133
32. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>P.</i> <i>fumosoroseus</i> tratamiento T ₃ (PL – SENASA).....	134
33. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>B.</i> <i>bassiana</i> del tratamiento T ₄ (BB-UNAS).	134
34. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>B.</i> <i>brongniartii</i> tratamiento T ₅ (BBr).	135
35. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos <i>B.</i> <i>bassiana</i> del tratamiento T ₆ (BB-265).....	135

36. Conteo de conidia en la cámara de Neubauer del hongo <i>V. lecani</i> del tratamiento T ₇ (VL-SENASA).....	136
37. Evaluación de la prueba de patogenicidad. Inspección visual	147
38. Evaluación de la prueba de patogenicidad. Verificación de mortandad.	148
39. Hormigas <i>A. cephalotes</i> muertas a. Hormigas con inicio de crecimiento micelial	148
40. Hormigas <i>A. cephalotes</i> muertas. Observación en el estereoscopio	149
41. Observación de las hormigas muertas en el estereoscopio y laptop	149
42. Verificación de la patogenicidad de los hongos entomopatógenos sobre la hormiga coquí.....	150
43. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. <i>B. bassiana</i> tratamiento T ₁ (BB – 2118).....	150
44. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. <i>M. anisopliae</i> del tratamiento T ₂ (MA-302).	151
45. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. a. <i>P. fumosoroseus</i> tratamiento T ₃ (PL – SENASA) y	151
46. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. <i>B. bassiana</i> del tratamiento T ₄ (BB-UNAS).....	152
47. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. a. <i>B. brongniartii</i> tratamiento T ₅ (BBr).....	152

48. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. <i>B. bassiana</i> del tratamiento T ₆ (BB-265).....	153
49. Cubrimiento micelial sobre <i>A. cephalotes</i> L. del hongo <i>V. lecani</i> del tratamiento T ₇ (VL-SENASA).....	153
50. Plano del Laboratorio de entomopatógenos de la Facultad de Agronomía de la UNAS.....	154

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivos: calcular el ritmo promedio de crecimiento y la ecuación lineal en un medio de cultivo PDA y la concentración de conidias, determinar el porcentaje de mortalidad, tiempo letal medio, etapa de inoculación a muerte, el mejor tiempo del inicio de la esporulación y la etapa de muerte a producción de micelio, el mejor tiempo del inicio del cubrimiento micelial y la etapa de muerte a cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos sobre *Atta cephalotes* L. La investigación se realizó en el Laboratorio de Entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva – Tingo María, distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco, se utilizó siete aislamientos de hongos entomopatógenos, cinco fueron adquiridos en el SENASA (*Beauveria bassiana* CCB-LE2118, *Beauveria bassiana* CCB-LE 265, *Metarhizium anisopliae* CCB-LE302, *Paecilomyces fumososroseus*, *Verticillium lecani* SENASA) y dos fueron obtenidos de la UNAS (*Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*). Los resultados muestran que *Beauveria bassiana* CCB-LE2118 y *Metarhizium anisopliae* CCB-LE302 obtuvieron el mejor ritmo promedio de crecimiento, estadísticamente y la mejor concentración de conidias lo obtuvo *Beauveria bassiana* UNAS. El mejor valor del TL₅₀ lo obtuvo *Beauveria bassiana* UNAS. El mejor resultado en el inicio de la producción de micelio y la etapa de muerte a producción de micelio lo obtuvo el *Paecilomyces fumososroseus* y el mejor tratamiento en el inicio del cubrimiento micelial y de la etapa muerte a cubrimiento micelial lo obtuvo *Beauveria brongniartii* UNAS.

I. INTRODUCCIÓN

Entre las muchas características de la selva del Perú, está la mega diversidad de fauna y flora, siendo la flora el pulmón de la selva, quien cumple un papel muy importante desde el punto de vista de ecológico y de sobrevivencia de las especies, muchos de las especies vegetales, como los frutales y árboles son explotados a menor y mayor escala, por su el consumo de sus frutas en fresco o procesadas, como el uso de su leño como madera. Uno de los problemas actuales que existe en los cultivos agrícolas, forestales y ornamentales, es la hormiga *Atta cephalotes* conocida comúnmente como hormiga coquí, abundante en la selva del Perú, según Cherrett (1986), citado por RUIZ (2010), estas hormigas pueden llegar a defoliar entre 12 y 17 % del porcentaje de hojas producidas en el bosque, esto se debe de acuerdo Hölldobler y Wilson (1990), citado por RUIZ (2010) que esta plaga consume el hongo tipo *Leucocoprinus*, al que alimenta con un bolo alimenticio constituido por las hojas cortadas de bosque.

El control convencional de las hormigas del género *Atta cephalotes* es mediante cebos hormiguicidas, productos químicos, sin embargo, muchos autores mencionan que el combate de las hormigas "Coqui" es muy difícil debido a que las cámaras de los nidos, túneles y canales, se extienden sobre vastas

extensiones y a una gran profundidad. Una de las alternativas es el uso de hongos entomopatógenos, que constituye uno de los enemigos naturales más significativas de las plagas y que no causa daños en la ecología, considerado como un control biológico amigable y en armonía con medio ambiente, uno de los problemas es que actualmente en el Perú no existe información del uso de los hongos entomopatógenos como método de control de la hormiga coqui que llega a causar daños considerables, por lo cual la presente investigación se plantea la siguiente interrogante, ¿tendrán un efecto favorable la aplicación de los hongos entomopatógenos sobre la hormiga *Atta cephalotes* L. que permitirá el control y el uso adecuado de las mismas bajo condiciones de laboratorio?. Para tal efecto se plantea la hipótesis: La aplicación de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Paecilomyces fumosoroseus* y *Metarhizium anisopliae*, tienen efectos en el control de la hormiga coqui *Atta cephalotes* L. bajo condiciones de laboratorio.

Por lo tanto, el trabajo de investigación, contribuye al control biológico de *A. cephalotes*, mediante la utilización de hongos entomopatógenos, como alternativa a los productos químicos empleados en el control de insectos plagas que en el tiempo causan impactos negativos en el ambiente y disminución en la producción por efecto de resistencia a estos productos químicos.

Objetivo general:

Evaluar la patogenicidad de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metschinhoff.) Sorokin y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Broun & Smith, para el control de la hormiga coqui *Atta cephalotes* L.

Objetivos específicos:

- Calcular el ritmo promedio de crecimiento y la ecuación lineal que expresa el crecimiento de los entomopatógenos en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa y la concentración de conidias por gramo de sustrato de arroz, más favorables

- Determinar el porcentaje de mortalidad, tiempo letal medio y la etapa de inoculación a muerte de los hongos entomopatógenos sobre *A. cephalotes* L.

- Determinar el mejor tiempo del inicio de la esporulación y la etapa de muerte a producción de micelio de los hongos entomopatógenos sobre *A. cephalotes* L.

- Determinar el mejor tiempo del inicio del cubrimiento micelial y la etapa de muerte a cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos sobre *A. cephalotes* L.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Hormiga “coqui” (*Atta cephalotes* L.)

2.1.1. Origen y distribución

Las hormigas arrieras o cortadoras de hojas, *Atta* spp; *Acromyrmex* sp. (Hymenoptera: Formicidae) son originarias del Neotrópico, pertenecen a la tribu Attini, que agrupa a todas las especies de hormigas que cultivan hongos de los cuales se alimentan. Esta tribu con doce géneros comprende unas 210 especies en su mayoría en los bosques húmedos tropicales de Suramérica; en la zona central del Departamento del Chocó se registraron individuos pertenecientes a los siguientes géneros: *Atta*, *Acromyrmex*, *Cyphomyrmex*, *Trachymyrmex*, *Sericomyrmex* y *Mycocepurus*. Las hormigas se encuentran en México, América Central (Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Panamá), Cuba, Argentina, Venezuela, Colombia, Ecuador, Bolivia, Perú, Surinam, Guyana, Guayana francesa, Brasil, Trinidad y las Antillas. (ESCOBAR *et al.*, 2006).

2.1.2. Taxonomía

Según ITIS (2017), reporta que la clasificación taxonómica del insecto, es la siguiente:

Reino	: Animalia
Subreino	: Bilateria
Infrareino	: Protostomia
Superdivisión	: Ecdysozoa
División	: Arthropoda
Subdivisión	: Hexapoda
Clase	: Insecta
Subclase	: Pterygota
Infraclase	: Neoptera
Superorden	: Holometabola
Orden	: Hymenoptera
Suborden	: Apocrita
Infraorden	: Aculeata
Superfamilia	: Vespoidea
Familia	: Formicidae
Subfamilia	: Myrmicinae
Tribu	: Attini
Género	: <i>Atta Fabricius, 1804</i>
Especie	: <i>Atta cephalotes</i> (Linnaeus, 1758)

2.1.3. Biología y ciclo de vida.

BUSTOS (2003) menciona que, la constitución del hormiguero *Atta cephalotes* está constituido por diferentes castas, estos insectos son siempre gregarios, existiendo una división del trabajo, diferenciándose en tres castas, la primera es la reina, siendo su función únicamente la de poner huevecillos

después del "vuelo nupcial", la segunda es la de los reproductores alados (machos y hembras que serán las reinas después del "vuelo nupcial"), que se desarrolla a los tres años de fundada la colonia, y la tercera casta, es la de las obreras que son hembras con los órganos genitales atrofiados, constituyen el mayor número de la población del hormiguero; esta casta presenta tres subcastas que son: la subcastas de los soldados o mayores que se desarrollan a los dos años de fundada la colonia, presentándose esta solo en el género *Atta*, las forrajeras de tamaño mediano que colectarán el material vegetativo encontrándose en el exterior del hormiguero y las de menor tamaño o cultivadoras del hongo del cual se alimentan todas las hormigas.

Las reinas presentan un tamaño del cuerpo mayor, así como el abdomen y llegan a medir 2.4 a 2.7 cm de largo y una expansión alar de 7 cm con una venación simple, después del "vuelo nupcial" éstas se desprenden. Su abdomen es muy abultado de coloración castaño oscuro con una mancha alargada de color negro sobre la parte dorsal y hacia el centro del abdomen, la cabeza contiene antenas con doce segmentos y de patas relativamente cortas pero gruesas y fuertes que le servirán para cavar un pequeño túnel donde introducirse y así fundar una nueva colonia al poner los huevecillos fecundados.

Los individuos de sexo masculino son de un tamaño menor que las reinas, son esbeltos con ojos y ocelos muy desarrollados, mandíbulas vestigiales y casi siempre las antenas con trece segmentos, las alas son conservadas durante el corto tiempo de su vida. Se conocen con el nombre de zánganos, siendo su función únicamente de copulación durante el "vuelo nupcial" después del cual mueren.

El tamaño del zángano es de 1.2 a 1.5 cm la expansión de las alas es de 6 cm de coloración castaño clara con tres manchas oscuras sobre el centro y lados del tórax. La cabeza y las mandíbulas están poco desarrolladas presentan unas uñas grandes facilitándoles la adhesión a la reina en la cópula durante el "vuelo nupcial".

Las obreras son siempre ápteras, es decir, sin alas, los soldados son de cabeza mucho mayor en relación a su cuerpo, presentando una coloración castaño rojizo.

La hembra que fue fecundada se convertirá en reina y fundará una nueva colonia monogínea, es decir, con una sola reina, rara vez puede ser poligínea. Esta nueva reina excavará un canal más o menos vertical que termina en una profundidad de unos 30 cm para construir la primera cámara que es limpiada perfectamente, después de lo cual, tapa el canal de entrada, esto lo realiza entre 6 a 8 horas, una vez encerrada la reina en la cámara regurgitará pequeños trozos de hongo que había cortado del micelio del hongo de su nido natal.

Atta cephalotes L. inicia la puesta de huevecillos, los que se han calculado en más de 137 millones, los cuales están activos de 10 a 20 años estando en relación con la vida de una reina (Moser, 1962 y Weber, 1972, citado por BUSTOS, 2003).

La reina se alimentará la primera parte de su vida con huevecillos que no fueron fecundados. A los 25 días los huevecillos que dieron lugar a las

primeras larvas ya son adultos y ayudarán al cultivo del hongo, en el caso de las forrajeras se desarrollan a los 80 días que son las encargadas del cuidado general de la colonia y la colecta de hojas que servirán para el cultivo del hongo.

2.1.4. Síntomas y daños

El género de hormigas *Atta*, o cortadoras de hojas, produce impactos de diferente índole en sistemas agrícolas y forestales. Especies como el *Atta cephalotes* tienen preferencia por los claros del bosque, siendo comunes las “troneras” (zompoperos o nidos) en los sitios de cultivos agrícolas, produciendo importantes daños (BRANSTETTER y SAENZ, 2012).

2.2. Entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin

2.2.1. Origen y distribución

Los primeros datos sobre *B. bassiana* fueron emitidos por Agostino Bassi en 1834 cuando demostró que este hongo era el agente causal de una enfermedad en el gusano de seda *Bombix mori*, conocida como la muscardina blanca (MACHADO, 2016; CARBALLO *et al.*, 2004). El primer reconocimiento taxonómico del hongo muscardino fue propuesto por Balsamo-Crivelli, quien en honor a Bassi, denominó al hongo *Botrytis bassiana*. El género *Beauveria*, en cambio, no fue descrito formalmente hasta 1912 por Vuillemin (HERRERA, 2011). *B. bassiana* se conoce muy bien por su amplio rango de hospederos y distribución geográfica, ha sido probada por su patogenicidad contra más insectos plagas que cualquiera otra especie de hongo (CARBALLO *et al.*, 2004),

se encuentra distribuido por todo el mundo, de forma saprófita y parásita atacando mayormente insectos del orden coleóptero y lepidóptero (COMMONWEALTH MICOLOGICAL INSTITUTE, 1979).

2.2.2. Taxonomía de *Beauveria bassiana*

MICOBANK (2017), clasifica al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* de la siguiente manera:

Reino	: Fungi.
División	: Ascomycota.
Clase	: Sordariomycetes.
Orden	: Hopocreales.
Familia	: Clavicipitaceae.
Género	: Beauveria.
Especie	: <i>Beauveria bassiana</i> .

2.2.3. Características morfológicas

Este hongo presenta unas estructuras que son visibles al microscopio llamadas fiálidas o células conidiógenas que tienen una base globosa o sea en forma de botella y se extienden apicalmente en grupos densos. Estas fiálidas presentan un raquis que es denticulado en zigzag y se extiende apicalmente con un conidio denticulado (CARBALLO *et al.*, 2004). *Beauveria bassiana* se caracterizó por presentar un crecimiento lento, circular, llegando

alcanzar 20 mm de diámetro en 10 días (GARCÍA *et al.*, 2011) y coincide que para la colonia de *B. bassiana* crece en un rango de 0.6 a 2.3 cm de diámetro. (Domsch *et al.*, 1993, citado por GARCÍA *et al.*, 2011).

El conidióforo mide de 1-2 μ de diámetro donde nacen células conidiógenas en grupos grandes (CAÑEDO y AMES, 2004). La conidia es aceptado, globoso y menor a 3.5 μ para *B. bassiana* (CARBALLO *et al.*, 2004). Además, CAÑEDO y AMES (2004), indican que estas conidias son hialinas, globosas a subglobosas, de 2 a 3 x 2 a 2.3 μ que se insertan sucesivamente en el raquis en forma opuesta.

El mielio es de color blanco y los conidios presentan una coloración blanca a crema (CARBALLO *et al.*, 2004). En medio Agar Papa Dextrosa, la colonia a los 14 días es algodonosa a polvorienta, blanca. A medida que va pasando el tiempo se vuelve amarillenta, cremosa. El revés es de color rojizo al centro y amarillento alrededor (CAÑEDO y AMES, 2004).

2.2.4. Importancia

B. bassiana es uno de los entomopatógenos más estudiados (Wainwright, 1995, citado por ESTRADA, 1997). Su uso como bioplaguicida es bajo comparado con el *Bacillus thuringiensis*, pero ha sido considerado como un candidato muy importante para usarse en el control microbiano de plagas. Su uso ha sido muy importante en China y en Europa mientras que, en América Latina, el uso más importante en los últimos años ha sido para el control de la

broca del café (CARBALLO *et al.*, 2004). *B. bassiana* se constituye en uno de los enemigos naturales más importantes de la broca (ROSSKAMP, 1997).

2.2.5. Ciclo de vida

El ciclo de vida de *B. bassiana* comprende dos fases, una patogénica y la otra saprofitica. La fase patogénica involucra cuatro pasos principales: adhesión, germinación, diferenciación y penetración. El proceso de infección se inicia con la unión de los conidios del hongo a la cutícula del insecto. Existen sitios preferenciales del tegumento del insecto hospedante donde los conidios se adhieren, germinan y penetran. Estos lugares corresponden a las regiones intersegmentales del insecto donde la composición y estructura es sensiblemente diferente al resto del tegumento. Las condiciones óptimas para la germinación son: temperatura de 23 a 25 °C y humedad del 92%. El conidio germina originando un tubo germinativo en cuyo extremo se diferencia un apresorio cuya función podría ser debilitar la cutícula en los puntos de contacto o simplemente es una transición hacia la formación del pico o estaquilla de penetración (CARBALLO *et al.*, 2004).

La fase saprofitica ocurre dentro del hemocele, con un crecimiento prolífico del hongo. Esta multiplicación del hongo ocurre por gemación produciendo formas micelianas libres y unicelulares llamadas blastosporas y también la producción de hifas. Finalmente, el hongo invade los tejidos y como consecuencia ocurre la muerte del hospedante. Después de la muerte ocurre una fase de crecimiento micelial hacia el exterior que concluye con la producción de nuevas unidades reproductivas (conidios) sobre la superficie y rodeando el cadáver del insecto (CARBALLO *et al.*, 2004).

2.2.6. Modo de acción

Existe un control biológico, bastante significativo realizado por hongos entomopatógenos ocurre en forma primaria a través de la cutícula (Deacon, 1983, citado por VELEZ, 1993). Los hongos penetran la cutícula de los insectos originando dos procesos: uno físico debido a la presión de las hifas que rompen áreas membranosas y poco esclerotizadas; y otro químico, por la elaboración de enzimas que degradan la cutícula. La muerte del insecto ocurre por acción de micotoxinas, el rompimiento de tejidos, bloques mecánicos del aparato digestivo y otros daños físicos por desarrollo del micelio (Robert y Yerdol, 1971 y Alves, 1986, citado por CABRERA, 1995). las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido (FERRON, 1978).

En el interior del insecto el hongo se va desarrollando llegando a atrofiar el sistema nervioso (CABRERA, 1995). Además *B. bassiana*, produce metabolitos secundarios, como son varias toxinas siendo las principales los ciclodepsipéptidos entre los cuales están la beauvericine, el beauverolide H e I, el bassianolide, el isarolide A, B y C. Todas estas son aisladas del micelio de *B. bassiana* (CARBALLO *et al.*, 2004), enniatinas y oosporeina (BARNETT, 1998). Beauvericina es el compuesto que ha recibido más atención. Ha demostrado ser tóxico a moscas y mosquitos en pruebas realizadas en laboratorio. Esta toxina ayuda a romper el sistema inmunológico del hospedante (CARBALLO *et al.*, 2004).

La germinación de las conidias de *B. Bassiana* sobre la broca del café, ocurre en un período de 12 horas después de la inoculación. El hongo penetra a

través del integumento por acción enzimática, lo cual otras 12 horas después de unas 72 horas de la inoculación el insecto está totalmente colonizado (GONZALES *et al.*, 1993). Al cabo de tres a cuatro días el hongo comienza a manifestarse externamente sobre el cuerpo de la broca (ROSSKAMP, 1997).

Los insectos antes de sucumbir a la infección, exhiben varios síntomas incluyendo intranquilidad, cese de alimentación y pérdida de coordinación. Puede haber cambios en la coloración del tegumento. Los insectos enfermos, generalmente, se mueven hacia lugares altos como la vegetación o si son subterráneos, hacia la superficie del suelo donde van a permanecer hasta su muerte y luego como cadáveres adheridos a las hojas y ramas o sobre el suelo presentando los signos característicos (CARBALLO *et al.*, 2004).

2.3. Entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*

2.3.1. Origen y distribución

Los estudios de *M. anisopliae* se iniciaron en Cuba en la década de los 70 del siglo pasado, pero no es hasta 1993 que comienzan a producirse en cantidades mayores y a utilizarse para el control de plagas de insectos en varios cultivos (Pérez, 2008, citado por MACHADO, 2016). *M. anisopliae* es el agente causal de la muscardina verde y es un patógeno de más de 300 especies de siete órdenes de insectos. Los Coleópteros son los hospederos más comunes (CARBALLO *et al.*, 2004). *Metarhizium* es un hongo que es transmitido por la tierra e infecta principalmente insectos que viven en el suelo, tanto en regiones tropicales como templadas (NUSSENBAUM, 2014).

2.3.2. Taxonomía de *Metarhizium anisopliae*

MICOBANK (2017b), clasifica al hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* de la siguiente manera:

Reino	:	Fungi.
División	:	Ascomycota.
Clase	:	Sordariomycetes.
Orden	:	Hopocreales.
Familia	:	Clavicipitaceae.
Género	:	<i>Metarhizium</i> .
Especie	:	<i>Metarhizium anisopliae</i> .

2.3.3. Características morfológicas

Visto al microscopio, *M. anisopliae* presenta células conidiógenas (fiálidas) de forma cilíndrica, con ápices redondeados o cónicos y están arreglados en densos himenios. Los conidióforos son ramificados repetidamente formando una estructura semejante a un candelabro. Los conidios son septados, cilíndricos u ovoides, formando cadenas usualmente arregladas en columnas prismáticas “o cilíndricas o en masas sólidas de cadenas paralelas. Su color varía entre el verde pálido o brillante a verde-amarillo u oliváceo. *M. anisopliae* presenta conidios cortos de 3.5 a 9 μm mientras que *M. anisopliae* var. mejor presenta conidios de 9 a 18 μm . Los cadáveres de los insectos afectados, se observan completamente cubiertos con micelio del hongo de color blanco. Cuando el hongo esporula sobre el

cadáver, adquiere una coloración verdosa (CARBALLO *et al.*, 2004). Las conidias están frecuentemente unidas formando la estructura conocida como sinemata. La formación de esta sinemata se debe probablemente a una necesidad ecológica para habitar sobre el hospedero ya que no es muy frecuente su presencia cuando el hongo se cultiva en medios artificiales (Griffin, 1981, citado por, MACHADO, 2016).

2.3.4. Importancia

Es el segundo hongo entomopatógeno más ampliamente usado en el control microbial y es el hongo más utilizado en Latinoamérica para el control de diferentes especies de Cercópodos que son plagas en la caña de azúcar (CARBALLO *et al.*, 2004).

2.3.5. Ciclo de vida

El ciclo de vida de *M. anisopliae* comprende una fase patogénica que se inicia con la unión de los conidios del hongo a las partes frágiles de la cutícula del insecto. Si las condiciones de humedad son adecuadas, ocurre la germinación de los conidios originando un tubo germinativo y luego se forma la estaquilla de penetración para penetrar la cutícula. Antes de que ocurra la muerte del insecto proliferan cuerpos hifales. La muerte del insecto marca el fin de la fase patogénica y el micelio empieza a crecer saprofiticamente dentro del hemocele invadiendo todos los tejidos. La muerte del hospedante ocurre tanto por el efecto mecánico del hongo como por el efecto de los metabolitos tóxicos producidos. Después de la muerte, ocurre una fase de crecimiento micelial hacia el exterior que concluye con

la producción de nuevas unidades reproductivas (conidios) sobre la superficie y rodeando el cadáver del insecto (CARBALLO *et al.*, 2004).

2.3.6. Modo de acción

Después de germinar, el hongo penetra al insecto por las regiones frágiles de la cutícula mediando la acción física propia del hongo a través de las estructuras formadas después de la germinación como son los apresorios y la estaquilla de penetración y también mediante la acción química gracias a la participación de enzimas como proteasas, lipasas y quitinasas que degradan la cutícula (CARBALLO *et al.*, 2004). En la penetración se da mediante el mecanismo físico y químico. Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo del insecto, esto sucede en tres ó cuatro días después de la inoculación. A partir de la colonización se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto, ocurre cuatro ó cinco días después de la inoculación (Hajek y Leger, 1994, citado por CASTILLO, 2006).

Además de la acción física del micelio producido por la multiplicación del hongo en el interior del cuerpo del insecto que invade los órganos y tejidos, es muy importante la participación de las destruxinas que tienen una acción insecticida propia. Produce varias toxinas entre ellas los ciclodepsipeptidos como las destruxinas A, B, C, D y la desmetildestruxina B y otras como la A1, A2, B1, C2, D1, D2, y E1. Son compuestos tóxicos para los insectos por inyección intrahemocélica y su efecto tóxico varía con la especie de insecto. Otros compuestos son las

cytochalasinas que pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad en insectos afectados por *Metarhizium* (CARBALLO *et al.*, 2004). Las toxinas dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina, son sustancias de baja toxicidad, pero de mucha actividad tóxica sobre insectos, ácaros y nematodos) (Sandino, 2003, citado por CASTILLO, 2006).

El hospedero produce reacciones de defensa celular por ejemplo granulomas que son tejidos formados para rodear el micelio. Las toxinas producidas por el hongo erosionan estos granulomas y permiten a las blastosporas invadir el hemocele. Las toxinas también matan al hospedero al provocar una degradación progresiva de sus tejidos debido a la pérdida de integridad estructural de las membranas y la consecuente deshidratación de las células por pérdida de fluidos (CARBALLO *et al.*, 2004).

2.4. Entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*

2.4.1. Origen y distribución

El hongo *P. fumosoroseus* es un patógeno de amplio intervalo de hospederos y gran distribución geográfica, que ha sido aislado del suelo y de insectos de diversos órdenes como homópteros, coleópteros y colémbolos (CHAN *et al.*, 2010).

2.4.2. Taxonomía de *Paecilomyces fumosoroseus*

Según MICOBANK (2017c), clasifica al hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* de la siguiente manera:

Reino	:	Fungi.
División	:	Ascomycota.
Clase	:	Eurotiomycetes.
Orden	:	Eurotiales.
Familia	:	Trichocomaceae.
Género	:	<i>Paecilomyces</i> .
Especie	:	<i>Paecilomyces lilacinus</i> .

2.4.3. Características morfológicas

Los conidios poseen una forma de cilíndrica a fusiforme, forman cadenas y tienen extremos redondeados. Las hifas vegetativas presentan paredes lisas, los conidióforos son erectos y tienden a formar sinemas con verticilios ramificados en grupos de 4-6 fiálides. El tamaño de los conidios oscila entre 1-2 mm de ancho y 3-4 mm de largo aproximadamente, con hifas de 1-1,5 mm de ancho y 3,5-4,4 mm de largo, y los conidióforos de 1,5-3 mm de ancho (PEREZ *et al.*, 2003)

2.4.4. Importancia

P. fumosoroseus es un hongo entomopatógeno Deuteromiceto utilizado para el control de plagas que afectan a cultivos de gran importancia económica entre ellas se encuentran *Bemisia tabaci* (mosca blanca), *Lyriomisa trifolli* Burgues, las termitas y *Thrips palmi* Karni. (PEREZ *et al.*, 2003)

2.4.5. Ciclo de vida

Primero se encuentra como habitante del suelo, al encontrar un

hospedero, procede la adhesión de la conidia en el, lo siguiente es la germinación de la conidia, luego procede la penetración de la conidia en el interior del cuerpo, empieza la colonización del hongo en el interior del cuerpo del hospedero, y por ultimo realiza el crecimiento externo y producción de conidias (MONZON *et al.*, 2009).

2.4.6. Modo de acción

La infección del huésped inicia con la adhesión, proceso donde están implicadas la hidrofobinas, pequeñas proteínas anfipáticas (100 aminoácidos). Por degradación enzimática el hongo penetra la cutícula, la cual contiene ceras, entre ellas hexadécano (VIGUERAZ, 2009).

2.5. Importancia del ensayo de patogenicidad

La prueba de Patogenicidad es la más importante en el análisis de calidad de una formulación porque determina si el patógeno ataca la plaga para la cual está recomendada (VELEZ, 1997).

Estudios llevados a cabo en Camerún, Guatemala, Brasil, y Costa Rica demuestran que el hongo entomopatógeno *B. bassiana* (Deuteromyceto) puede matar a la broca del café en condiciones de laboratorio o de campo, pero estos autores no establecieron diferencias entre aislamientos de *B. bassiana* en cuanto a su Patogenicidad hacia la broca (Fernández, 1955, Monterroso, 1981, Pascalet, 1939, Quesada, 1985, citado por JIMENEZ, 1992). Se comprobó que existen diferencias en virulencia entre razas de *B. bassiana* contra la broca del café (GONZALEZ, 1993; ESTRADA, 1997).

En trabajos realizados por GONZÁLEZ (1993), bajo condiciones de laboratorio, evaluó 46 aislamientos provenientes de diferentes hospedantes y diferentes sitios de origen, y encontró que el 35 % de ellos, causó mortalidades inferiores al 50 % y cinco de ellos alcanzaron niveles de infección superior al 80%. Se encontró diferencias en los dos aislamientos con respecto al tiempo de muerte del insecto, murieron en 106 horas en promedio en el tratamiento con el aislamiento Bb – 9205 Ds, mientras que para la cepa Bb – 9205 BFC la duración fue de 66.72 horas en promedio después de la inoculación.

Además, Hall *et al.* (1982), citado por JIMENEZ (1992), indica que la primera etapa en el desarrollo de cualquier hongo entomopatógeno como insecticida es la selección de aislamiento altamente patogénicos para el insecto que se quiere controlar, para lograrlo es necesario diseñar un sistema de bioensayo apropiado así mismo GONZÁLES (1993) y RODRÍGUEZ *et al.*, (1997), para encontrar las diferencias de medias, en los ensayos de Patogenicidad, utilizaron la prueba de DUNCAN ($\alpha= 0.05$).

2.6. Trabajos de investigación

2.6.1. Hormigas coqui (*Atta cephalotes*)

En Paraguay, de acuerdo a lo mencionado por CHIRIBOGA *et al.* (2015), el desafío local del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA) ha sido desarrollar la producción del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, adaptado a las condiciones climáticas y de suelos del Paraguay con la cooperación del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura

(IICA), buscando así minimizar las pérdidas de productividad y la competitividad de la agricultura. Con la masificación del hongo, se pretendió facilitar el acceso de los productores de la Agricultura Familiar, a un bio-insumo eficaz para el control de las hormigas cortadoras que afectan sobre todo las fincas frutihortícolas de la Región Oriental

Un hormiguero de *Atta* sp se asemeja a un organismo, si muere o se extrae la reina, muere todo el hormiguero, nido o colonia, es posible que, al no tener la reina, las hormigas tuvieron un grado de desorientación en cada uno de las repeticiones del experimento ALARCON *et al.* (2012), en el laboratorio a las hormigas se les deben proporcionar a las colonias las siguientes condiciones de humedad relativa de 85-90 %, temperatura de 24 °C y fotoperíodo de 12 horas diarias, así lo menciona VALDERRAMA *et al.* (2006).

En Guatemala, ALBERTO (2016), menciona que, para el control del zompopo, la empresa Pantaleón S.A. ha utilizado el producto químico Chlorpyrifos, comercialmente denominado Terminator®; sin embargo, dicho componente está presente en el listado de productos moderadamente peligrosos, descrito por la Organización Mundial de la Salud. Derivado de los compromisos de la empresa con los estándares de calidad y medio ambiente, se decide que se requiere de otras alternativas viables para su control. En países como Brasil y Cuba, entre otros, se han desarrollado investigaciones sobre la utilización de hongos entomopatógenos, tales como: *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Dichas investigaciones informan sobre resultados en donde se han alcanzado efectividades biológicas superiores al 90 % en algunas

especies de *Atta*, bajo ciertos parámetros y condiciones. Con base en estas investigaciones, se desarrolló el presente trabajo, en donde se evaluó la efectividad y costo de los hongos antes mencionados, versus el control químico. Durante los 30 días de la evaluación, *B. bassiana* logró reducir hasta el 3.42 %, *M. anisopliae* redujo la infestación hasta el 33 % y el producto Terminator inicialmente redujo la infestación hasta 15.76 % en 10 días; sin embargo, al día 30, la población de zomposos se recuperó hasta un 80 %. El producto de menor costo de aplicación por tronera fue: Terminator® (Q 33.59) seguido por *B. bassiana* (Q 332.56) y finalmente el *M. anisopliae* con (Q 333.52). Los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* redujeron la infestación de zomposos y pueden ser utilizados para el control de los mismos.

En Colombia FERNÁNDEZ *et al.* (2015), menciona que la hormiga arriera está asociada a grandes pérdidas en el sector agrícola, en su mayor parte en el sector del cultivo de cítricos, debido a su actividad defoliadora. El control de la especie se ha realizado de manera artesanal, química y biológica; esta última es amigable con el medio ambiente, de bajo riesgo para el ser humano. Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar una formulación biológica para el control de la hormiga arriera (*A. cephalotes*) utilizando una mezcla de esporas de dos hongos filamentosos (*B. bassiana* y *T. lignorum*). Se realizó el aislamiento de *B. bassiana* y *T. lignorum* mediante cultivo YPDA, la identificación por impronta fúngica y el crecimiento en YPD. Se desarrollaron cinco formulaciones con relaciones de 1:1,6:4, 4:6, 3:7, 2:8 de *B. bassiana* y *T. lignorum*, respectivamente; a estas se les realizó la prueba de viabilidad en agar nutritivo

y se determinó la viabilidad como el número de esporas germinadas a las 24 h. La prueba de patogenicidad se llevó a cabo mediante la desinfección en solución de hipoclorito al 5 % e inmersión por 1 minuto de 10 hormigas por formulación. Un grupo adicional fue el control negativo (sin formulación); la prueba fue por triplicado. Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante ANOVA y la prueba de pureza se evaluó mediante el crecimiento durante 10 días en agar SDA. Las formulaciones presentaron viabilidad a las 24 h del 95 %. El 100 % de las formulaciones fueron puras después de diez días. Las formulaciones 6:4, 1:1, 2:8 infectaron a la totalidad de los individuos en 6 días, mientras que las formulaciones 4:6 y 3:7 a los ocho días de exposición. Se observaron diferencias estadísticas entre estos dos grupos. Las formulaciones 6:4, 1:1, 2:8 de *B. bassiana* y *T. lignorum* poseen mayor actividad infecciosa sobre la hormiga en laboratorio.

Así mismo en Colombia, de acuerdo a BANDERAS (2014), las hormigas cortadoras de hojas o zompopos (*A. colombica*) son una plaga económicamente importante en la agricultura. Estas hormigas utilizan las hojas cortadas para cultivar el hongo *Attamyces* sp., del cual se alimentan. Los objetivos de este estudio fueron: a) Determinar la efectividad de *T. harzianum* y *B. bassiana* para el control de *A. colombica*. b) Determinar el efecto antagónico de *T. harzianum* sobre *Attamyces* sp. Se estudió en el laboratorio la efectividad del Malation y los hongos. En el laboratorio los soldados y reinas tratados con *B. bassiana* y Malation murieron más rápido que con *T. harzianum* y el testigo. En los insectos parasitados por *B. bassiana*, después de tres días, el

entomopatógeno crecía en la superficie del insecto. Se concluye que *B. bassiana* es una alternativa al Malation, controla igual y no contamina el ambiente. *T. harzianum* demora más en matar. En el campo, se seleccionaron nidos activos y se aplicaron los tratamientos, en el número de salidas, al final no hubo diferencia significativa entre *T. harzianum*, *B. bassiana* ni el testigo; el Malation mostró diferencia con los otros tratamientos. *B. bassiana* reduce la actividad de las obreras, comparado con los otros tratamientos. El uso de bioplaguicidas es una alternativa para el equilibrio ecológico y la protección del ambiente, por lo que la lucha biológica juega un papel muy importante dentro de la estrategia del control integrado de plagas.

VALENCIA (2014), menciona que, en Colombia *Atta cephalotes* L. (*Hymenoptera: Myrmicinae*) es la más abundante de las hormigas cortadoras de hojas. Sus altas poblaciones, consecuencia del incremento de áreas fragmentadas, ocasionan pérdidas en cultivos de importancia agrícola y forestal. En esta dirección, se evaluó la capacidad antagónica de nueve aislados nativos de hongos y nueve de bacterias sobre *L. gongylophorus* y *Serratia marcescens*, simbiontes de esta especie de hormiga. Además, se evaluó la actividad insecticida de los mismos aislados, mediante contacto e ingestión. Aquellos microorganismos que demostraron tener actividad antagónica y/o entomopatógena, fueron enfrentados para establecer el grado de coexistencia. Todos los aislamientos se realizaron a partir de los desechos de nidos de hormigas criadas en laboratorio. Los aislados compatibles con *Mucor* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus ochraceus*, *A. flavus*, *Penicillium* sp. dos morfoespecies de *Fusarium*, al igual que dos del género *Bacillus*, afectaron

negativamente al hongo simbionte. *Mucor* sp. y *Trichoderma* sp. fueron los más efectivos con una inhibición del 65.18 y 51.94 %, respectivamente. El hongo *A. flavus* fue el único con un efecto sobre *S. marcescens*, al afectar su crecimiento y la producción de pigmento. De otro lado, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Enterobacter* sp., *Serratia liquefaciens*, *Bacillus subtilis*, dos morfoespecies más de *Bacillus* y *S. marcescens*, tuvieron una actividad insecticida importante, siendo en general, mayor el efecto en las aplicaciones por contacto. *A. flavus*, *A. ochraceus* y *Penicillium* sp. mostraron mejor actividad que los entomopatógenos de uso comercial, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, en términos de la mortalidad acumulada, TL₅₀ y porcentaje de colonización. Por otra parte, la capacidad de coexistencia fue variable, demostrando que *Mucor* sp., *Trichoderma* sp. y *A. flavus* tienen baja capacidad de crecer en mezcla con los demás microorganismos, por lo que las condiciones más apropiadas para su formulación deben ser evaluadas. Los resultados indican que estos aislados nativos de hongos y bacterias son promisorios para la elaboración de productos biológicos para el control de la hormiga y se constituyen en línea base para investigaciones futuras.

También en Colombia MENA (2010), señala que la hormiga arriera o cortadora de hojas (*A. colombica*) son reconocidas como el principal limitante en la producción agrícola, forestal y ornamentales urbanos del departamento del Chocó. Una de las alternativas de manejo es el uso de insecticidas químicos, pero los problemas inherentes a este método, han llevado a buscar otros métodos de manejo. A partir de esto, nace la alternativa de seleccionar aislamientos nativos de hongos entomopatógenos y evaluar su acción sobre las

hormigas cortadoras de la especie *A. colombica*. Se analizaron 30 cepas de hongos nativos obtenidos de individuos muertos de *Atta* sp., y de los desechos producidos por *A. colombica*, de los cuales 21 aislamientos fueron evaluados sobre esta misma especie en laboratorio. Se compararon los aislamientos en cuanto a la mortalidad acumulada, el TL₅₀, TM₅₀ y la CL₅₀. Los aislamientos H-M-03 y H-M-08 de *Metarhizium* sp., alcanzaron 100 % de mortalidad al quinto día de inoculación. Con una diferencia con relación al control positivo (M-137) de 1,3 y 2,0 días ($P > 0,05$) en matar el 50 % de los individuos. Esta situación es de gran interés desde el punto de vista de la diseminación de la enfermedad causada por un hongo entomopatógeno, y como herramienta de control de este insecto teniendo en cuenta las características comportamentales de las hormigas cortadoras como una población social. Para los aislamientos seleccionados de *Metarhizium* la CL₅₀ de H-M-03 fue de 1.12×10^6 , para H-M-08 de 1.16×10^6 conidias/ml y el control positivo M 137 con 1.04×10^6 . Por último, se concluyó que en general las cepas nativas obtenidas en este estudio del género *Metarhizium* en especial H-M-03 y H-M-08, presentaron un alto grado de virulencia contra *A. colombica* en laboratorio y potencialmente viable para llevar a pruebas con la colonia completa en laboratorio y posteriormente para campo en la región de origen.

En el Centro de Investigaciones Amazónicas Macagual, localizado a 1° 15' de latitud Norte y 75° 31' de longitud Oeste, CASTRO y MARTÍNEZ (2008), evaluaron el uso de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* como control

biológico de hormiga arriera (*A. cephalotes*). Se escogieron cinco hormigueros con base en: los orificios de entrada del material vegetal, tamaño de los botaderos y el área de influencia de cada colonia. Se encontró que la reducción de las hormigas fue relativamente baja con la aplicación de los dos tipos de hongos. El *M. anisopliae* fue más efectivo como entomopatógeno que *B. bassiana*. La aplicación de los dos hongos con bomba de espalda mostró mejores resultados que la realizada manualmente con cebo. Así mismo, la aplicación de los hongos mezclados con cebo fue más vulnerable a la precipitación.

Así mismo en Colombia LEMUS *et al.* (2008), investigaron la factibilidad del hongo *M. anisopliae* para ser usado como control biológico de la hormiga arriera (*A. cephalotes*), concluyeron que el hongo entomopatógeno *M. anisopliae* es capaz de infectar a la hormiga arriera en un periodo de 4 días, donde se ocasiona su muerte, lo cual permite la continuación de la investigación para el desarrollo de una formulación que pueda ser aplicada en campo. El hongo entomopatógeno debe ser continuamente recrecido, esto asegura mejores resultados en la prueba de viabilidad y patogenicidad. Además, menciona que se logró, a nivel de laboratorio, obtener una cantidad suficiente de esporas (9.97×10^9 e/ml), resultados que permita el desarrollo fúngico de una manera eficaz. Donde es importante tener en cuenta la cantidad de oxígeno disponible para el desarrollo de las esporas fúngicas. Las pruebas de patogenicidad corroboran que cuando el oxígeno es muy poco el hongo tiene muy baja o casi nula patogenicidad.

En Colombia, LOPEZ Y ORDUZ (2002), investigaron la aplicación de cebos basados en el hongo entomopatógeno *M. anisopliae* cepa M-137, *T. viride* cepa T-26 antagonista del hongo simbionte de *A. cephalotes*, y una combinación de ambos hongos, para el control de colonias de *A. cephalotes* en campo. Además, se comparó la actividad insecticida de los cebos con hongos con el producto químico Pirimifos Metil, aplicado con insufladora. Las hormigas no detectaron los hongos formulados en forma de cebo, de manera que los cargaron hasta el interior de los nidos sin generar conductas de defensa. La mortalidad de los nidos tratados con los cebos estuvo por encima del 80 %, mientras que el tratamiento con Pirimifos Metil solo alcanzó la muerte del 60 % de los hormigueros. Además, después de una semana de la aplicación de los distintos tratamientos, se observaron cambios de comportamiento en los insectos, que se reflejaron principalmente en la ausencia de forrajeo. En conclusión, el hongo *M. anisopliae* fue efectivo para controlar colonias de *A. cephalotes*, y su potencia fue superior a la del producto químico Pirimifos Metil.

En Perú ZAVALETA *et al.* (2013) evaluó la patogenicidad de cuatro aislamientos de *Beauveria bassiana*, dos de *Metarhizium anisopliae* y dos de *Paecilomyces lilacinus*, sobre *A. cephalotes* y *Reticulitermes* sp. Los hongos fueron obtenidos del Laboratorio de Entomopatógenos de la UNAS y del SENASA, cultivados en PDA, multiplicados en sustrato de arroz durante 10 días. Se calculó y estandarizó la concentración a la dosis $1,73 \times 10^8$ conidias/g. Las evaluaciones se realizaron diariamente, se utilizó el DCA, con nueve tratamientos, incluyendo al testigo (T₁) con tres repeticiones (cinco especímenes/repeticiones), se realizó el ANOVA (F. tab. =0,05) y las diferencias de

medias de Tuckey ($\alpha=0,05$). El TL_{50} para *Reticulitermes* sp. fue 40 h con T₅ (MA-302) y T₆ (MA-319), siendo este último tratamiento quien obtuvo el menor tiempo desde la inoculación a muerte con 49,6 h. El TL_{50} de *A. cephalotes* fue 31,2 h con T₆(MA-319), quien con 40 h obtuvo el menor tiempo desde la inoculación a muerte. Para *Reticulitermes* sp. el inicio de la producción de micelio, fue estadísticamente superior T₃ (BB-2118) y T₆ (MA-319) con 115,20 h, el inicio del cubrimiento micelial fue numéricamente superior T₂ (BB-265) con 134 h, desde la muerte a la presencia del micelio y desde la muerte a cubrimiento micelial, fue numéricamente superior T₃(BB- 2118) con 48 y 68,8 h, respectivamente. Para *A. cephalotes* el inicio de la producción de micelio fue numéricamente superior T₆(MA-319) con 76,8 h, el inicio del cubrimiento micelial fue numéricamente superior T₆ (MA-319) con 102,4 h, desde la muerte a la presencia del micelio fue numéricamente superior T₇ (BB-UNAS) con 35,6 h y desde la muerte a cubrimiento micelial fue numéricamente superior T₆(MA-319) con 62,4 h.

EGOAVIL *et al.* (2014), para el barrenador de planchas de tripay (*Dysides obscurus*), y comején (*Reticulitermes* sp) en el inicio de producción de micelio: para *D. obscurus* fue numéricamente superior al tratamiento T₂ (BB-265) con 96 h, para *Reticulitermes* sp. fue estadísticamente superior T₃(BB-2118) y T₆(MA-319) con 115,20 h, y en la prueba Tukey se encontró que el aislamiento *B. bassiana* (BB-2118) con 141.33 horas y *B. bassiana* (BB-265) con 134.0 horas, obtuvieron los mejores valores respectivamente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado Av. Universitaria s/n km 1.5, en la ciudad de Tingo María, distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco, cuya ubicación geográfica es 09° 18' 48" latitud sur, 75° 59' 45" longitud oeste y 668.6 m.s.n.m.

3.2 Zona de vida

Pulgar (1967) menciona que, la zona de Tingo María se encuentra en la región natural de Rupa Rupa o selva alta, se caracteriza por tener un clima de bosque muy húmedo Pre montano subtropical (HOLDRIDGE, 1987). Las que provocan las constantes caídas de hojas de los árboles, formándose las hojarascas y posteriormente la descomposición durante todo el año, que permiten el desarrollo de bosques exuberantes (SÁNCHEZ, 1994).

3.3 Características del lugar de procedencia de la hormiga “coqui”

3.3.1 Información general

El distrito de Rupa Rupa se encuentra ubicada entre la unión de los ríos

Monzón y Huallaga, a una altitud aproximada de 660 m.s.n.m., a la altura del kilómetro 528 de la Carretera Central y sus coordenadas geodésicas son 09° 18' 00" de latitud sur y 76° 91' 00" de longitud oeste en el meridiano de Greenwich, pertenece a la provincia de Leoncio Prado, cuya capital es Tingo María, conformada por seis distritos: Rupa Rupa, José Crespo y Castillo, Mariano Dámaso Beraún, Padre Felipe Luyando, Daniel Alomía Robles y Hermilio Valdizán. Y pertenece a la Región Huánuco, localizándose en la parte central del país, entre la cordillera oriental, comprendiendo su territorio selva alta y selva baja

3.3.2 Clima

El SENAMHI (2018), registra que el mes con temperatura más alta es setiembre (30.3 °C); la temperatura más baja se da en el mes de julio (18.7° C); y llueve con mayor intensidad en el mes de enero (451.08 mm/mes), humedad de 67%.

Las precipitaciones promedio anual están en 3.179 mm, en épocas de invierno éstas pueden alcanzar hasta los 3860 mm. con un clima cálido-húmedo-lluvioso, con abundantes precipitaciones pluviales, sobre todo en los meses de noviembre a marzo. La humedad relativa mensual promedio es de 85.67 % y su ritmo de variación está de acuerdo al ciclo de lluvias, por lo que en las épocas de mayor precipitación se registra una mayor humedad (RAMÍREZ, 2010).

3.3.3 Uso de la actual de la tierra

La actividad agraria está basada principalmente en la ganadería, la

producción agrícola de cultivos industriales (café y cacao) y de consumo directo (plátano, naranja, mandarina, piña, papaya, palta, “guanábana”, “cocotero”, “cocona” y “yuca”) entre otros, así como de la extracción de madera para aserrío tanto del medio natural a través de concesiones como de plantaciones forestales (RAMÍREZ, 2010).

3.4 Multiplicación de los entomopatógenos

3.4.1 Procedencia de los entomopatógenos

Se utilizó siete aislamientos de hongos entomopatógenos del Laboratorio de Entomopatogenos, de los cuales cinco fueron adquiridos en el SENASA (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumososroseus* y *V. lecanii*) y dos aislamientos (*B. bassiana* y *B. brongniartii*) de la UNAS.

3.4.2 Preparación de medio de cultivo

Para la multiplicación de los entomopatógenos se preparó el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa “Potato Dextrose Agar” (PDA) en botellas de vidrio (botellas con una capacidad de 200 ml), para lo cual se pesó 250 g de trozos de papa, 12 g de dextrosa, 12 g de agar, los cuales fueron enrazados a 1000 ml (Figura 1). Los tubérculos de papa fueron de buena calidad, estos fueron lavados con agua corriente, sin pelar, se partió el tubérculo en pedazos, seguidamente se le sancocha con 500 ml de agua destilada 10 minutos en microondas (Samsung – Modelo 103WXPE). Después con la ayuda de dos capas de gasa se filtró (caldo papa),

consecutivamente el agar fue calentando por tres minutos con 400 ml, con la finalidad de disolver todo el agar, seguidamente se añadió la dextrosa y se mezcló con el caldo papa y se enrazó con 1000 ml de agua destilada. Posteriormente el medio fue vertido en unas cinco botellas de néctar de boca angosta, aproximadamente 200 ml por botella, se tapó la boca con algodón y se recubrió con papel bond la boca de la botella y luego fueron esterilizados en la autoclave (Allamerican – Modelo N° 25X), durante 20 minutos a 121 °C de temperatura y 15 Lbs. de presión. Una vez preparado el medio PDA fue conservado en la refrigeradora.



Figura 1. Preparación de medio PDA, a) Pesando la dextrosa y el tubérculo de papa, b) Caldo papa, c) Mezclando la dextrosa en el caldo papa, d) Conservando el medio PDA en la refrigeradora.

3.4.3 Siembra y repique de los entomopatógenos

Para la siembra de los entomopatógenos, se disolvió medio de cultivo PDA con la ayuda de un microondas, aproximadamente en 5 minutos, una vez disuelto el medio de cultivo, dentro de la cámara de flujo laminar (Captair – CRUMASA 08080) fueron vertidos (plaqueados) dentro de las placas Petri 8.5 cm de diámetro previamente esterilizadas a 121 °C a 15 lb de presión por 30 minutos (Figura 2). Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 24 horas, con la finalidad de descartar placas contaminadas al momento de plaquear, una vez transcurrido las 24 horas se procedió a realizar la siembra o repique, para la siembra se utilizó los aislamientos conservados en medio de cultivo contenidos en tubos de ensayo de 20x150 mm, con la ayuda de un estilete se procedió a extraer parte del medio de cultivo con el hongo, si fuera el repique del hongo, se utilizó los aislamientos desarrollados en medio de cultivo contenidas en placas Petri, producto de la siembra, para ello se utilizó un sacabocado de 0.5 cm de diámetro para formar pequeñas rodajas de 0.5 cm de medio de cultivo con el hongo, que fueron extraídas por medio de un estilete, para ambos casos (siembra y repique), el medio de cultivo extraído con el hongo fue sembrado dentro del medio de cultivo plaqueado hace 24 horas dentro de las placas Petri (Figura 2), estas fueron rotuladas con un plumón indeleble de punta delgada y selladas con parafilm. Una vez realizado la siembra o repique, las placas Petri fueron incubadas a una temperatura de 24 ± 5 °C durante 10 días (tres placas Petri por aislamiento)) esta operación se realizó para obtener el cultivo puro sin contaminante (repique).

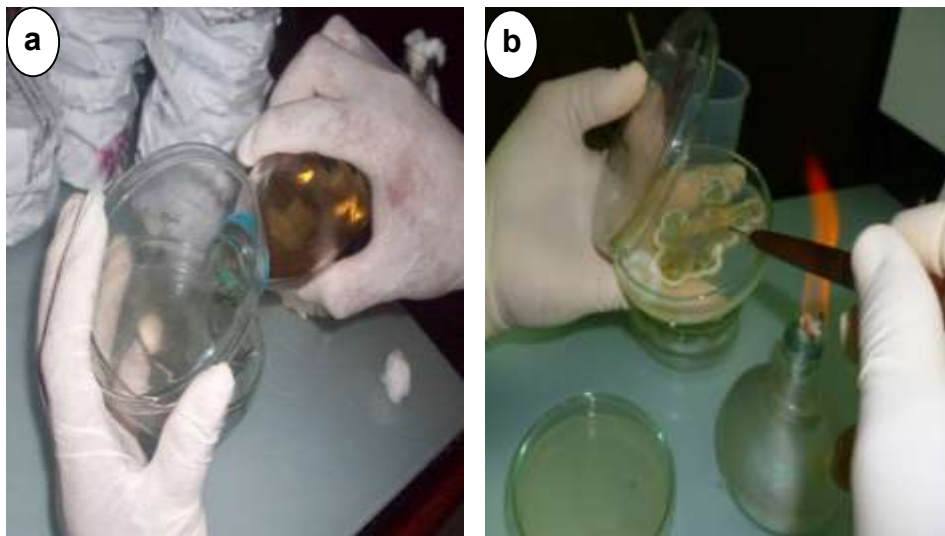


Figura 2. a) Plaqueo de medio de cultivo PDA, y b) repique de *M. anisopliae*

3.4.4 Identificación de los entomopatógenos

Los entomopatógenos fueron identificados haciendo uso de la clave de BARNETT & HUNTER (1999), con la ayuda de un microscopio binocular (Carsei, modelo Promo Star), de acuerdo a sus aspectos morfológicos como son: color de conidia y conidióforo; estructuras presentes del hongo, características de las conidias en medio de cultivo, entre otros.



Figura 3. Observación de la estructura del hongo (40x) mediante montajes en lactofenol de azul de metileno.

3.5 Ritmo promedio de crecimiento micelial de los entomopatógenos en medio de cultivo agar papa dextrosa

3.5.1 Diseño estadístico

3.5.1.1 Componentes en estudio

Los componentes en estudio, fue el estudio de los hongos entomopatógenos, sobre el medio de cultivo PDA y la evaluación del crecimiento de las diferentes especies de hongos entomopatógenos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Componentes en estudio

Entradas (Especímenes)	Unidad Experimental (medio de cultivo)	Salidas (Evaluaciones)
Especies de hongos entomopatógenos	Agar Papa Dextrosa	Área y/o Ritmo Promedio de Crecimiento (cm/día)

3.5.1.2 Tratamientos

Los tratamientos en estudio fueron siete, de los cuales cuatro fueron aislamientos de *B. bassiana*, uno de *Paecilomyces fumososroseus*, uno de *Metarhizium anisopliae* y uno de *Verticillium lecani* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos en estudio

Tratamientos	Entomopatógenos	Repeticiones
T ₁	<i>Beauveria bassiana</i> SENASA CCB-LE2118 ¹	5
T ₂	<i>Metarhizium anisopliae</i> SENASA CCB-LE302 ²	5
T ₃	<i>Paecilomyces fumososroseus</i> SENASA ³	5
T ₄	<i>Beauveria bassiana</i> UNAS ⁴	5

T ₅	<i>Beauveria brongniartii</i> UNAS ⁵	5
T ₆	<i>Beauveria bassiana</i> CCB-LE 265 SENASA ⁶	5
T ₇	<i>Verticillium lecani</i> SENASA ⁷	5

¹ Aislado de *Comopolites sordidus* (gorgojo negro del plátano) del caserío San Luis de Shuaro de la provincia de Chanchamayo en Junín – Perú

² Aislado de Carabidae de Perú

³ Obtenidos de aislamientos de la UNAS-Agronomía

⁴ Aislado en San Miguel

⁵ Aislamiento de *Premnotrypes suturicallus* (gorgojo de los andes)

⁶ Aislado de *Hypothenemus hampei* (broca del café), de la provincia de Sania en Puno - Perú.

⁷ Obtenidos del SENASA

3.5.1.3 Diseño experimental

Se usó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con siete tratamientos (Cuadro 2) y cinco repeticiones (unidades experimentales) (CALZADA, 1982). El esquema del Modelo Aditivo Lineal del DCA, se presenta en la ecuación (1):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij} \dots \dots \dots (1)$$

Dónde:

Y_{ij} : Respuesta observada de la n-ésima observación
ubicada en el tratamiento "i"

μ : Efecto de la media general.

T_i : Efecto de la i - ésimo tratamiento.

ξ_{ij} : Efecto aleatorio del error experimental

Para:

i = 1, 2,... y 7 tratamientos (Entomopatógenos).

j = 1, 2,...y 5 repeticiones (Área).

3.5.1.4 Disposición del experimento

El experimento se dispuso de acuerdo al DCA (Figura 4)

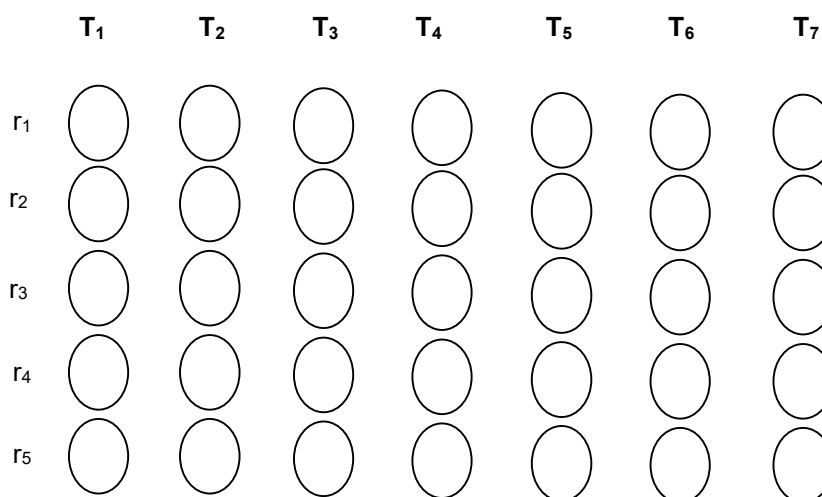


Figura 4. Ensayo de crecimiento micelial con siete medios de cultivo diferente

3.5.1.5 Análisis estadístico

Se realizó el Análisis de Variancia (ANVA) ($F. tab. = 0.05$) (Cuadro 3) y se determinó el coeficiente de variabilidad de los ensayos, ecuación (2). Además, se halló las diferencias de medias con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 4) (CALZADA, 1982), para esto se utilizó el software Microsoft Office Excel 2010 versión en español.

Cuadro 3. Modelo del Análisis de Variancia ($F. tab. = 0.05$)

F.V	G.L.	S.C.	C.M.	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	t-1	SCtra	SCtra/gl _{tra} = CM _{tra}	CMtra/CM _e	$F_{\alpha}(gl_{tra}, gl_{ee})$
Error experimental	r(t-1)	SC _{ee}	SC _{ee} /gl _{ee} = CM _{ee}		
Total	tr-1	SC _{total}			

t: tratamiento y r: repetición (unidades experimentales)

$$CV = \sqrt{CMe} / (Y..) * 100 \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

CV = Coeficiente de variabilidad

CMe = Cuadrado medio del error

Y.. = Promedio total de los tratamientos

Cuadro 4. Prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) de los promedios de los tratamientos.

Tratamientos	Entomopatógenos	Promedios	Significancia
T ₁	<i>B. bassiana</i> SENASA CCB-LE2118		
T ₂	<i>M. anisopliae</i> SENASA CCB-LE302		
T ₃	<i>P. fumososroseus</i>		
T ₄	<i>B. bassiana</i> UNAS		
T ₅	<i>B. brongniartii</i>		
T ₆	<i>B. bassiana</i> CCB-LE 265 SENASA		
T ₇	<i>Verticillium lecani</i>		

3.5.2 Prueba del Crecimiento Micelial.

Se realizó la prueba de crecimiento micelial con la finalidad de estudiar el desarrollo de los diferentes hongos entomopatógenos en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA).

3.5.2.1 Preparación de medios de cultivo.

Se preparó el medio de cultivo PDA, de acuerdo a lo descrito en el numeral 3.4.2 “Preparación de medio de cultivo”, del subtítulo 3.4 “Multiplicación

de los hongos entomopatógenos”, del capítulo III (MATERIALES Y MÉTODOS).

3.5.2.2 Plaqueo de los medios de cultivo

Los medios de cultivos fueron llevados al microondas por cinco minutos para ser disueltos y se dejó enfriar hasta 40 – 45 °C de temperatura. Para el plaqueo se utilizó placas petri esterilizadas de 20 x 100 mm.

3.5.2.3 Siembra del patógeno

Para la prueba, se utilizó el cultivo purificado del patógeno, se usó un sacabocado de 0.5 cm de diámetro, que permitió extraer rodajas del cultivo, con la ayuda de un estilete fueron sembrados en el centro de la placa conteniendo el medio de cultivo (Figura 1), seguidamente fueron selladas las placas con parafilm y rotuladas con plumón indeleble y luego se llevó a la incubadora a 24 °C. Cada día se procedió a evaluar mediante la medición del área de crecimiento del hongo, con la ayuda de una mica transparente de tamaño A4, con cuadrículas de 0.25 cm de lado, equivalente a 0.0625 cm². Para esto las placas petri que contengan los medios de cultivos (repeticiones de cada tratamiento respectivamente) donde se desarrolló el hongo, fueron colocadas al reverso, sobre la cual se colocó la mica y se realizó el conteo de las cuadrículas en donde se observó el crecimiento del hongo.

Terminado el conteo de las cuadrículas, se multiplicó el número total de cuadrículas contadas por el área de la cuadrícula (0.0625 cm²), obteniendo el área total ecuación (3), luego se usó la ecuación de la

circunferencia ecuación (4) y se determinó el radio promedio de crecimiento del hongo, seguidamente con la ecuación del Ritmo Promedio de Crecimiento (RPC) ecuación (5) se calculó el RPC de cada tratamiento.

$$A_T = NTC \cdot A_c \dots \dots \dots (3)$$

Donde:

A_T = Area total (cm²)

NTC = Número total de cuadrículas evaluadas

A_c = Área de la cuadrícula (0.0625 cm²)

$$A_{\odot} = \pi \cdot r^2 \dots \dots \dots (4)$$

Donde:

A_{\odot} = Área de la circunferencia

π = Pi cuyo valor es 3.141596

r = Radio

$$RPC = IT / TT \dots \dots \dots (5)$$

Donde:

RPC = Ritmo promedio de crecimiento (cm/día)

IT = Incremento total (cm) o radio promedio de crecimiento (cm)

TT = Tiempo total (días)

3.6 Ensayo de patogenicidad sobre la hormiga “coqui” *Atta cephalotes*

3.6.1 Diseño estadístico

3.6.1.1 Componente en estudio

Los componentes en estudio, fue el estudio de los hongos entomopatógenos, sobre la plaga *Atta cephalotes* (hormigas coqui) y la evaluación de la patogenicidad de los entomopatógenos sobre *A. cephalotes* (hormiga coqui) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Componentes en estudio

Entradas (Especímenes)	Unidad Experimental (plaga)	Salidas (Evaluaciones)
Cuatro especies de hongos entomopatógenos	<i>Atta cephalotes</i> L.	Patogenicidad de los entomopatógenos sobre la mortalidad de <i>Atta cephalotes</i>

3.6.1.2 Tratamientos

Los tratamientos fueron ocho, siendo cuatro tratamientos que se sobre la plaga, los hongos de *B. bassiana*, uno de *Paecilomyces fumososroseus*, uno de *Metarhizium anisopliae*, uno de *Verticillium lecani* y un tratamiento no se le aplicó ningún hongo entomopatógeno (tratamiento testigo) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tratamientos en estudio

Medios de cultivo	Repeticiones	Especímenes (Repetición)
T ₁ <i>B. bassiana</i> SENASA CCB-LE2118 ¹	5	10
T ₂ <i>M. anisopliae</i> SENASA CCB-LE302 ²	5	10
T ₃ <i>P. fumososroseus</i> SENASA ³	5	10
T ₄ <i>B. bassiana</i> UNAS ⁴	5	10
T ₅ <i>B. brongniartii</i> ⁵	5	10
T ₆ <i>B. bassiana</i> CCB-LE 265 SENASA ⁶	5	10
T ₇ <i>V. lecani</i> SENASA ⁷	5	10
T ₈ Testigo	5	10

¹ Aislado de *Comopolites sordidus* (gorgojo negro del plátano) del caserío San Luis de Shuaro de la provincia de Chanchamayo en Junín – Perú

² Aislado de Carabidae de Perú

³ Obtenidos de aislamientos de la UNAS-Agronomía

⁴ Aislado en San Miguel

⁵ Aislamiento de *Premnotrypes suturicallus* (gorgojo de los andes)

⁶ Aislado de *Hypothenemus hampei* (broca del café), de la provincia de Sania en Puno - Perú.

⁷ Obtenidos del SENASA

3.6.1.3 Diseño experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con ocho tratamientos, incluyendo al tratamiento testigo (T1) (Cuadro 6), con cinco repeticiones (diez unidades experimentales cada repetición) (CALZADA, 1982).

El Modelo Aditivo Lineal del DCA se representa en la siguiente ecuación (6):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij} \dots \dots \dots (6)$$

Dónde:

Y_{ij} : Respuesta observada de la n-esima observación ubicada en el tratamiento "i"

μ : Efecto de la media general.

T_i : Efecto de la i - ésimo tratamiento.

ξ_{ij} : Efecto aleatorio del error experimental

Para:

i = 1, 2,... y 8 tratamientos (Patogenicidad de los hongos).

j = 1, 2,...y 5 repeticiones (Evaluaciones sobre la plaga).

3.6.1.4 Croquis del ensayo de patogenicidad

Se utilizó diez ejemplares por repetición, dando 50 especímenes por tratamiento, un total de 400 especímenes en todo el experimento (Figura 5).

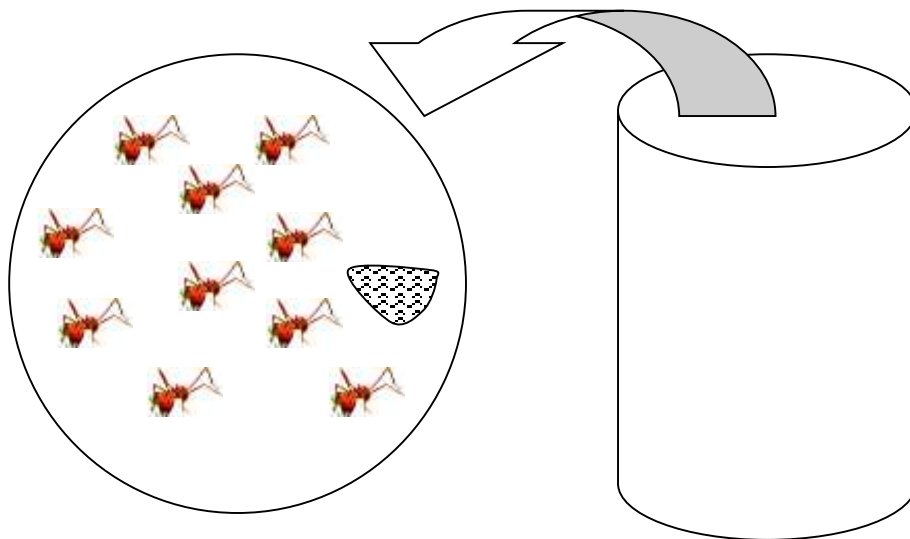


Figura 5. Esquema de la repetición (10 *Atta cephalotes*) de cada tratamiento

T _{8r1}	T _{4r2}	T _{5r4}	T _{3r1}	T _{6r3}	T _{2r5}	T _{7r5}	T _{1r2}
T _{3r2}	T _{5r3}	T _{7r1}	T _{1r3}	T _{2r2}	T _{6r2}	T _{4r3}	T _{8r4}
T _{1r5}	T _{2r3}	T _{4r4}	T _{8r2}	T _{7r4}	T _{5r1}	T _{5r5}	T _{6r5}
T _{4r1}	T _{3r5}	T _{8r5}	T _{6r4}	T _{1r1}	T _{2r1}	T _{7r3}	T _{3r3}
T _{2r4}	T _{1r4}	T _{6r1}	T _{4r5}	T _{5r2}	T _{8r3}	T _{3r4}	T _{7r2}

Figura 6. Disposición de los tratamientos

3.6.2 Transformación de Datos estadísticos

De acuerdo a REYES (2010), se realizó la transformación de los datos estadísticos, ecuación (7):

$$\sqrt{(X+1)} \dots \dots \dots (7)$$

Donde:

X=Dato original

3.6.2.1 Análisis estadístico

Se realizó Análisis de Variancia (F. tab. = 0.05) (Cuadro 7) y se determinó el coeficiente de variabilidad de los ensayos, ecuación (8). Además, se halló las diferencias de medias con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 8) (CALZADA, 1982), para esto se utilizó el software Microsoft Office Excel 2010 versión en español.

Cuadro 7. Modelo del Análisis de Variancia

F.V	G.L.	S.C.	C.M.	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	t-1	SCtra	SCtra/gl _{tra} = CMtra	CMtra/CMee	F _α (gl _{tra} ,gl _{ee})
Error Experimental	t(r-1)	SCee	SCee/gl _{ee} = CMee	Cmee/Cmem	F _α (gl _{ee} ,gl _{em})
Total	tr-1	SCtotal			

t: tratamiento y r: repetición (unidades experimentales)

$$CV = \sqrt{CMe} / (Y_{..}) * 100 \dots\dots\dots(8)$$

Donde:

CV = Coeficiente de variabilidad

CMe = Cuadrado medio del error

Y.._{..} = Promedio total de los tratamientos

Cuadro 8. Prueba de Tukey (α = 0.05) de los promedios de los tratamientos.

Tratamientos	Entomopatógenos	Promedios	Significancia
T ₁	<i>B. bassiana</i> SENASA CCB-LE2118		
T ₂	<i>M. anisopliae</i> SENASA CCB-LE302		
T ₃	<i>P. fumososroseus</i>		
T ₄	<i>B. bassiana</i> UNAS		
T ₅	<i>B. brongniartii</i>		
T ₆	<i>B. bassiana</i> CCB-LE 265 SENASA		
T ₇	<i>Verticillium lecani</i>		
T ₈	Testigo		

3.6.3 Procedimiento

3.6.3.1 Esterilización del sustrato de arroz

Para la multiplicación en sustrato artificial se usó arroz (CARBALLO, 1998), se pesó 20 g de arroz (Figura 7) en una bolsa de polipropileno de 6x10, se adicionó 4 ml de agua destilada, luego se selló la bolsa, seguidamente se esterilizó a 121 °C y 15 lb de presión por 15 minutos (GOMEZ, 1998; TORRES, *et al.*, 1993).

3.6.3.2 Siembra de los entomopatógenos en el sustrato de arroz

Las bolsas se dejaron enfriar dentro de la cámara de flujo laminar previamente desinfectada. Luego se llevó a la cámara de flujo laminar los cultivos puros de cada aislamiento en estudio desarrollados en placas Petri con medio PDA, para mantener la asepsia se encendió un mechero de alcohol. Posteriormente se procedió a la inoculación de cada aislamiento en el sustrato de arroz esterilizado, se utilizó un sacabocado para obtener tres rodajas de PDA de cada aislamiento, seguidamente se abrió las bolsas y con un estilete estéril se inoculó las tres rodajas sobre el sustrato de arroz esterilizado (Figura 7). Se inocularon 21 bolsas (tres bolsas por aislamiento).

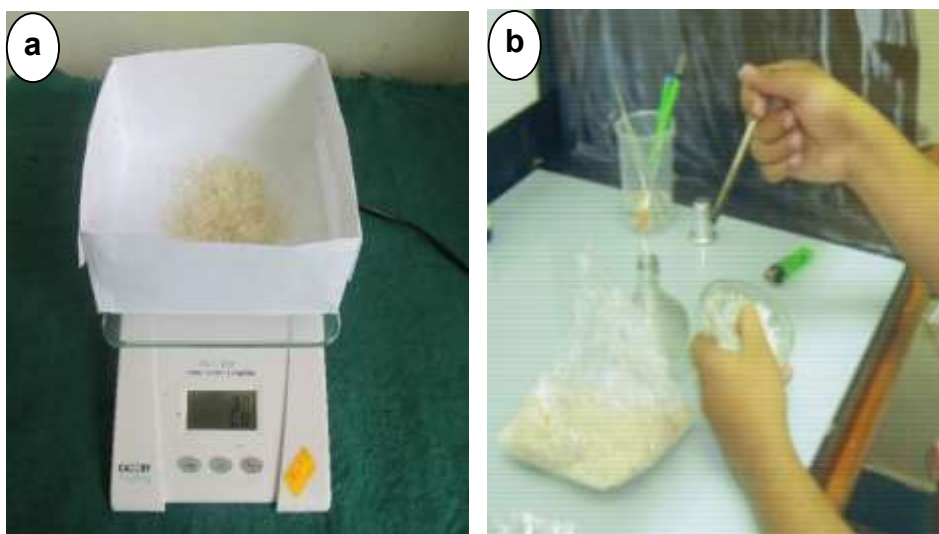


Figura 7. a) Pesando 20 g de arroz y b) Siembra del hongo en el sustrato de arroz

3.6.3.3 Incubación

Las bolsas inoculadas fueron homogenizadas, mediante el movimiento balanceado de un lado a otro de las bolsas, con la finalidad que las rodajas del hongo esparzan sus conidias en todo el sustrato, se anotó la fecha y fueron llevadas a la sala de incubación, que consistió en un ambiente completamente aséptico y con una temperatura ambiente, que permitió el desarrollo del hongo durante 10 días, cada día se procedió diariamente a homogenizar las bolsas (Figura 8).

3.6.3.4 Colección de la plaga

Para obtener adultos de *Atta cephalotes* (hormiga coqui) se ubicó un nido dentro de la provincia de Leoncio Prado - Tingo María, en el cual se excavó con la ayuda de una pala recta, alarmando a las hormigas y posteriormente se colectó en un recipiente plástico (Figura 8).



Figura 8. a) Incubación y b) Colección de la plaga

3.6.3.5 Determinación de la concentración de los tratamientos

– Conteo de conidias.

La concentración del inóculo se determinó con el hemocitómetro de Neubauer (Marienfeld) (Figura 9). Se tomó 10 g de muestras de tres bolsas por tratamiento, cada muestra se depositó en vasos precipitados de vidrio, enrazados a 100 ml de agua destilada con dos gotas de Tween 80 al 0.1 %, seguidamente se agitó con una vaqueta de vidrio por un minuto, obteniendo una suspensión original, de la cual se extrajo con una pipeta una alícuota de 0.25 ml de la suspensión original y se depositó dentro del hemocitómetro de Neubauer, de tal manera que el líquido ingresó por capilaridad sin que entre burbujas en la cámara (FRENCH, 1982; GONZALEZ, 1993; JIMENEZ, 1992; VELEZ, 1997). Luego la cámara de neubauer fue depositada dentro del microscopio (Zeiss, modelo Primo Star), con cámara incorpora (cámara AxioCam ERc 5s), conectado a una laptop (hp modelo HP G42 372IA). Finalmente con un

contómetro se realizó el conteo de cada aislamiento, tres repeticiones por aislamiento, para luego obtener concentraciones (suspensiones) de conidias por mililitro. La cámara de Neubauer tiene la forma de una lámina porta objeto con rieles en forma de H en la parte superior e inferior del riel central. Cada cámara está dividido en 9 cuadros primarios (CP). Cada CP está dividido a su vez en 16 cuadros secundarios (CS). El cuadrado primario central (CPC) está dividido en 25 CS, estando cada uno de ellos divididos a su vez en 16 cuadros terciarios (CT). Para el conteo de conidias se utilizó el cuadro principal central (CPC), ecuación (9).

$$\text{CUADRO SECUNDARIO CENTRAL (CSC)} = 1 + 2 + 3 + 4 + 5 = S \dots \dots (9)$$

$$\Rightarrow S * 50\ 000 = \text{Número total de conidias (ufc / ml)}$$

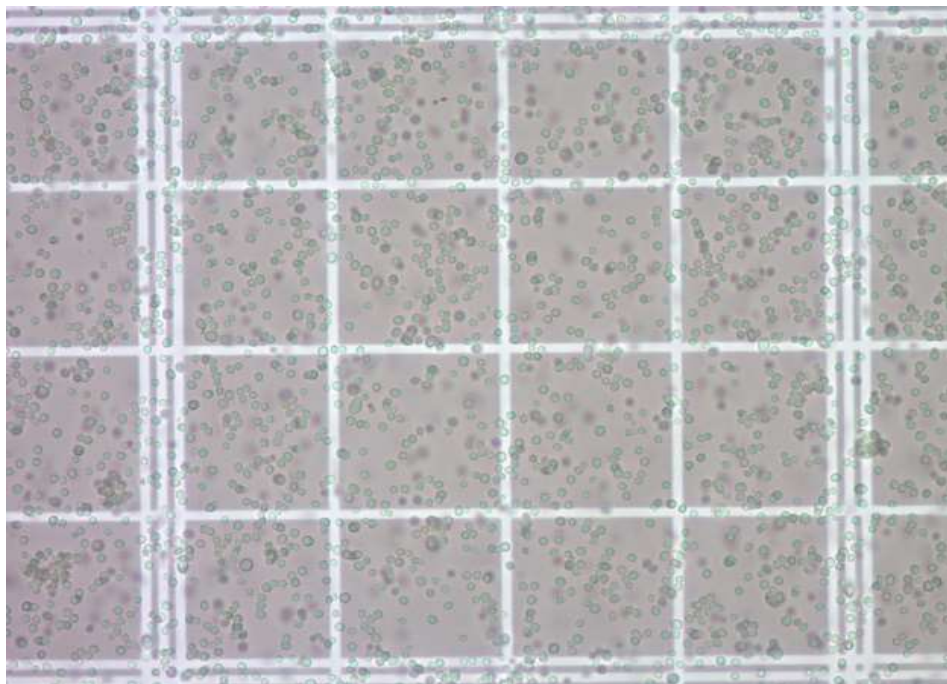


Figura 9. Determinación de la concentración de los tratamientos: Imagen digital de los campos de la cámara de Neubauer.

– Homogeneización

Las concentraciones de los tratamientos (suspensión) se ajustó a la concentración más baja de conidias/ml, usando la ecuación (10).

$$C_1V_1 = C_2V_2 \dots \dots \dots (10)$$

Dónde:

C_1 = Concentración más baja

C_2 = Concentración superior a C_1

V_1 = Volumen del tratamiento C_1

V_2 = Volumen final del tratamiento con C_2

3.6.3.6 Preparación para la prueba

Se utilizó 400 adultos (obreras) de la hormiga “coqui” (*Atta cephalotes*), para evitar demoras en el experimento por pérdida de algún espécimen se recolectó 520 (30 % más de lo que se requiere). Dentro un taper de plástico cuadrado de 20 L se acondicionó los Formicidae, seguidamente se desinfectó por aspersión una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 % durante cinco minutos, transcurrido el tiempo se procedió a lavar los ejemplares con agua destilada estéril usando cernidor y toallas. De estos insectos se seleccionó aquellos que presentaron mayor actividad (400 especímenes).

3.6.3.7 Aplicación de los entomopatógenos

Se asperjó con la suspensión de conidias de cada aislamiento, 10 ejemplares por repetición, con un total de 50 ejemplares por cada tratamiento

(por cada aislamiento del hongo) (Cuadro 6), durante un minuto (Figura 10). Siguiendo lo manifestado por FLORES (1997), que la aspersión debe proporcionar un óptimo cubrimiento de la plaga. Los especímenes del testigo no tuvieron ninguna aspersión con el hongo, pero fueron tratados con agua destilada estéril durante un minuto.

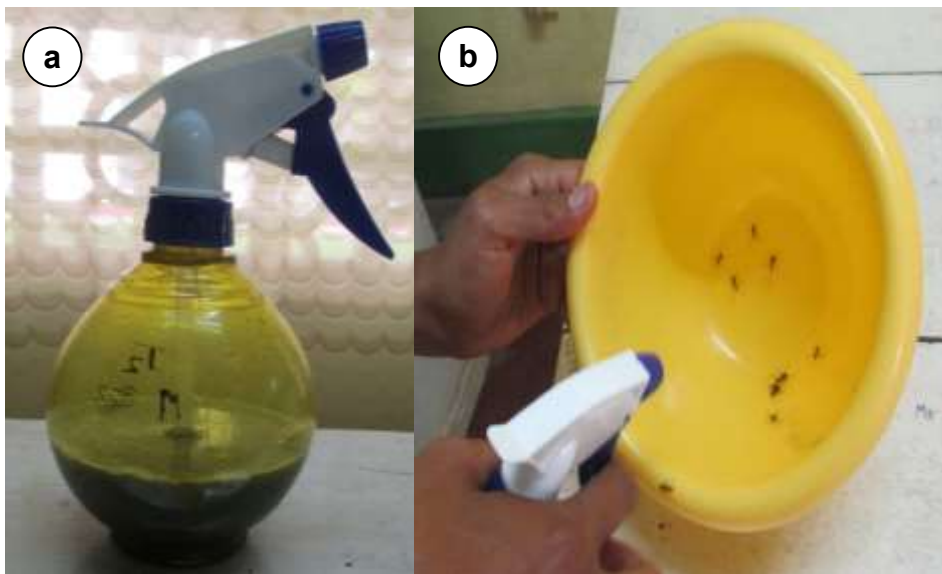


Figura 10. Aplicación de los entomopatógenos: a) Suspensión de conidias de *Metarhizium anisopliae*, b) Aplicación del entomopatógeno

Luego se acondicionó los ejemplares de las hormigas coqui dentro envases de plásticos de polietileno descartables de 7x30x18 (tapers reposteros M&R Plastipak s.a. de 3 L por unidad), que contenía un papel filtro estéril y un algodón estéril humedecido con agua destilada estéril y en cuyo interior se adicionó hojas del cultivo de cítrico previamente cortados y desinfectados con hipoclorito de sodio 0.5 % y con rayos ultravioletas. Finalmente se realizó agujeros en la tapa del tapers, para que exista circulación de aire, se rotuló y se taparon los envases de plástico (Figura 11).



Figura 11. Acondicionamiento de las hormigas coquí después de la aplicación con registro diario de temperatura y humedad.

3.6.4 Evaluación

Durante 25 días se evaluó la mortalidad y el cubrimiento del micelio del hongo, en forma visual, con la ayuda de un microscopio estereoscopico (Zeiss, modelo Primo Star), conectado a una laptop (Toshiba Satellite) (Figura 12).

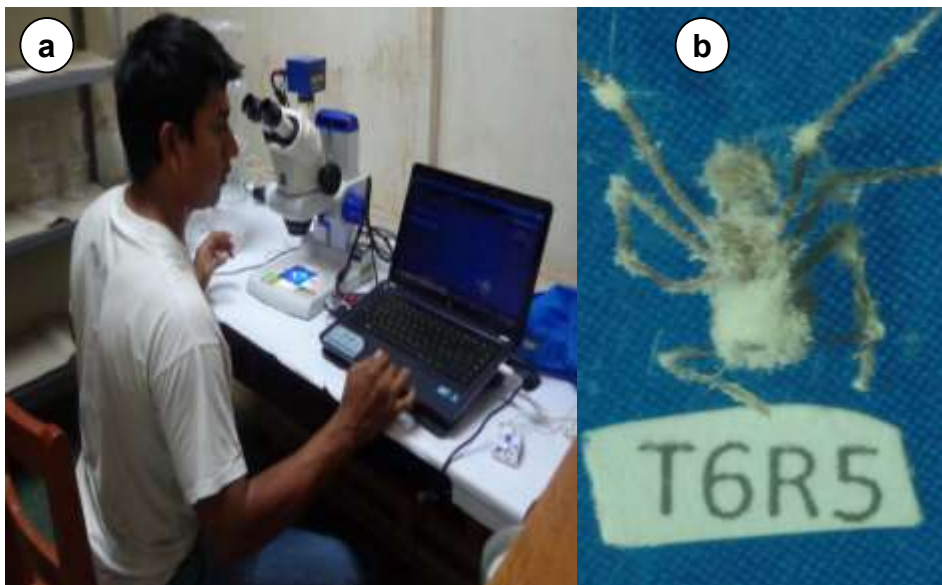


Figura 12. a) Verificación del cubrimiento micelial del hongo sobre la hormiga coqui b) Cubrimiento micelial del T₆ y primera repetición (r₅).

Específicamente se observó en el microscopio estereoscopio, los síntomas y signos del entomopatógeno en *Atta cephalotes*. Y se registró los siguientes parámetros:

- Porcentaje de Mortalidad de *Atta cephalotes*.
- Etapa de inoculación a muerte de *Atta cephalotes* en días.
- Porcentaje de *Atta cephalotes* con cubrimiento de micelio.
- Inicio del cubrimiento del micelio en días.
- Etapa de muerte a cubrimiento micelial en días.
- Líneas de tendencia de cada tratamiento.

IV. RESULTADOS

4.1. Evaluación del crecimiento micelial y conteo de conidias desarrollado en arroz.

4.1.1. Evaluación del crecimiento micelial

4.1.1.1. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).

Con los resultados obtenidos se procedió a realizar el ANVA ($\alpha = 0.05$) para el crecimiento micelial de los entomopatógenos en medio de cultivo PDA, se encontró diferencias estadísticas significativas en todas las evaluaciones excepto en la primera evaluación y con un coeficiente de variabilidad menor del 3 % (Cuadro 9).

4.1.1.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias significativas en el ANVA del crecimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 10).

4.1.1.3. Tasa de crecimiento micelial de los entomopatógenos

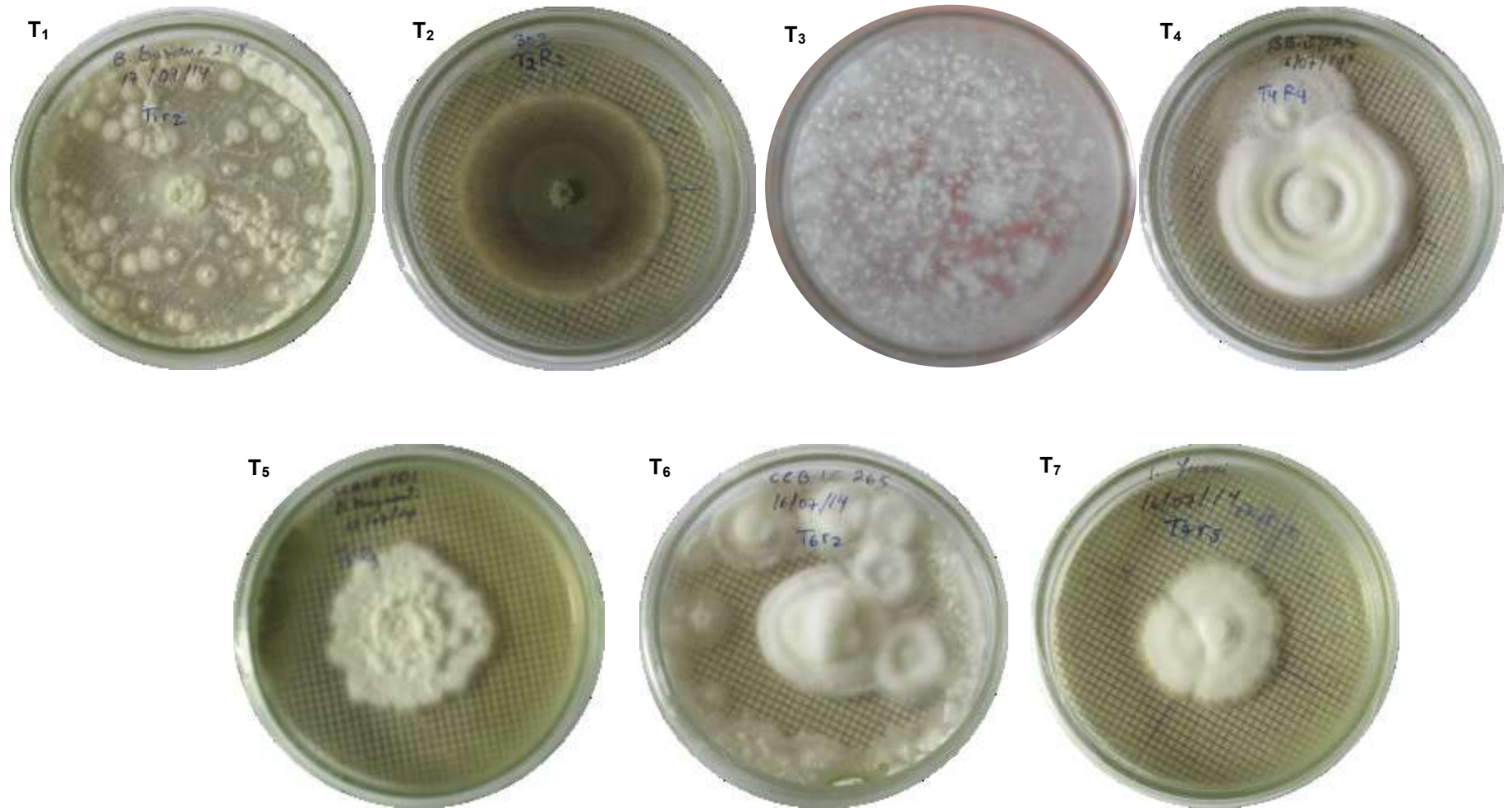
Además, se realizó la ecuación lineal que expresa el comportamiento del crecimiento micelial de los entomopatógenos en medio de cultivo PDA, con un coeficiente de regresión lineal para todos cercanos a la unidad (Figura 14).

Cuadro 9. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la evaluación del crecimiento micelial.

Fuente de varianza	G.L.	C.M.						F.Tab.
		3 días	6 días	9 días	12 días	15 días	18 días	
Tratamiento	6	0.00139 Ns	0.00401 *	0.00713 *	0.00619 *	0.00434 *	0.00276 *	2.44
Error Experimental	28	0.00091	0.00107	0.00080	0.00046	0.00030	0.00019	
Total	34							
C.V. (%): 2.76		2.96	2.55	1.95	1.59	1.27		

Cuadro 10. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la evaluación del crecimiento micelial.

Tratamientos		3 días		6 días		9 días		12 días		15 días		18 días	
Nº	Descripción	RPC	Sign	RPC	Sign	RPC	Sign	RPC	Sign	RPC	Sign	RPC	Sign
T ₁	BB-2118	1.085	a	1.140	abcdefg	1.16	abcdefg	1.154	abcdefg	1.138	abcdefg	1.123	abcdefg
T ₂	MA-302	1.107	a	1.080	abcdefg	1.08	abcdefg	1.076	abcdefg	1.077	abcdefg	1.078	abcdefg
T ₃	PF-SENASA	1.082	a	1.070	abcdefg	1.07	abcdefg	1.069	abcdefg	1.065	abcdefg	1.063	abcdefg
T ₄	BB-UNAS	1.088	a	1.120	abcdefg	1.12	abcdefg	1.115	abcdefg	1.107	abcdefg	1.099	abcdefg
T ₅	BBr	1.079	a	1.070	abcdefg	1.08	abcdefg	1.075	abcdefg	1.068	abcdefg	1.066	abcdefg
T ₆	BB-265	1.087	a	1.123	abcdefg	1.15	abcdefg	1.140	abcdefg	1.123	abcdefg	1.107	abcdefg
T ₇	VL-SENASA	1.125	a	1.110	abcdefg	1.09	abcdefg	1.079	abcdefg	1.071	abcdefg	1.068	abcdefg



T₁ *B. bassiana* (BB-2118)
T₅ *B. brongniartii* BBr

T₂ *M. anisopliae* (MA-302)
T₆ *B. bassiana* (BB-265)

T₃ *P. fumosoroseus* (PF-SENASA) T₄ *B. bassiana* (BB-UNAS)
T₇ *Verticillium lecanii* (VL-SENASA)

Figura 13. Crecimiento micelial de los hongos *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* y *V. lecanii*.

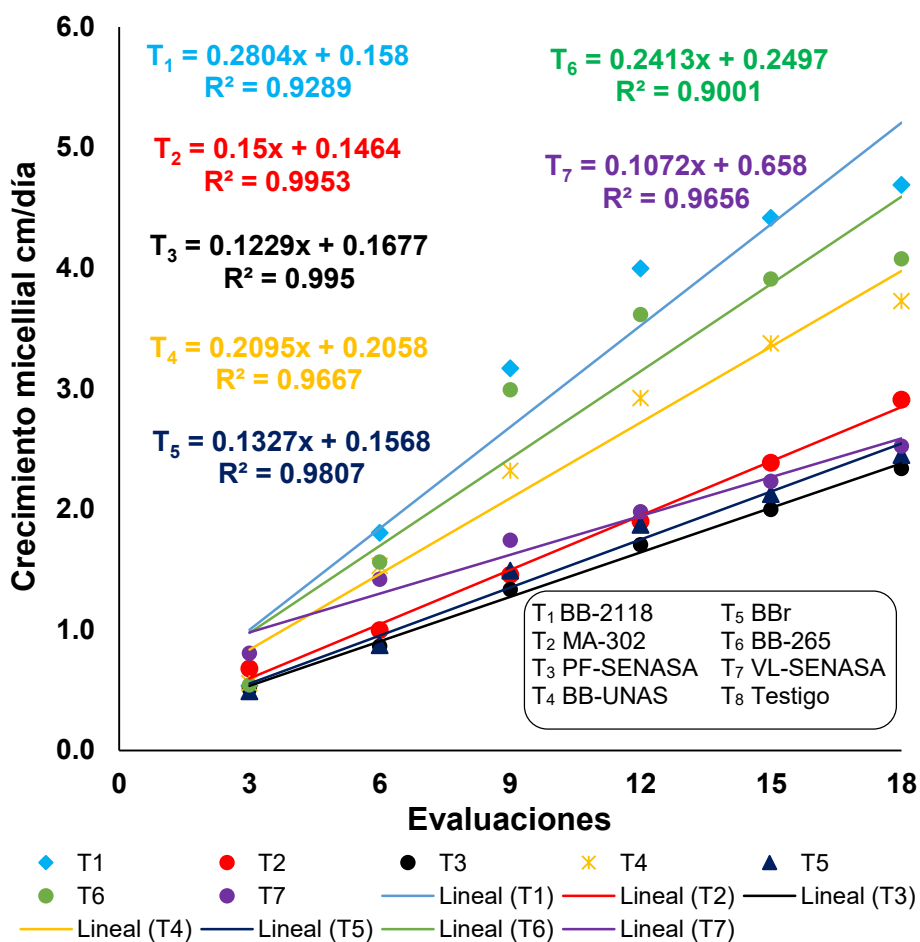


Figura 14. Ecuación lineal del crecimiento de los hongos entomopatógenos en estudio en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa

4.1.2. Evaluación de la concentración de conidias de los entomopatógenos por gramo de sustrato.

De acuerdo a los resultados obtenidos (Cuadro 11), se determinó que la mínima concentración (conidias/ml) par homogenizar el resto de los tratamientos de acuerdo a la ecuación (9) fue de 1.58×10^8 conidias/ml o 1.58×10^{10} conidias/g de sustrato de arroz, del tratamiento T₇ (VL-SENASA), cuando se realizó el análisis por cada uno de los tratamientos, se encontró que

la mayor concentración (conidias/g) lo obtuvo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 5.84×10^{10} conidias/g (Cuadro 12)

4.1.2.1. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).

Con los resultados obtenidos se procedió a realizar el ANVA ($\alpha = 0.05$) para la concentración de conidias de los entomopatógenos desarrollados en sustrato de arroz, se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad menor del 7.16 % (Cuadro 13).

Cuadro 11. Concentración promedio de conidias de los entomopatógenos y determinación el volumen de agua

Tratamientos	Descripción	Cuento				X	Concentración			Volumen de agua		
		C	1 ^{ero}	2 ^{do}	3 ^{ero}		Conidias/ml	S.O.	Conidias/g	VASI	VASF	VAA
T ₁	BB-2118	A	6240	4960	5680	5440.0	2.72x10 ⁸	100	2.72 x10 ¹⁰	99.9	172.16	72.26
		B	5520	4720	5520							
T ₂	MA-302	A	8240	9360	9200	9426.7	4.71 x10 ⁸	100	4.71 x10 ¹⁰	99.9	298.33	198.43
		B	10320	8960	10480							
T ₃	PF-SENASA	A	5360	6080	6320	6040.0	3.02 x10 ⁸	100	3.02E x10 ¹⁰	99.9	191.15	91.25
		B	5840	6160	6480							
T ₄	BB-UNAS	A	12960	11520	14080	11666.7	5.83 x10 ⁸	100	5.83 x10 ¹⁰	99.9	369.22	269.32
		B	10240	9600	11600							
T ₅	BBr	A	6560	6640	6720	7520.0	3.76 x10 ⁸	100	3.76 x10 ¹⁰	99.9	237.99	138.09
		B	7840	9440	7920							
T ₆	BB-265	A	4400	4240	5280	4893.3	2.45 x10 ⁸	100	2.45 x10 ¹⁰	99.9	154.86	54.96
		B	4640	5680	5120							
T ₇	VL-SENASA	A	2640	2960	3520	3156.7	1.58 x10 ⁸	100	1.58 x10 ¹⁰	99.9	99.90	0.00
		B	3340	3600	2880							

C: Campos de la cámara de neubauer

A: Campo A de la cámara de neubauer

B: Campo B de la cámara de neubauer

X: Promedio

SO: Suspensión Original

C/ml: Conidias por mililitro

C/g . Conidias por gramo

VASI: Volumen de agua de la suspensión inicial

VASF: Volumen de agua de la suspensión final

VAA: Volumen de agua adicionar

Cuadro 12. Concentración de conidias de los entomopatógenos por cada lectura realizada en la cámara de neubauer

Tratamientos	Descripción	C	Conteo			Promedio			Concentración conidias/ml			S.O.	Concentración conidias/g		
			1 ^{ero}	2 ^{do}	3 ^{ero}	1 ^{ero}	2 ^{do}	3 ^{ero}	1 ^{ero}	2 ^{do}	3 ^{ero}		1 ^{ero}	2 ^{do}	3 ^{ero}
T ₁	BB-2118	A	6240	4960	5680	5880.0	4840.0	5600.0	2.94x10 ⁸	2.42x10 ⁸	2.80x10 ⁸	100	2.94x10 ¹⁰	2.42x10 ¹⁰	2.80x10 ¹⁰
		B	5520	4720	5520										
T ₂	MA-302	A	8240	9360	9200	9426.7	9160.0	9840.0	4.71x10 ⁸	4.58x10 ⁸	4.92x10 ⁸	100	4.71x10 ¹⁰	4.58x10 ¹⁰	4.92x10 ¹⁰
		B	10320	8960	10480										
T ₃	PF-SENASA	A	5360	6080	6320	6040.0	6120.0	6400.0	3.02x10 ⁸	3.06x10 ⁸	3.20x10 ⁸	100	3.02x10 ¹⁰	3.06x10 ¹⁰	3.20x10 ¹⁰
		B	5840	6160	6480										
T ₄	BB-UNAS	A	12960	11520	14080	11666.7	10560.0	12840.0	5.83x10 ⁸	5.28x10 ⁸	6.42x10 ⁸	100	5.83x10 ¹⁰	5.28x10 ¹⁰	6.42x10 ¹⁰
		B	10240	9600	11600										
T ₅	BBr	A	6560	6640	6720	7520.0	8040.0	7320.0	3.76x10 ⁸	4.02x10 ⁸	3.66x10 ⁸	100	3.76x10 ¹⁰	4.02x10 ¹⁰	3.66x10 ¹⁰
		B	7840	9440	7920										
T ₆	BB-265	A	4400	4240	5280	4893.3	4960.0	5200.0	2.45x10 ⁸	2.48x10 ⁸	2.60x10 ⁸	100	2.45x10 ¹⁰	2.48x10 ¹⁰	2.60x10 ¹⁰
		B	4640	5680	5120										
T ₇	VL-SENASA	A	2640	2960	3520	3156.7	3280.0	3200.0	1.58x10 ⁸	1.64x10 ⁸	1.60x10 ⁸	100	1.58x10 ¹⁰	1.64x10 ¹⁰	1.60x10 ¹⁰
		B	3340	3600	2880										

C: Campos de la cámara de neubauer
A: Campo A de la cámara de neubauer
B: Campo B de la cámara de neubauer
X: Promedio
SO: Suspensión Original
C/ml: Conidias por mililitro
C/g . Conidias por gramo

Cuadro 13. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la concentración de conidias

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	3.74×10^{21}	6.23×10^{20}	91.33	2.44
Error Experimental	14	9.55×10^{19}	6.82×10^{18}		
Total	20				
CV (%)	7.16				

4.1.2.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias significativas en el ANVA, concentración de conidias de los entomopatógenos desarrollados en sustrato de arroz, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 14 y Figura 15).

Cuadro 14. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la concentración de conidias

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₄	BB-UNAS	5.84×10^{10}	abcdef
T ₂	MA-302	4.74×10^{10}	abcdef
T ₅	BBr	3.81×10^{10}	abcdef
T ₃	PF-SENASA	3.09×10^{10}	abcdef
T ₁	BB-2118	2.72×10^{10}	abcdef
T ₆	BB-265	2.51×10^{10}	abcdef
T ₇	VL-SENASA	1.61×10^{10}	abcdef

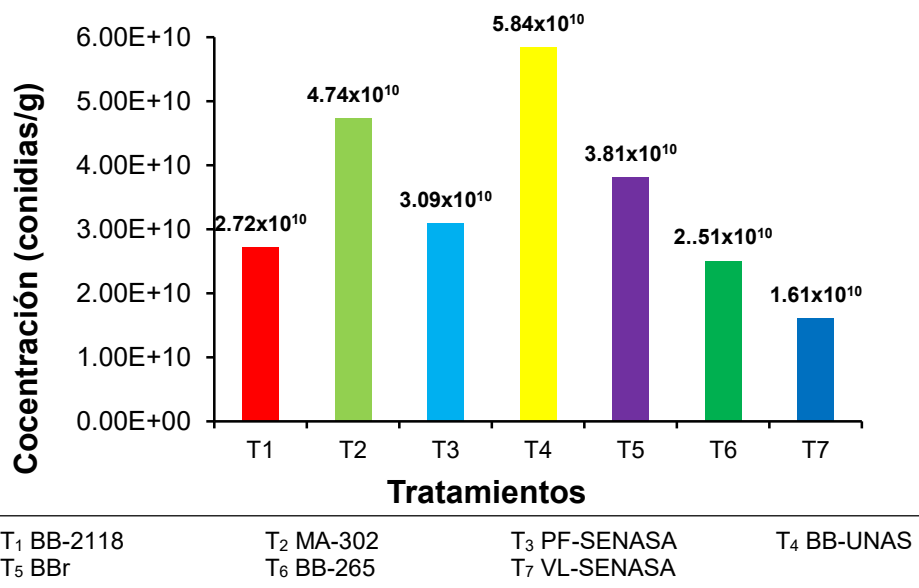


Figura 15. Concentración de conidias de la hormiga coqui.

4.2. Patogenicidad de los entomopatógenos sobre la hormiga coqui.

4.2.1. Mortalidad de la hormiga coqui

La mortalidad de la hormiga coqui, en todos los tratamientos que se aplicó el hongo entomopatógeno fue del 100 % (Figura 16), el testigo obtuvo 0 % de mortalidad.

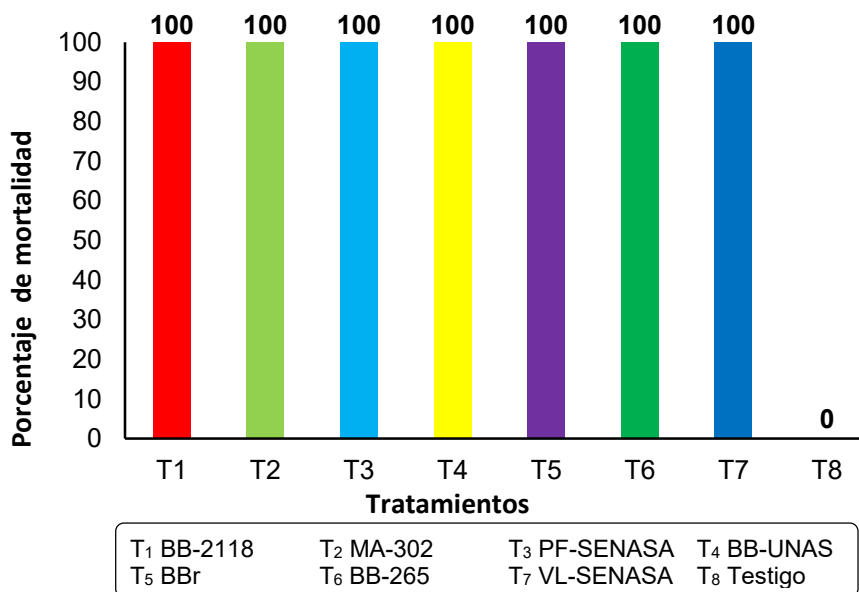


Figura 16. Porcentaje de mortalidad de la hormiga coqui.

4.2.2. Tiempo letal medio (TL50)

De acuerdo a los resultados obtenidos (Figura 17), el tratamiento T4 (BB-UNAS) cepa *Beauveria bassiana* - UNAS, obtuvo el menor TL50 con 29.3 horas, seguido por el tratamiento T5 (BBr.) con un TL50 de 36 horas. Seguido de los tratamientos T3 (PF-SENASA), T2 (MA-302), T1 (BB-2118), T6 (BB-265) y T7 (VL-SENASA), con 37.1, 44.9, 45.5, 46.6 y 46.6 horas respectivamente, siendo estos dos últimos tratamientos los que mayor TL50 obtuvieron.

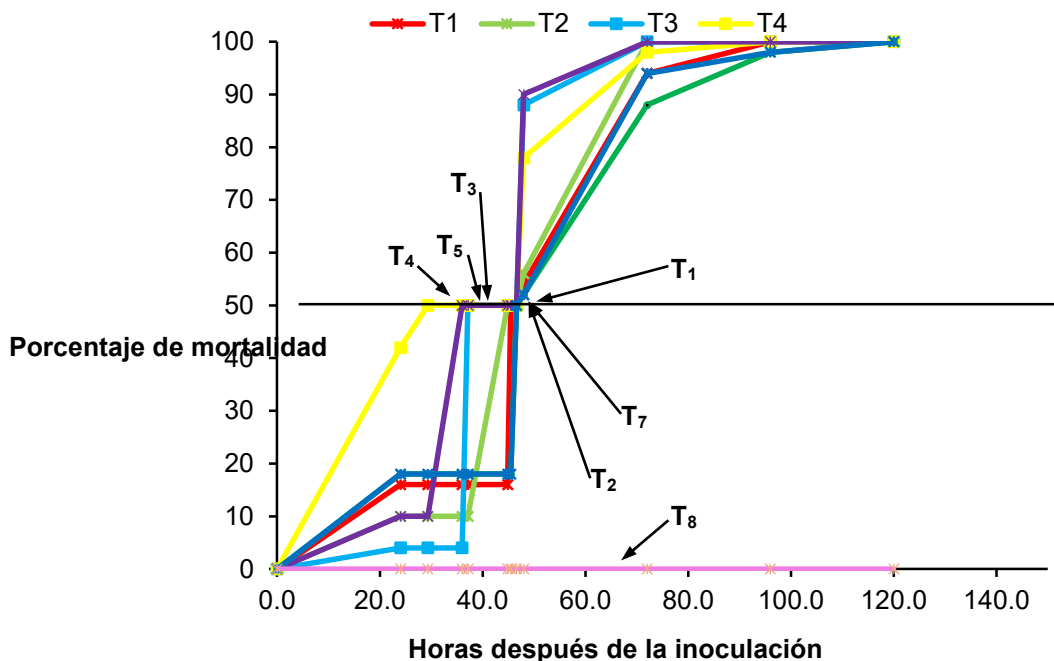


Figura 17. Tiempo letal medio (TL₅₀) de los tratamientos de estudio

4.2.3. Etapa de inoculación a muerte de la hormiga coqui (*Atta cephalotes* L.)

4.2.3.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

El ANVA ($\alpha = 0.05$) de la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*, no se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad fue de 18.83 % (Cuadro 15).

Cuadro 15. Análisis de Variancia ($\alpha=0.05$) de la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*.

Fuente de varianza	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.	
Tratamiento	6	961.76	160.29	ns	1.62	2.44
Error Experimental	28	2776.32	99.15			
Total	34					
CV (%):		18.83				

4.2.3.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al no existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA de la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 16 y Figura 18)

Cuadro 16. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) para la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₄	<i>B. bassiana</i> (BB-UNAS)	43.68	abcd
T ₅	<i>B. brongniartii</i> (BBr)	48.00	abcd
T ₃	<i>P. fumososroseus</i> (PF-SENASA)	49.92	abcd
T ₂	<i>M anisopliae</i> (MA-302)	56.16	abcd
T ₁	<i>B. bassiana</i> (BB-2118)	56.64	abcd
T ₇	<i>V. lecani</i> (VL-SENASA)	57.12	abcd
T ₆	<i>B. bassiana</i> (BB-265)	58.56	abcd

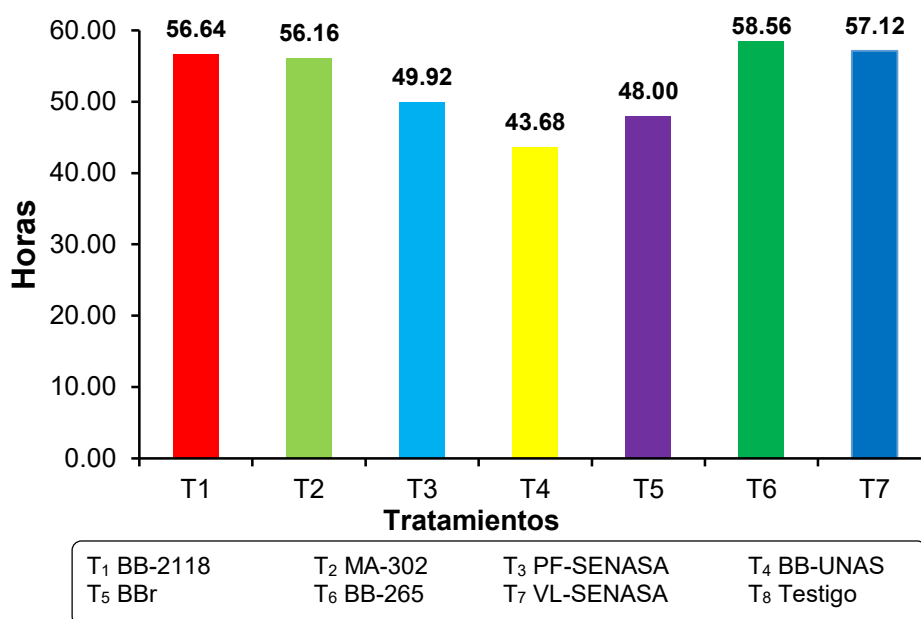


Figura 18. Horas desde la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes* en cada uno de los tratamientos en estudio.

4.2.4. Inicio de la producción de micelio en horas

4.2.4.1. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)

El ANVA ($\alpha = 0.05$) de la etapa de inicio de la producción de micelio en horas de los entomopatógenos sobre *A. cephalotes*, se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad fue de 16.77 % (Cuadro 17).

Cuadro 17. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) del Inicio de la producción de micelio en horas.

Fuente de varianza	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	49760.48	8293.41 *	15.35	2.44
Error Experimental	28	15132.67	540.45		
Total	34				

CV (%): 16.77

4.2.4.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$)

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 17) del inicio de la producción de micelio en horas, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 18 y Figura 19).

Cuadro 18. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) del Inicio de la producción de micelio en hora

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₃	<i>P. fumososroseus</i> (PF-SENASA)	91.20	abcd
T ₁	<i>B. bassiana</i> (BB-2118)	103.20	abcd
T ₅	<i>B. brongniartii</i> (BBr)	110.40	abcd
T ₇	<i>V. lecani</i> (VL-SENASA)	128.16	abcd
T ₄	<i>B. bassiana</i> (BB-UNAS)	168.00	abcd
T ₆	<i>B. bassiana</i> (BB-265)	170.40	abcd
T ₂	<i>M anisopliae</i> (MA-302)	199.20	abcd

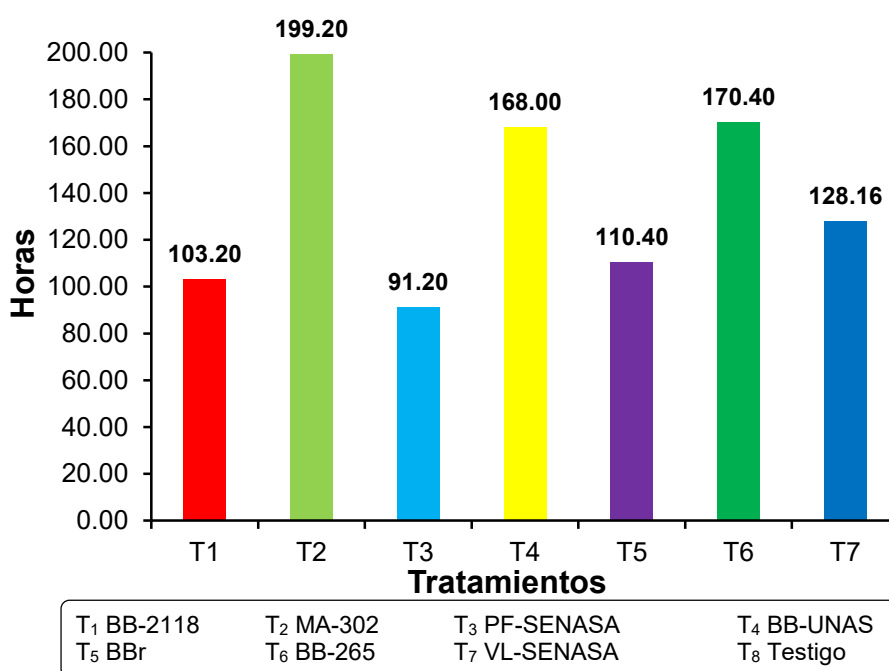


Figura 19. Inicio de la producción de micelio en horas en cada uno de los tratamientos en estudio

4.2.5. Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos

4.2.5.1. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)

El ANVA ($\alpha = 0.05$) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos, se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad fue de 28.58 % (Cuadro 19).

Cuadro 19. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos

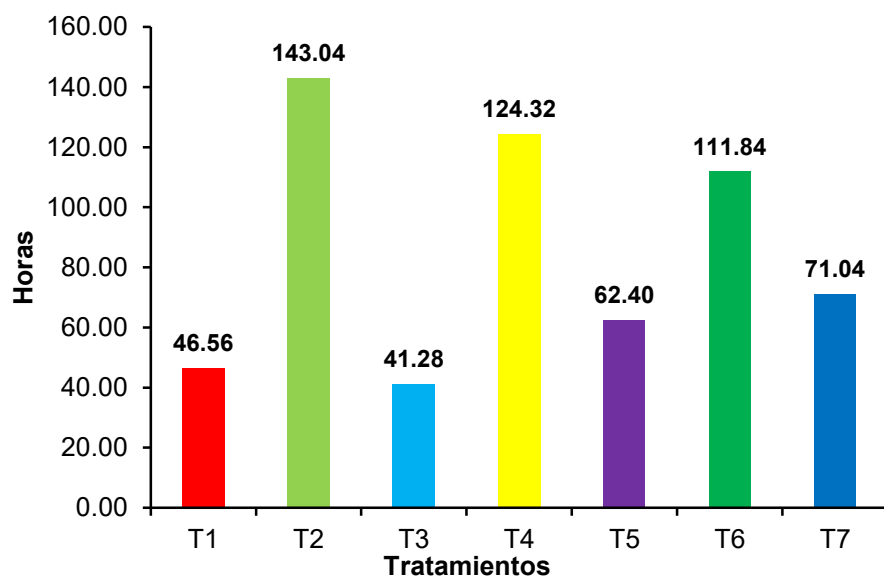
Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	48627.57	8104.59	13.48	2.44
Error Experimental	28	16833.02	601.18		
Total	34				
CV (%):		28.58			

4.2.5.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$)

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 19) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 20 y Figura 20).

Cuadro 20. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) de la muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos.

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₃	<i>P. fumososroseus</i> (PF-SENASA)	41.28	abcd
T ₁	<i>B. bassiana</i> (BB-2118)	46.56	abcd
T ₅	<i>B. brongniartii</i> (BBr)	62.40	abcd
T ₇	<i>V. lecani</i> (VL-SENASA)	71.04	abcd
T ₆	<i>B. bassiana</i> (BB-265)	111.84	abcd
T ₄	<i>B. bassiana</i> (BB-UNAS)	124.32	abcd
T ₂	<i>M anisopliae</i> (MA-302)	143.04	abcd



T ₁ BB-2118	T ₂ MA-302	T ₃ PF-SENASA	T ₄ BB-UNAS
T ₅ BBr	T ₆ BB-265	T ₇ VL-SENASA	T ₈ Testigo

Figura 20. Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos.

4.2.6. Inicio del cubrimiento micelial

4.2.6.1. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)

El ANVA ($\alpha = 0.05$) del inicio de cubrimiento micelial, se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad fue de 14.43 % (Cuadro 21).

Cuadro 21. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) del inicio del cubrimiento micelial.

Fuente de varianza	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	115060.44	19176.74	13.30	2.44
Error Experimental	28	40379.90	1442.14		
Total	34				
CV (%)		14.4			

4.2.6.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$)

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 21) del inicio de cubrimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 22 y Figura 21).

Cuadro 22. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) del inicio del cubrimiento micelial.

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₅	<i>B. brongniartii</i> (BBr)	191.04	abcd
T ₁	<i>B. bassiana</i> (BB-2118)	191.04	abcd
T ₃	<i>P. fumosroseus</i> (PF-SENASA)	210.72	abcd
T ₆	<i>B. bassiana</i> (BB-265)	302.40	abcd
T ₇	<i>V. lecani</i> (VL-SENASA)	307.68	abcd
T ₂	<i>M anisopliae</i> (MA-302)	318.24	abcd
T ₄	<i>B. bassiana</i> (BB-UNAS)	320.64	abcd

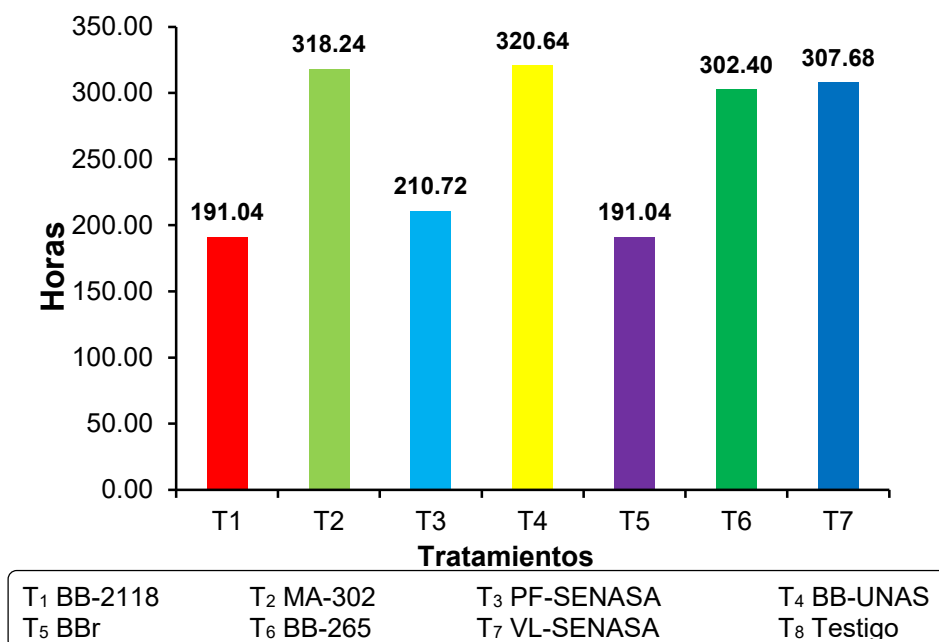


Figura 21. Inicio del cubrimiento micelial de cada uno de los tratamientos.

4.2.7. Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (*Atta cephaotes* L.)

4.2.7.1. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$)

El ANVA ($\alpha = 0.05$) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de *A. cephalotes*, se encontró diferencias estadísticas significativas y con un coeficiente de variabilidad fue de 18.3 % (Cuadro 23).

Cuadro 23. Análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (*Atta cephaotes* L.)

Fuente de varianza	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	113027.33	18837.89	12.01	2.44
Error Experimental	28	43923.46	1568.69		
Total	34				

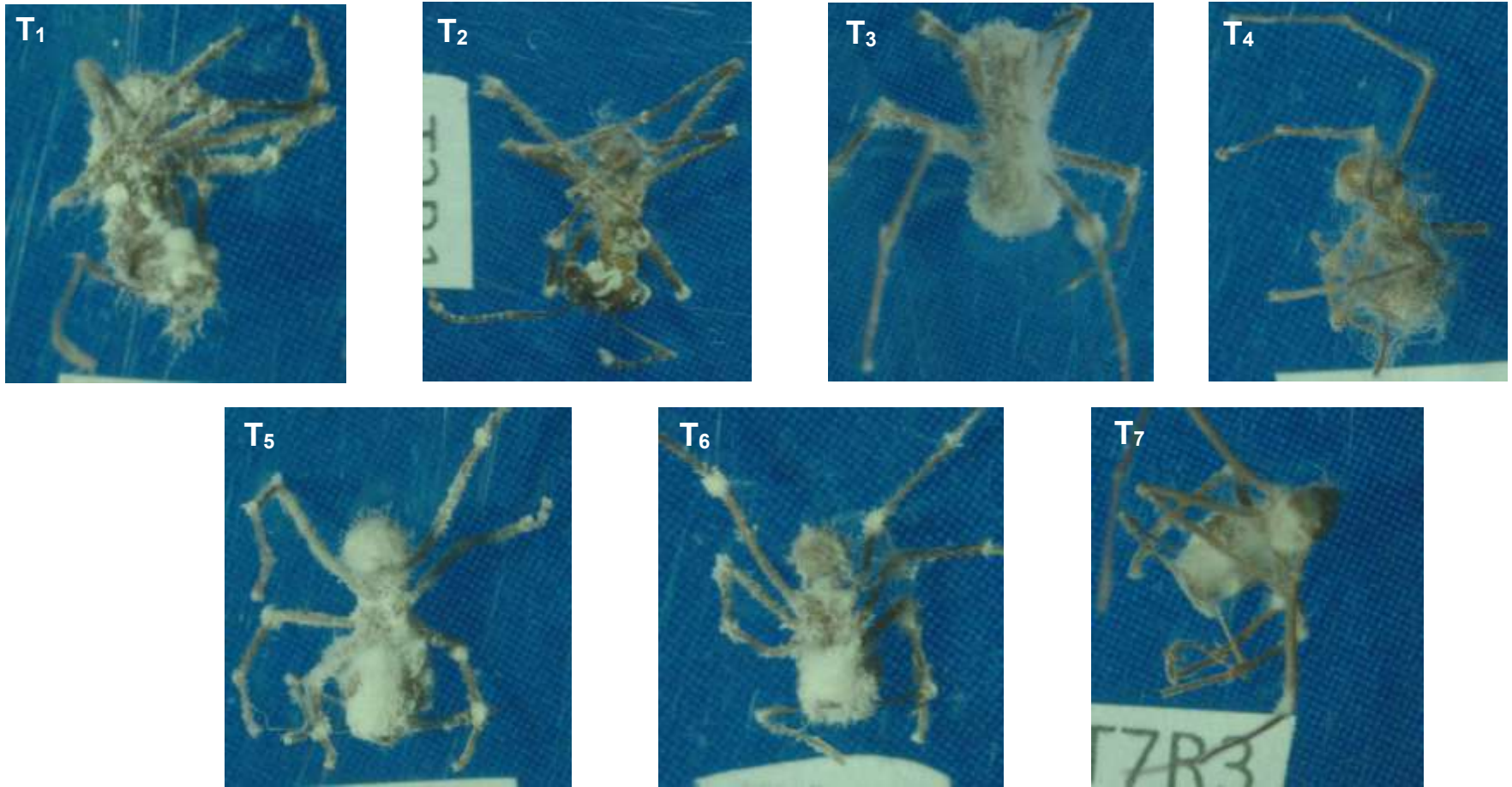
CV (%): 18.30

4.2.7.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$)

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 23) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de *A. cephalotes*, se procedió a realizar la prueba de TUCKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 24, Figura 22 y 23).

Cuadro 24. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (*Atta cephalotes* L.)

Tratamiento	Descripción	Horas	Sign.
T ₁	<i>B. bassiana</i> (BB-2118)	134.40	abcd
T ₅	<i>B. brongniartii</i> (BBr)	143.04	abcd
T ₃	<i>P. fumososroseus</i> (PF-SENASA)	160.80	abcd
T ₆	<i>B. bassiana</i> (BB-265)	243.84	abcd
T ₇	<i>V. lecani</i> (VL-SENASA)	250.56	abcd
T ₂	<i>M anisopliae</i> (MA-302)	262.08	abcd
T ₄	<i>B. bassiana</i> (BB-UNAS)	276.96	abcd



T₁ *B. bassiana* (BB-2118)
T₅ *B. brongniartii* BBr

T₂ *M. anisopliae* (MA-302)
T₆ *B. bassiana* (BB-265)

T₃ *P. fumosoroseus* (PF-SENASA) T₄ *B. bassiana* (BB-UNAS)
T₇ *Verticillium lecanii* (VL-SENASA)

Figura 22. Cubrimiento micelial de *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* *P. fumosoroseus* y *V. lecanii*, sobre *A. cephalotes* L.

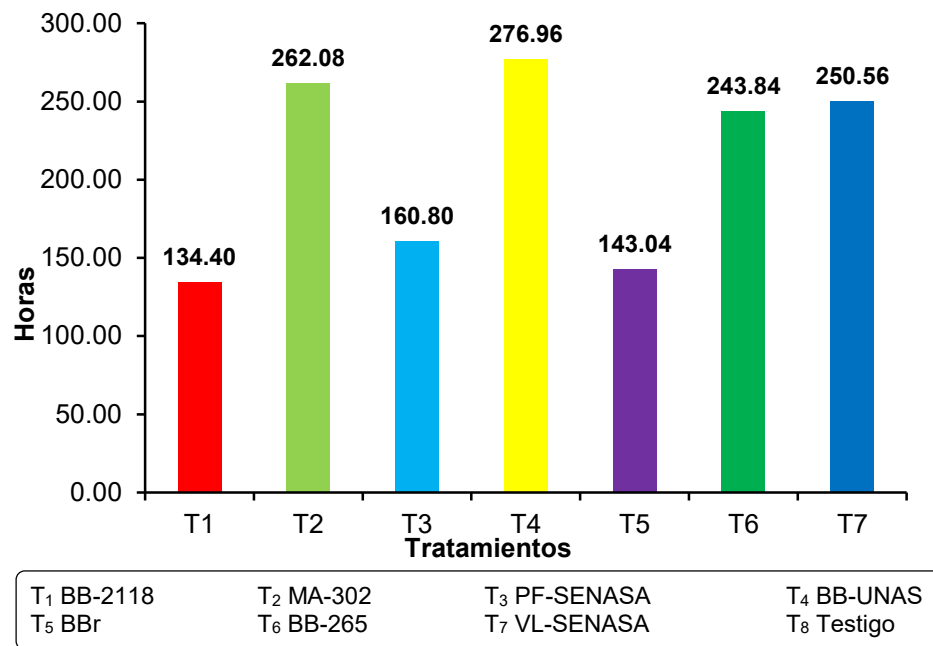


Figura 23. Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (*Atta cephaotes* L.) en cada uno de los tratamientos.

V. DISCUSIÓN

5.1. Evaluación del crecimiento micelial y la concentración de conidias por gramo de sustrato de arroz

5.1.1. Evaluación del crecimiento micelial

Los resultados obtenidos (Anexo: Cuadro 26 – 67) al ser sometidos al análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) mostraron coeficientes de variabilidad mayor al 15 %, de acuerdo a CALZADA (1982) valores altos para ensayos a nivel de laboratorio. En tal sentido se procedió a realizar la transformación de nuestros datos al $\sqrt{(X+1)}$, de acuerdo a lo indicado por REYES (2010), quién señala que en experimentos en los cuales se hacen conteos de malezas, insectos, plantas enfermas, etc., o bien cuando se tienen datos en porcentajes, la distribución no es normal; frecuentemente, la correlación entre media y varianza en los tratamientos y la heterogeneidad de dicha varianza, se ajustan a una distribución casi normal, con media y varianza independiente y homogéneas si a los datos experimentales se les hacen ciertas transformaciones. Cuando algún valor observado es muy pequeño o cero, la fórmula que debe usarse es $\sqrt{(X+1)}$.

5.1.1.1. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas en todas las evaluaciones excepto en la primera evaluación, quiere decir según CALZADA

(1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente, respecto al RPC en el medio de cultivo PDA, posiblemente uno de estos hongos tuvo un crecimiento superior a los demás, sabiendo que *B. bassiana*, *M. anisopliae* presenta un crecimiento lento (GARCÍA *et al.*, 2011; Domsch *et al.*, 1993, citado por NUSSENBAUM, 2014). El coeficiente de variabilidad menor del 3 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe excelente homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir desarrollo micelial de los hongos entomopatógenos en el medio de cultivo PDA de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento de excelente homogeneidad.

5.1.1.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA en la mayoría de las evaluaciones (Cuadro 9) de los tratamientos, con respecto al crecimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 10), donde se encontró diferencias estadísticas significativas en todas las evaluaciones, excepto en la primera evaluación (tercer día) donde todos los tratamientos tuvieron un RPC similar estadísticamente. Los tratamientos T₁ (BB-2118) y T₂ (MA-302) con 1.16, 1.154, 1.138, 1.123 y 1.08, 1.076, 1.077, 1.078 cm/día al 9, 12, 15 y 19 días de evaluación, respectivamente, fueron estadísticamente superior a todos los tratamientos, es decir el crecimiento micelial *B. bassiana* (BB-2118) y *M. anisopliae* (MA-302) en medio de cultivo PDA fue superior estadísticamente por tener un mayor desarrollado del micelio, con respecto a los demás tratamientos, el RPC obtenido tanto en T₁ (BB-2118) y T₂ (MA-302), es alto para estas dos especies de acuerdo a lo reportado por

GARCÍA *et al.* (2011) que manifiesta que *B. bassiana* llega alcanzar 20 mm de diámetro en 10 días, si lo convertimos en RPC, sería 0.1 cm/día, así mismo Domsch *et al.*, 1993, citado por GARCÍA *et al.* (2011) reportan que el crecimiento de *B. bassiana* en 10 días varia en un rango de 0.6 a 2.3 cm de diámetro, esto quiere decir en RPC de 0.03 a 0.115 cm/día, para *M. anisopliae* NUSSENBAUM (2014) determinó que en 10 días el tamaño de la colonia es de 20 mm de diámetro, esto en RPC es de 0.1 cm/día, también Domsch *et al.* (1993), citados por NUSSENBAUM (2014), reporta colonias de 25 mm de diámetro alcanzado en 10 días por este hongo, esto quiere decir en RPC un valor de 0.125 cm/día. Sin embargo el T₁ (BB-2118) y T₂ (MA-302), con el tratamiento T₃ (PF-SENASA) fueron estadísticamente similar en cuanto al RPC, es decir que los hongos entomopatógenos de los tratamientos T₁, T₂ y T₃, se desarrollaron en el medio de cultivo PDA de una manera semejante, posiblemente T₃ (PF-SENASA) pudo ver obtenido mejores resultados si se seguía la metodología de CARR (2003), quienes demostraron para los aislamientos de *P. fumosoroseus* Pz-5 y LBPf-4, mejores valores de crecimientos miceliales y esporulación cuando las placas son incubadas con el régimen de oscuridad continua. El tratamiento T₆ (BB-265) y T₇ (VL-SENASA), fueron los que tuvieron menor RPC en las dos últimas evaluaciones con 1.123, 1.107 y 1.071, 1.086 cm/día, a los 15 y 18 días de evaluación, respectivamente.

5.1.1.3. Tasa de crecimiento micelial de los entomopatógenos

El crecimiento micelial de los hongos entomopatógenos (Figura 13) medio de cultivo PDA en 18 días de evaluación, se puede expresar mediante la ecuación lineal (Figura 14) (Anexo: Cuadro 68), con respecto al tiempo, se obtuvo para todos los tratamientos un coeficiente de determinación " R^2 " o coeficiente de

correlación “ r ” superior a 0.9, valores cercanos a la unidad, este coeficiente de correlación estaría confirmando que la ecuación lineal de primer grado nos permitirá explicar el desarrollo del crecimiento micelial de *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *P. fumososroseus* y *Verticillium lecani*, tal como lo indica GUTIÉRREZ y DE LA VARRA (2012), que el R^2 mide la proporción de la variabilidad en los datos (Y) que explica por el modelo de regresión. Para nuestro caso los valores de R^2 de 0.9289, 0.9953, 0.9950, 0.9667, 0.9807, 0.9001 y 0.9656 para los tratamientos T₁ (BB-2118), T₂ (MA-302), T₃ (PF-SENASA), T₄ (BB-UNAS), T₅ (BBr), T₆ (BB-265) T₇ (VL-SENASA), respectivamente, estarían indicando que el 92.89, 99.53, 99.50, 96.67, 98.07, 90.01 y 96.56 % de la variación observada para el crecimiento micelial de estos hongos en medio de cultivo PDA, se debe a las características propias de cada especie, esto estaría siendo explicado por el modelo. Así mismo GUTIÉRREZ y DE LA VARRA (2012), indican que los valores de “ r ” son cercanos “1” se tiene una relación lineal positiva fuerte. Es importante notar que solo en el caso particular en el modelo de la línea recta de regresión existe una relación directa entre r y R^2 , es decir $R^2 = r^2$. Por lo tanto esto estaría confirmando que la ecuación lineal de primer grado nos permitirá explicar el crecimiento micelial de *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *P. fumososroseus* y *Verticillium lecani*, en los distintos tratamientos, de una manera muy fácil y sencilla.

5.1.2. Evaluación de la concentración de conidias de los entomopatógenos por gramo de sustrato.

La concentración obtenida en la presente investigación (Cuadro 11), es superior a lo obtenido por ZVALETA *et al.* (2013) con 1.73×10^8 conidias/g al aplicar hongos entomopatógenos a *A. cephalotes* a nivel in vitro, así mismo los resultados obtenidos tuvieron mejor concentración a los reportados por EGOAVIL

et al. (2014) para el control de barrenador del planchas de triplex *D. obscurus* y el comejen *Reticulitermis* sp. con 1.73×10^8 a nivel in vitro.

5.1.2.1. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas, esto quiere decir según CALZADA (1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente respecto a la concentración de conidias por gramo de sustrato de arroz, es decir que posiblemente uno de estos hongos tuvo una concentración de conidias por gramo de sustrato superior a los demás tratamientos. El coeficiente de variabilidad menor del 7.16 % (Cuadro 13), significa según CALZADA (1982) que existe excelente homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir que la concentración de los hongos entomopatógenos determinado en la cámara de Neubauer de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento de excelente homogeneidad.

5.1.2.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA en la mayoría de las evaluaciones (Cuadro 13) de los tratamientos, con respecto al crecimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 14), donde se encontró diferencias estadísticas significativas entre el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 5.84×10^{10} con el resto de tratamientos, es decir la concentración de conidias de *B. bassiana* (BB-UNAS) producidas en el medio de cultivo PDA fue superior estadísticamente, por tener un mayor número de conidias por gramo de sustrato de arroz, con respecto a los demás tratamientos,

esto puede deberse a que el aislamiento de *B. bassiana* T₄ (BB-UNAS), tratándose de un aislamiento nativa de la zona de Tingo María está más adaptada a las condiciones climáticas de la zona de Tingo María que los otros aislamiento que tienen diferentes procedencia como el aislamiento de *B. bassiana* del T₁ (BB-2118) y T₆ (BB-265) procedente de la provincia de Chanchamayo en Junín – Perú y de la provincia de Sania en Puno, respectivamente, esto coincide con lo manifestado por VALENCIA (2014) que determinó que los aislamiento nativos de hongos y bacterias tuvieron excelentes resultados, por lo que se les considera promisorios para la elaboración de productos biológicos para el control de *A. cephalotes*

Así mismo MENA (2010) concluyó que las cepas nativas obtenidas de *Metarhizium* presentaron un alto grado de virulencia contra *A. colombica* en laboratorio y potencialmente viable para llevar a pruebas con la colonia completa en laboratorio y posteriormente para campo en la región de origen. Sin embargo nuestros resultados obtenidos que oscilaron entre 5.84×10^8 (5.84×10^{10} conidias/g) a 1.61×10^8 (1.61×10^{10} conidias/g) conidias/ml (Cuadro 11), para el tratamiento T₄ (BB-UNAS) y T₇ (VL-SENSA), respectivamente, son superiores a los obtenidos por MENA (2010) con *Metarhizium* la CL50 de H-M-03 con 1.12×10^6 , de H-M-08 con 1.16×10^6 conidias/ml y el control positivo M 137 con 1.04×10^6 conidias/ml

5.2. Patogenicidad de los entomopatogenos sobre la hormiga coqui.

5.2.1. Mortalidad de la hormiga coqui

En todos los tratamientos a excepción del tratamiento testigo T₈ (Agua), existió una mortalidad de 100 % de la hormiga coquí, esta mortalidad

podemos inferir que es a consecuencia de la infección causada por los hongos Entomopatógenos, que trajo consigo la muerte de todos los individuos en cada uno de las repeticiones de los tratamientos en estudio donde se aplicó a los hongos entomopatógenos, debido a que los individuos de *A. cephalotes* que estuvieron dentro de los taperes de cada una de las repeticiones del tratamiento testigo T₈ (Agua) no presentaron mortalidad, por lo tanto la mortalidad de los demás tratamientos se puede decir que se debió al efecto de la infección de los hongos, recordemos que los individuos fueron colectados de una mismo nido de hormigas, por lo que tuvieron las mismas condiciones fisiológicas, estos resultados coinciden con los reportados por ALBERTO (2016), quien manifiesta que *B. bassiana* y *M. anisopliae* presentan una efectividad biológica superior al 90 % en algunas especies de *Atta*, también MENA (2010) reporta que los aislamientos H-M- 03 y H-M-08 de *Metarhizium* sp., alcanzaron 100 % de mortalidad al quinto día de inoculación a la *A. colombica*. El tratamiento T₈ (Testigo), presentó 0.0 % de mortalidad, esto puede deberse a que las hormigas utilizadas en el tratamiento testigo tuvieron buenas condiciones, para su sobrevivencia, coincidiendo con lo descrito por VALDERRAMA *et al.* (2006) que las colonias de las hormigas, en el laboratorio debe proporcionar condiciones de humedad relativa de 85 -90 %, temperatura de 24 °C y fotoperiodo de 12 horas diarias y que posiblemente la desorientación de las hormigas se deba a lo señalado por ALARCON *et al.* (2012) que un hormiguero de *Atta* sp se asemeja a un organismo, si muere o se extrae la reina, muere todo el hormiguero, nido o colonia, es posible que al no tener la reina, las hormigas tuvieron un grado de desorientación en cada uno de las repeticiones del experimento.

5.2.2. Tiempo letal medio (TL50)

De acuerdo a los resultados obtenidos (Figura 19), el tratamiento T₄ (BB-UNAS) aislamiento de *Beauveria bassiana* - UNAS, obtuvo el menor TL₅₀ con 29.3 horas, desde la inoculación hasta muerte del 50 % de los individuos de hormigas coqui, valor muy por encima por lo reportado por MENA (2010) sobre la hormiga cortadora de hojas (*Atta colombica*) donde *Metarhizium* sp., tuvo control positivo de 1.3 y 2.0 días en matar el 50 % de los individuos, es decir a las 31.2 y 48 horas y con los trabajos realizados por ZAVALETA *et al.* (2013), quien obtuvo para *M. anisopliae* (MA-319) un TL₅₀ de 31.2 horas para el control de *A. cephalotes*; esto puede deberse a que *B. bassiana* (BB-UNAS), es un aislamiento nativo de la zona de Tingo María, por lo tanto presenta características favorables, como lo señala VALENCIA (2014) en investigaciones realizadas determinaron que los aislamientos nativos de hongos y bacterias son promisorios para la elaboración de productos biológicos para el control de la hormiga y se constituyen en línea base para investigaciones futuras. Seguido por el tratamiento T₅ (BBr) aislamiento de *Beauveria brongniartii*, con un TL₅₀ de 36 horas; seguido de los tratamientos T₃ (PF-SENASA), T₂ (MA-302), T₁ (BB-2118), T₆ (BB-265) y T₇ (VL-SENASA), con UN TL₅₀ de 37.1, 44.9, 45.5, 46.6 y 46.6 horas respectivamente, siendo estos dos últimos tratamientos los que mayor TL₅₀ obtuvieron, sin embargo EGOAVIL *et al.* (2014) en experimentos realizados sobre *Dysides obscurus* y *Reticulitermes* sp. encontró que el aislamiento *B. bassiana* (BB-2118) y *M. anisopliae* (MA-302) obtuvieron los mejores valores de TL₅₀ con 60 y 40 horas, respectivamente, en este experimento no se utilizó *P. lilacinus*, porque según MONZON *et al.* (2009) *P. lilacinus* tiene mayor relevancia

como patógeno de fitonemátodos, en donde causa una alta tasa de mortalidad reduciendo las poblaciones de fitonemátodos en los cultivos.

5.2.3. Etapa de inoculación a muerte de la hormiga coqui (*Atta cephalotes* L.)

5.2.3.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

Al no encontrar diferencias estadísticas significativas, quiere decir según CALZADA (1982), que los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento similar, respecto a la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*. El coeficiente de variabilidad fue de 18.83 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe buena homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir los registros obtenidos de la etapa de inoculación a muerte de la hormiga coqui, de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento de buena homogeneidad.

5.2.3.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

A pesar que no existió diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 15), con respecto a la etapa de inoculación a muerte de la hormiga coquí, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 16 y Figura 18), con la finalidad de encontrar diferencias, sin embargo no se encontró diferencias estadísticas significativas en todas los tratamientos, es decir que la infección causada por los hongos entomopatógenos (*B. bassiana*, *B.*

brongniartii, *M. anisopliae*, *P. fumosusroseus* y *Verticillium lecani*) de todos los tratamientos, produjeron la muerte de los individuos de *A. cephalotes* (horas transcurridas), a partir de la inoculación del hongo sobre el insecto, en tiempos (horas) similares. Siendo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 43.68 horas, numéricamente superior a todos los demás tratamientos, por tener el menor tiempo entre la etapa de inoculación a muerte del insecto, nuestros resultados son muy similares a los obtenidos por ZAVALETA *et al.* (2013) quienes obtuvieron un con *M. anisopliae* (MA-319) un tiempo de 40 horas desde la inoculación a muerte de *A. cephalotes*, esto se debe a que muchos autores consideran a estas dos especies de hongos entomopatógenos con gran capacidad de causar la muerte de las hormigas coquí, como lo señala ALBERTO (2016), que *B. bassiana* y *M. anisopliae* redujeron la infestación de zompopos y pueden ser utilizados para el control de los mismos. Mientras que el tratamiento T₆ (BB-265) con 58.56 horas, fue el tratamiento que obtuvo el mayor tiempo entre la etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*.

La muerte del insecto por el T₄ (BB-UNAS), puede deberse a lo manifestado por CARBALLO *et al.* (2004), que ocurre por la acción por la acción insecticida de los metabolitos tóxicos emitidos por el hongo, principalmente la *Beauvericina* y de acuerdo a FERRON (1978) las toxinas causan la muerte del insecto debido a la degeneración de los tejidos, producto de la pérdida de la integridad estructural de las membranas seguido de la deshidratación de las células por pérdida de fluido, entre las toxinas que produce *B. bassiana* según CARBALLO *et al.* (2004), están principalmente ciclodepsipeptidos entre los cuales están la beauvericine, el beauverolide H e I, el bassianolide, el isarolide A, B y C.

5.2.4. Inicio de la producción de micelio en horas

5.2.4.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas, quiere decir según CALZADA (1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente, al inicio de la producción de micelio en horas. El coeficiente de variabilidad fue de 16.77 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe buena homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir los registros obtenidos del inicio de la producción de micelio en horas, de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento de buena homogeneidad.

5.2.4.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 17), con el inicio de la producción de micelio en horas, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 18 y Figura 19), donde se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T₃ (PF-SENASA), T₁ (BB-2118) y T₅ (BBr), con 91.20, 103.20 y 110.40 horas respectivamente, y el resto de los tratamientos, es decir que la producción de micelio de *P. fumosoroseus* (PF-SENASA), *B. bassiana* (BB-2118) y *B. brongniartii* (Bbr), después de la muerte de los individuos de *A. cephalotes* fue superior estadísticamente por tener un menor tiempo (horas) en iniciar la formación de

hifas que trajo consigo el menor tiempo de producción de sus micelios, nuestros resultados son inferiores a los encontrados por ZVALETA *et al.* (2013), quien obtuvo el mejor resultado con 76.8 horas para el inicio de la producción de micelio con el aislamiento de *M. anisopliae* (MA-319), esta diferencias de resultados puede deberse a que los aislamientos utilizados en nuestro experimento y los utilizados por ZVALETA *et al.* (2013) no todos provienen de cultivos monospóricos, que permitiría según CAÑEDO y AMES (2004) una colección confiable, con aislamientos monospóricos que garanticen la autenticidad y pureza de los mismos y de los datos que se consigan; sin embargo EGOAVIL *et al.* (2014) en experimentos realizados sobre *D. obscurus* y *Reticulitermes* sp encontró que el aislamiento *B. bassiana* (BB-265) con 96 horas, y *B. bassiana* (BB-2118) y *M. anisopliae* (MA-302) ambos con 115.2 horas, obtuvieron los mejores valores respectivamente, valor muy cercano a lo obtenido por el tratamiento T₁ (BB-2118) en *A. cephalotes*. Pero no se encontró diferencias estadísticas significativas con el tratamiento T₇ (VL-SENSA) con 128.16 horas, siendo el tratamiento T₂ (MA-302) con 199.20 horas el que tuvo mayor tiempo del inicio de la producción de micelio en horas.

La producción de micelio de los tratamientos T₁ (BB-2118) y T₅ (BBr), seguramente ocurrió de la manera como lo menciona Meyling y Eilenberg (2007), citado por HERRERA, (2011), que tras la invasión del hemocele, el hongo es capaz de volver a salir al exterior, desarrollándose saprofiticamente sobre los cadáveres en los que esporula.

5.2.5. Muerte del insecto a producción de micelio en horas de los entomopatógenos

5.2.5.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas, quiere decir según CALZADA (1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente, de la etapa de muerte del insecto a la producción de micelio en horas. El coeficiente de variabilidad fue de 28.58 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe resultados muy variables en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir los registros obtenidos de la muerte del insecto a la producción de micelio en horas, de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento muy variable.

5.2.5.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 19), con la etapa de muerte del insecto a producción de micelio, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 20 y Figura 20), donde se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T₃ (PF-SENASA), T₁ (BB-2118) y T₅ (BBr), con 41.28, 46.56 y 62.40 horas respectivamente, y el resto de los tratamientos, es decir que el tiempo transcurrido desde la muerte del insecto a producción de micelio (horas) de *P. fumosoroseus* (PF-SENASA), *B. bassiana* (BB-2118) y *B. brongniartii* (MA-302), fue superior estadísticamente al resto de los tratamientos, por tener un menor tiempo (horas)

trascendido desde la muerte de *A. cephalotes* hasta la producción de sus micelios, nuestros resultados son inferiores a los encontrados por ZAVALETA *et al.* (2013), quien obtuvo el mejor resultado con 35.5 horas desde la etapa de muerte a la presencia del micelio con el aislamiento de *B. bassiana* (BB-UNAS), en cambio para nuestro experimento el T₄ (BB-UNAS) obtuvo 124.32 horas, esto puede deberse a la pérdida de virulencia del aislamiento BB-UNAS, tal como lo menciona Fargues (1972) y Schaerffenberg (1964), citado por ESTRADA-VÉLEZ *et al.* (1997); sin embargo no existió diferencias estadísticas significativas con el tratamiento T₇ (VL-SENSA) con 71.04 horas, siendo el tratamiento T₂ (MA-302) con 143.04 horas el que tuvo mayor tiempo en la etapa de muerte del insecto a la producción de micelio en horas.

5.2.6. Inicio del cubrimiento micelial

5.2.6.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas, quiere decir según CALZADA (1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente, del inicio del cubrimiento micelial. El coeficiente de variabilidad fue de 14.43 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe resultados con muy buena homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir los registros obtenidos del inicio del cubrimiento micelial en horas, de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento con muy buena homogeneidad.

5.2.6.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 21), con el inicio de cubrimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 22 y Figura 21), donde se encontró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T₅ (BBr), T₁ (BB-2118) y T₃ (PF-SENASA), con 191.04, 191.04 y 210.72 horas respectivamente, y el resto de los tratamientos, es decir que el tiempo (horas) de inicio del cubrimiento micelial de *B. brongniartii* (Bbr), *B. bassiana* (BB-2118) y *P. fumosoroseus* (PF-SENASA), fue superior estadísticamente por tener un menor tiempo (horas) del inicio de la formación de hifas para producir el cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes*, nuestros resultados son inferiores a los encontrados por ZAVALETA *et al.* (2013), quien obtuvo el mejor resultado con 102.4 horas del inicio del cubrimiento micelial con el aislamiento de *M. anisopliae* (MA-319), las diferentes respuestas obtenidas en nuestro experimento y el de ZAVALETA *et al.* (1993) puede deberse a las diferentes condiciones de incubación, como lo indica Varela y Morales (1996), citado por ESTRADA-VÉLEZ *et al.* (1997) o por el origen geográfico y el estado fisiológico del hospedante como lo menciona Doberski (1981), Fargues (1972) y Feng y Johnson (1990), citado por ESTRADA-VÉLEZ *et al.* (1997). En cambio EGOAVIL *et al.* (2014) en experimentos realizados sobre *D. obscurus* y *Reticulitermes* sp encontró que el aislamiento *B. bassiana* (BB-2118) con 141.33 horas y *B. bassiana* (BB-265) con 134.0 horas, obtuvieron los mejores valores respectivamente, el valor obtenido por *B. bassiana* (BB-2118) en EGOAVIL *et al.* (2014) es superior a lo obtenido en el presente experimento por el tratamiento T₁ (BB-2118), por tener un menor tiempo, esto puede deberse

a que se trata de otra especie, como indica Doberski (1981), Fargues (1972) y Feng y Johnson (1990), citado por ESTRADA-VÉLEZ *et al.* (1997), que los resultados pueden depender del estado fisiológico del hospedante. El resto de los tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas entre ellos, siendo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 320.64 horas el que tuvo mayor tiempo de iniciar el cubrimiento micelial en horas.

5.2.7. Muerte a cubrimiento micelial de los individuos de la hormiga coqui (*Atta cephalotes* L.)

5.2.7.1. Análisis de Varianza (ANVA) ($\alpha = 0.05$).

Al encontrar diferencias estadísticas significativas, quiere decir según CALZADA (1982), que uno o algunos de los tratamientos (hongos entomopatógenos) tuvieron un comportamiento diferente, de la etapa (horas) de muerte a cubrimiento micelial de *A. cephalotes*. El coeficiente de variabilidad fue de 18.30 %, en todas las evaluaciones, significa según CALZADA (1982) que existe resultados con buena homogeneidad en el comportamiento entre las unidades experimentales de cada uno los tratamientos, es decir los registros obtenidos de la etapa (horas) de muerte a cubrimiento micelial de *A. cephalotes*, de un mismo tratamiento tuvieron un comportamiento con buena homogeneidad.

5.2.7.2. Prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$).

Al existir diferencias estadísticas significativas en el ANVA (Cuadro 23), con la etapa de la muerte hasta el cubrimiento micelial, se procedió a realizar la prueba de TUKEY ($\alpha = 0.05$) (Cuadro 24 y Figura 22), donde se encontró

diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T₁ (BB-2118), T₅ (BBr) y T₃ (PF-SENASA), con 134.40, 143.04 y 160.72 horas respectivamente, y el resto de los tratamientos, es decir que el tiempo transcurrido desde la muerte del insecto al cubrimiento micelial (horas) de *B. bassiana* (BB-2118), *B. brongniartii* (MA-302) y *P. fumosoroseus* (PF-SENASA), fue superior estadísticamente, por tener un menor tiempo (horas) transcurrido desde la muerte de *A. cephalotes* hasta el cubrimiento de sus micelios, nuestros resultados son inferiores a los encontrados por ZAVALETA *et al.* (2013), quien obtuvo el mejor resultado con 62.40 horas del inicio del cubrimiento micelial con el aislamiento de *M. anisopliae* (MA-319). El resto de los tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas entre ellos, siendo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 276.96 horas el que tuvo mayor tiempo desde la muerte de la plaga hasta el cubrimiento micelial de *B. bassiana* (BB-UNAS).

VI. CONCLUSIONES

1. El mejor ritmo promedio de crecimiento, estadísticamente, lo obtuvieron los tratamientos T₁ (BB-2118) y T₂ (MA-302) con un RPC de 1.16, 1.154, 1.138, 1.123 y 1.08, 1.076, 1.077, 1.078 cm/día al 9, 12, 15 y 19 día de evaluación respectivamente y se calculó que la ecuación lineal de primer grado nos permitirá explicar el crecimiento micelial de *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *P. fumososroseus* y *Verticillium lecani*. Y la mejor concentración lo obtuvo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 5.84×10^{10} conodías por sustrato de arroz, al ser estadísticamente superior al resto de tratamientos.
2. La mortalidad fue del 100 %, en todos los tratamientos con los hongos *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *P. fumososroseus* y *Verticillium lecani*., el mejor valor TL₅₀ lo obtuvo el tratamiento T₄ (BB-UNAS) con 29.3 horas, seguido de los tratamientos T₃ (PF-SENASA), T₂ (MA-302), T₁ (BB-2118), T₆ (BB-265) y T₇ (VL-SENASA), con UN TL₅₀ de 37.1, 44.9, 45.5, 46.6 y 46.6 horas respectivamente y se determinó que no existe diferencias estadísticas en todos los tratamientos al calcular la etapa de inoculación a muerte de la hormiga *Atta cephalotes* L.
3. El mejor tiempo del inicio de la producción de micelio y la etapa de muerte a producción de micelio fue para los tratamientos T₃ (PF-SENASA), T₁ (BB-

2118) y T₅ (BBr), con 91.20, 103.20 y 110.40 horas respectivamente y 41.28, 46.56 y 62.40 horas respectivamente, sin embargo en ambas evaluaciones no tuvieron diferencias estadísticas con el tratamiento T₇ (VL-SENSA) con 128.16 y 71.04 horas, respectivamente para cada evaluación.

4. Los mejores resultados para el inicio del cubrimiento micelial y de la etapa muerte a cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos sobre *A. cephalotes* L., estadísticamente fue para los tratamientos T₅ (BBr), T₁ (BB-2118) y T₃ (PF-SENSA), con 191.04, 191.04 y 210.72 horas, respectivamente y los tratamientos T₁ (BB-2118), T₅ (BBr) y T₃ (PF-SENSA), con 134.40, 143.04 y 160.72 horas respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Con los mejores resultados, repetir el ensayo a nivel de campo, para determinar su efecto sobre la hormiga coqui.
2. Realizar ensayos in vitro con mezclas de hongos entomopatógenos con la finalidad de aumentar su efecto y obtener mejores resultados de patogenicidad.
3. Efectuar experimentos orientados a investigar los efectos de los hongos entomopatógenos en laboratorio sobre insectos plagas forestales para su futuro manejo y control

VIII. ABSTRAC

The present work had the objectives to: calculate the average rhythm of growth and the linear equation in a PDA culture media and the concentration of conidia, determine the percentage of mortality, the average lethal time (TL₅₀), the stage from inoculation to death, the best time from the start of sporulation and the stage from death to the production of mycelium, the best time from the start of the covering of the mycelium and the stage from death to the covering of mycelium of the entomopathogenous fungi on *Atta cephalotes* L. The research was done in the Universidad Nacional Agraria de la Selva's Entomopathogens Laboratory, Tingo María, Rupa Rupa district, Leoncio Prado province, Huánuco region, Peru; seven isolations of entomopathogenous fungi were used, five were acquired in the SENASA (acronym in Spanish) (*Beauveria bassiana* CCB-LE2118, *Beauveria bassiana* CCB-LE 265, *Metarhizium anisopliae* CCB-LE302, *Paecilomyces fumososroseus*, *Verticillium lecani* SENASA) and two were obtained from the UNAS (acronym in Spanish) (*Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*). The results showed that *Beauveria bassiana* CCB-LE2118 and *Metarhizium anisopliae* CCB-LE302 obtained the best average rhythm of growth, statistically, and the best concentration of conidia was obtained by the *Beauveria bassiana* UNAS. The best TL₅₀ value was obtained by the *Beauveria bassiana* UNAS. The best result at the start of production of mycelium and from the death stage to production of mycelium was obtained by the *Paecilomyces fumososroseus* and the best treatment at the start of mycelium covering and from the death stage to the mycelium covering was obtained by the *Beauveria brongniartii* UNAS.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALARCON, J. AREVALO, E. DIAZ, A. GALINDO, J. ROSERO, A. 2012. Manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de caucho. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Bogotá–Colombia. Pp. 14-15.
- ALEXOPOULUS, C. J. 1985. Introducción a la micología. Editorial. OMEGA. Barcelona, España. 212 –223 p.
- BARNETT H. L. & B. B. HUNTER. 1999. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4ta. Segunda Reimpresión. Edic. APS press. 218 p.
- BRANSTETTER M. Y SAENZ L. 2012. Biodiversidad de Guatemala Volumen 2: Las hormigas (Himenoptera: FORMICIDAE) de Guatemala. 50 p.
- BUSTOS A. 2003. Estudio poblacional y análisis bromatológico y bacteriológico de la hormiga *atta cephalotes* (l), así como su consumo en la alimentación en la zona de influencia del cetis n° 143 de fortín, ver. 7 p.
- CABRERA LA ROSA, JUAN C.; PINEDO C., ERNESTO I. 1995. Revista peruana de Entomología. p. 107 – 110.
- CALZADA BENZA, JOSÉ. 1982. Métodos Estadísticos. 3ra. Ed. LIMA. 640 p.

CAÑEDO, V. y AMES, T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima – Perú. 62 p.

CAÑEDO, V y AMES, T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos Lima (Perú): Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima – Perú. 62 p.

CARBALLO V., MANUEL. 1998. Formulación de hongos Entomopatógenos. Hoja técnica. Integrado de plagas (CATIE), COSTA RICA. N° 25.

CARBALLO, M; HIDALGO, E. y RODRIGUEZ, A. 2004. Control biológico de insectos mediante hongo entomopatógenos. MIP/ CATIE. Nicaragua. Pp. 34-36.

CARR P., A., ELÓSEGUI, O. Y BELL P., N. 2003. Aislamiento, caracterización morfológica y fisiológica del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Broum & Smith. Fitosanidad. 7 (3): 27-32

CASTILLO, S. 2006. Uso de *Metarhizium anisopliae* para el control biológico del salivazo (*Aeneolamia spp.* y *Prosapia spp.*) en pastizales de *Brachiaria decumbens* en El Petén, Guatemala. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 10:69. [En línea]: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/3576/1/RE_ING.AGRON_JULIO.GIL_EVALUACION.DE.DOS.CEPAS_DATOS.PDF, documentos, 09 de julio del 2018).

CHAN, W., RUIZ, E., CRISTÓBAL, J., PÉREZ, A., ROSALES, R., LARA, J. 2010.

Desarrollo in vitro de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces Fumoso roseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. Instituto Tecnológico Conkal. *Agrociencia* 44: 587-597. [En línea]: (https://www.researchgate.net/publication/48198233_Desarrollo_in_vitro_de_cuatro_cepas_nativas_de_Paecilomyces_Fumoso_roseus_y_su_patogenicidad_en_estados_inmaduros_de_mosquita_blanca, documentos, 9 julio del 2018).

COMMONWEALTH MICROLOGICAL INSTITUTE. 1979. *Beauveria bassiana*, C.M.I.

Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. N 603. England

EGOAVIL, G., VEGA, J., GIL, J., ZAVALA, J., VASQUEZ, R., GARRIDO, J.

2014. Control del barrenador de planchas de tripley *Dysides obscurus* Perty (Dysidinae), la hormiga coqui (*Atta cephalotes*) L. y del comején *Reticulitermes* sp. bajo condiciones de laboratorio mediante la aplicación de tres entomopatógenos. V Seminario de Control Biológico. Libro de resúmenes. Trujillo – Perú. 12 p.

ESCOBAR R., GARCIA F. Y NEITA C. 2006. Hormiga arriera, biología, ecología y

hábitos. Universidad Tecnológica del Choco. PAIS.32p.

ESTRADA-VALENCIA, M. N., P. E. VÉLEZ-ARANGO, E. C. MONTOYA-

RESTREPO. 1997. Caracterización de cultivos monoespóricos del hongo *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 48 (4): 217-224

- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pest by entomopathogenous fungi. *Ann. Rev. Entomol.* 23: 409-442.
- FRENCH, EDUARDO R.; HERBERT, TEDDY T. 1982. Métodos de Investigación. 1ra Ed. Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura. San José. Costa Rica. 289 p.
- GARCIA, G.; CAPPELLO, G.; LESHAR, G. y MOLINA, M. 2011. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatogenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. *Horizonte sanitario, México.* 10(2): 21 – 28.
- GOMEZ, HILDA. 1998. Manual para la multiplicación masiva de *Beauveria bassiana* y *Baculovirus phthorimaeae*. LIMA. Pp. 5 – 25.
- GONZALES G., M. T.; POSADA F.,F.J.; BUSTILLO P.,A.E. 1993. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Baueveria bassiana* sobre *hypotenemus hampey*. *Cenicafe. revista del Centro Nacional de Investigación de café.* 3(44):23-102.
- GUTIÉRREZ, H. y DE LA VARA, R. 2012. Análisis y diseño de experimentos. Tercera edición. Editorial MC Graw Hill. 489 p.
- HERRERA, A. 2011. Micovirus asociado a los hongos endófitos y entomopatógenos *Tolyocladium cylindrosporum* y *Beauveia bassiana*. Tesis de Doctorado en biología. Universidad de Salamanca. Salamanca. 167 p.

- JIMENEZ G., J. A. 1992. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café Cenicafé. Revista del centro Nacional de investigación de café. Volumen 43. No 3. Pp. 84-98.
- MACHADO M. L. 2016. Efectos de plaguicidas químicos empleados en *Phaseolus vulgaris* L. sobre el crecimiento, colonización y patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill y *Metarhizium anisopliae* (Mest.) Sorok Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. [En línea]: (<http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6373/Tesis%20completa%20Lisneyi.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, documentos, 09 de julio del 2018).
- MENA, S. 2010. Evaluación de hongos entomopatógenos como potencial bio controlador de la hormiga arriera *Atta colombica* (g) del municipio de Iloró – chocó. UNC. Colombia. Pp. 12-34.
- MONZÓN, A; HERRERA, I. Y MÉNDEZ, E. 2009. Uso y manejo de *Paecilomyces lilacinus* para el control de nematodos. FUNICA, Nicaragua. Pp. 3-
- MYCOBANK. 2017a. *Beuaveria bassiana*. International Mycological Association (IMA). [En línea]: (<http://www.mycobank.org/BioloMICSDetails.aspx?Rec=3049>, documento del 30 de setiembre de 2017).
- MYCOBANK. 2017b. *Metarhizium anisopliae*. International Mycological Association (IMA). [En línea]: (<http://www.mycobank.org/BioloMICSDetails.aspx?Rec=58257>, documento del 30 de setiembre de 2017).

- MYCOBANK. 2017c. *Paecilomyces fumosoroseus*. International Mycological Association (IMA). [En línea]: (<http://www.mycobank.org/BioMICSDetails.aspx?Rec=18215>, documento del 30 de setiembre de 2017).
- NUSSENBAUM, A. 2014. Aislamiento de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* virulentos para el control del picudo del algodón, *Anthonomus grandis* (Coleóptera: Curculionidae). Tesis de Doc. Ciencias biológicas. Universidad de Buenos Aires. Buenos aires. 184 p.
- PEREZ, C., ORESTES, E., PADRON, N. 2003. Aislamiento, caracterización morfológica y fisiológica del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (WIZE) BROUM & SMITH. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana-Cuba. [En línea]: (<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209118166006>, documento, 3 noviembre del 2017).
- RAMIREZ, J. 2010. Uso actual de las tierras, informe temático. Proyecto Mesozonificación Ecológica y Económica para el Desarrollo Sostenible de la selva de Huánuco, convenio entre el IIAP, DEVIDA. Iquitos – Perú. 101 p.
- REYES, C.P. 2010. Bioestadística aplicada, agronomía, biología y química. Editorial Trillas. Pp. 171-173

- RODRIGUEZ, E. 2010. Clima, informe temático. Proyecto Mesozonificación Ecológica y Económica para el Desarrollo Sostenible de la selva de Huánuco, convenio entre el IIAP, DEVIDA. Iquitos - Perú
- ROSSKAMP R., ROBERT. 1997. Café orgánico guía para la caficultura ecológica. Proyecto café orgánico en talleres novella Publigráf. 171 p.
- RUIZ, J. 2010. Hormigas zampopas (*Atta cephalotes*) influyen positivamente en la biodiversidad vegetal de bosques húmedos tropicales. [En línea]: (https://www.researchgate.net/profile/Javier_Ruiz13/publication/272361953_Hormigas_zampopas_Atta_cephalotes_influyen_positivamente_en_la_biodiversidad_vegetal_de_bosques_humedos_tropicales/links/54e329850cf2d90c1d9c15bb/Hormigas-zampopas-Atta-cephalotes-influyen-positivamente-en-la-biodiversidad-vegetal-de-bosques-humedos-tropicales.pdf, documentos, del 09 de julio del 2018).
- SENAMHI. 2018. Servicio Nacional de Meteorología y Climatología del Perú- Información del tiempo y clima para Tingo María. [En línea]: (<https://senamhi.gob.pe/?p=pronostico-detalle-turistico&localidad=0025#dos>, documentos del 09 de julio 2018).
- TORRES, H.; ORTEGA, A. M.; ALCAZAR, J.; AMES, T.; PALOMINO, L. 1993. Control Biológico del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes spp.*) con *Beauveria brongniartii*. Impreso en la unidad de comunicación, CIP. Lima-Perú. 44p.

- VALDERRAMA, E. GIRALDO, C. MONTOYA, J. ARMBRECHT, F. CALLE, Z. 2006. Guía para el establecimiento y manejo de colonias artificiales de hormiga arriera *Atta cephalotes*. UNIVERSIDAD DEL VALLE. Cali-Colombia. Pp. 6.
- VALENCIA G., S. M. 2014. Efecto de microorganismos entomopatógenos y antagónicos como potenciales agentes de control biológico de hormiga arriera *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae). [En línea]. (<http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/8080/1/CB-0505894.pdf>, documento del 05 de octubre de 2017).
- VELEZ A., P. E.; POSADA F., F. J.; MARÍN M., P.; et al. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulación de Hongos Entomopatógenos. Cenicafe. Centro Nacional de Investigación de Café “Pedro Uribe Mejía”. Colombia – Caldas – Chinchilla. 37 p.
- ZAVALETA, L., VEGA, J., EGOÁVIL, G., GARRIDO, J., BRAVO, J. 2013. Patogenicidad de ocho aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de la hormiga coqui *Atta cephalotes* L. y del comején *Reticulitermes* sp. bajo condiciones de laboratorio. LV Convención Nacional de Entomología. Sociedad. Entomológica del Peru - Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima – Perú. Pp. 31

ANEXO

Anexo 1: Preparación de Agar Papa Dextrosa “Potato Dextrose Agar” (PDA)

➤ **Insumos:**

Trozos de papa pelada	250 g
Dextrosa	10 g
Agar	18 g
Agua destilada	Enrazar a 1000 ml.

- **Procedimiento:** Pesar 250 g de tubérculo de papa de buena calidad, lavarlo bien con agua corriente, luego pelar y partir los tubérculos en pedazos y cocione en 500 ml de agua destilada durante 1 hora (15 minutos en microondas). Después filtre a través de dos capas de gasa (el filtrado debe ser turbio, evite el filtrado claro). Seguidamente vierta el agar en 400 ml de agua destilada y caliente hasta que el agar se halla disuelto o fundido (agar chino), luego mezcle el filtrado obtenido de los tubérculos papa con el agar disuelto o fundido y vierta la dextrosa y mezcle. Enrace con agua destilada hasta 1000 ml y vierta el contenido en un matraz o envase de vidrio (botella de néctar con boca angosta) (debe de llenar los 2/3 del envase) tape la boca con algodón y recubra con papel bond la boca del matraz o botella y luego esterilizar en un autoclave durante 20 minutos a 121.5° C de temperatura y 15 Lbs. de presión.

Apéndice 2. Prueba de crecimiento micelial

Anexo A. Evaluación del crecimiento micelial en medio de cultivo PDA, de cada uno de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 25. Evaluación del crecimiento micelial del T₁ - *Beauveria bassiana* SENASA CCB-LE 2118 (siembra: 17/07/2014)

Días	Repetición	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
	Fecha					
3	20/07/2014	10	19	21	15	9
6	23/07/2014	231	81	208	95	243
9	26/07/2014	615	513	462	297	684
12	29/07/2014	948	916	863	447	908
15	01/08/2014	1165	1086	1038	596	1080
18	04/08/2014	1256	1191	1179	801	1134

Cuadro 26. Evaluación del crecimiento micelial del T₂ - *Beauveria bassiana* SENASA CCB-LE 2118 (siembra: 17/07/2014)

Días	Repetición	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
	Fecha					
3	18/07/2014	27	31	29	26	8
6	21/07/2014	52	57	52	54	37
9	24/07/2014	112	119	111	115	79
12	27/07/2014	187	191	196	193	144
15	30/07/2014	294	299	307	293	240
18	02/08/2014	442	445	443	431	368

Cuadro 27. Evaluación del crecimiento micelial del T₃ - *Paecilomyces fumososroseus* (siembra: 16/07/2014)

Días	Repetición					
	Fecha	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
3	19/07/2014	17	12	13	12	12
6	22/07/2014	50	36	40	30	33
9	25/07/2014	80	106	95	90	78
12	28/07/2014	141	178	157	130	128
15	31/07/2014	217	237	210	166	179
18	03/08/2014	307	297	290	229	254

Cuadro 28. Evaluación del crecimiento micelial del T₄ - *Beauveria Bassiana* UNAS (siembra: 15/07/2014)

Días	Repetición					
	Fecha	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
3	18/07/2014	6	11	30	15	21
6	21/07/2014	51	197	215	70	102
9	24/07/2014	155	357	405	192	285
12	27/07/2014	274	489	659	299	481
15	30/07/2014	367	629	845	428	661
18	02/08/2014	456	763	981	563	790

Cuadro 29. Evaluación del crecimiento micelial del T₅ - *Beauveria brongniartii*
(siembra: 15/07/2014)

Días	Repetición					
	Fecha	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
3	18/07/2014	15	10	9	15	12
6	21/07/2014	39	32	40	49	33
9	24/07/2014	80	113	93	95	193
12	27/07/2014	119	199	158	124	310
15	30/07/2014	149	265	218	133	425
18	02/08/2014	192	333	285	183	591

Cuadro 30. Evaluación del crecimiento micelial del T₆ - *Beauveria bassiana* CCB-
LE 265 SENASA (siembra: 16/07/2014)

Días	Repetición					
	Fecha	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
3	19/07/2014	14	17	14	14	15
6	22/07/2014	111	109	243	85	93
9	25/07/2014	393	273	1039	293	414
12	28/07/2014	526	742	1166	405	562
15	31/07/2014	637	907	1211	482	701
18	03/08/2014	703	985	1211	552	802

Cuadro 31. Evaluación del crecimiento micelial del T₇ - *Verticillium lecani* (siembra: 16/07/2014)

Días	Repetición					
	Fecha	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
3	19/07/2014	15	8	125	47	15
6	22/07/2014	42	30	443	107	48
9	25/07/2014	69	58	609	150	80
12	28/07/2014	102	91	683	190	112
15	31/07/2014	138	135	760	239	161
18	03/08/2014	197	203	837	301	222

Anexo B. Evaluación del crecimiento micelial en medio de cultivo PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 32. Registro del tercer día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	10	27	17	6	15	14	15
r ₂	19	31	12	11	10	17	8
r ₃	21	29	13	30	9	14	125
r ₄	15	26	12	15	15	14	47
r ₅	9	8	12	21	12	15	15

Cuadro 33. Registro del sexto día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	231	52	50	51	39	111	42
r ₂	81	57	36	197	32	109	30
r ₃	208	52	40	215	40	243	443
r ₄	95	54	30	70	49	85	107
r ₅	243	37	33	102	33	93	48

Cuadro 34. Registro del noveno, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	615	112	80	155	80	393	69
r ₂	513	119	106	357	113	273	58
r ₃	462	111	95	405	93	1039	609
r ₄	297	115	90	192	95	293	150
r ₅	684	79	78	285	193	414	80

Cuadro 35. Registro del doceavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	948	187	141	274	119	526	102
r ₂	916	191	178	489	199	742	91
r ₃	863	196	157	659	158	1166	683
r ₄	447	193	130	299	124	405	190
r ₅	908	144	128	481	310	562	112

Cuadro 36. Registro del quinceavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1165	294	217	367	149	637	138
r ₂	1086	299	237	629	265	907	135
r ₃	1038	307	210	845	218	1211	760
r ₄	596	293	166	428	133	482	239
r ₅	1080	240	179	661	425	701	161

Cuadro 37. Registro del dieciochoavo día, de crecimiento micelial en número de cuadrículas de los tratamientos en estudio.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1256	442	307	456	192	703	197
r ₂	1191	445	297	763	333	985	203
r ₃	1179	443	290	981	285	1211	837
r ₄	801	431	229	563	183	552	301
r ₅	1134	368	254	790	591	802	222

Anexo C. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) del crecimiento micelial en medio PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 38. Calculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación.

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.625	1.688	1.0625	0.375	0.9375	0.875	0.9375
r ₂	1.1875	1.938	0.75	0.6875	0.625	1.0625	0.5
r ₃	1.3125	1.813	0.8125	1.875	0.5625	0.875	7.8125
r ₄	0.9375	1.625	0.75	0.9375	0.9375	0.875	2.9375
r ₅	0.5625	0.5	0.75	1.3125	0.75	0.9375	0.9375

Cuadro 39. Cálculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	14.4375	3.25	3.125	3.1875	2.4375	6.9375	2.625
r ₂	5.0625	3.563	2.25	12.313	2	6.8125	1.875
r ₃	13	3.25	2.5	13.438	2.5	15.1875	27.688
r ₄	5.9375	3.375	1.875	4.375	3.0625	5.3125	6.6875
r ₅	15.1875	2.313	2.0625	6.375	2.0625	5.8125	3

Cuadro 40. Cálculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	38.4375	7	5	9.6875	5	24.5625	4.3125
r ₂	32.0625	7.438	6.625	22.313	7.0625	17.0625	3.625
r ₃	28.875	6.938	5.9375	25.313	5.8125	64.9375	38.063
r ₄	18.5625	7.188	5.625	12	5.9375	18.3125	9.375
r ₅	42.75	4.938	4.875	17.813	12.0625	25.875	5

Cuadro 41. Cálculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	59.25	11.69	8.8125	17.125	7.4375	32.875	6.375
r ₂	57.25	11.94	11.125	30.563	12.4375	46.375	5.6875
r ₃	53.9375	12.25	9.8125	41.188	9.875	72.875	42.688
r ₄	27.9375	12.06	8.125	18.688	7.75	25.3125	11.875
r ₅	56.75	9	8	30.063	19.375	35.125	7

Cuadro 42. Cálculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	72.8125	18.38	13.563	22.938	9.3125	39.8125	8.625
r ₂	67.875	18.69	14.813	39.313	16.5625	56.6875	8.4375
r ₃	64.875	19.19	13.125	52.813	13.625	75.6875	47.5
r ₄	37.25	18.31	10.375	26.75	8.3125	30.125	14.938
r ₅	67.5	15	11.188	41.313	26.5625	43.8125	10.063

Cuadro 43. Cálculo del área total ($AT = NTC \times 0.0625$) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	78.5	27.63	19.188	28.5	12	43.9375	12.313
r ₂	74.4375	27.81	18.563	47.688	20.8125	61.5625	12.688
r ₃	73.6875	27.69	18.125	61.313	17.8125	75.6875	52.313
r ₄	50.0625	26.94	14.313	35.188	11.4375	34.5	18.813
r ₅	70.875	23	15.875	49.375	36.9375	50.125	13.875

Anexo D. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) del crecimiento micelial en medio PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación,

Cuadro 44. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.44603	0.733	0.5816	0.3455	0.546274	0.527751	0.5463
r ₂	0.61481	0.785	0.4886	0.4678	0.446031	0.581553	0.3989
r ₃	0.64636	0.76	0.5086	0.7725	0.423142	0.527751	1.577
r ₄	0.54627	0.719	0.4886	0.5463	0.546274	0.527751	0.967
r ₅	0.42314	0.399	0.4886	0.6464	0.488602	0.546274	0.5463

Cuadro 45. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	2.14373	1.017	0.9974	1.0073	0.88084	1.486026	0.9141
r ₂	1.26943	1.065	0.8463	1.9797	0.797884	1.472577	0.7725
r ₃	2.03421	1.017	0.8921	2.0682	0.892062	2.19871	2.9687
r ₄	1.37476	1.036	0.7725	1.1801	0.987331	1.300392	1.459
r ₅	2.19871	0.858	0.8103	1.4245	0.810255	1.360211	0.9772

Cuadro 46. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	3.49786	1.493	1.2616	1.756	1.261566	2.796154	1.1716
r ₂	3.19465	1.539	1.4522	2.665	1.499354	2.330484	1.0742
r ₃	3.0317	1.486	1.3748	2.8385	1.360211	4.546452	3.4808
r ₄	2.43077	1.513	1.3381	1.9544	1.374759	2.414341	1.7275
r ₅	3.68887	1.254	1.2457	2.3812	1.959492	2.869888	1.2616

Cuadro 47. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	4.34279	1.929	1.6748	2.3347	1.538645	3.234877	1.4245
r ₂	4.26887	1.949	1.8818	3.119	1.989717	3.842083	1.3455
r ₃	4.14353	1.975	1.7673	3.6208	1.772937	4.816306	3.6862
r ₄	2.98208	1.959	1.6082	2.4389	1.570636	2.838523	1.9442
r ₅	4.25018	1.693	1.5958	3.0934	2.483394	3.343744	1.4927

Cuadro 48. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	4.81424	2.418	2.0778	2.7021	1.721702	3.559873	1.6569
r ₂	4.64815	2.439	2.1714	3.5374	2.296084	4.247843	1.6388
r ₃	4.54426	2.471	2.044	4.1001	2.082539	4.908366	3.8884
r ₄	3.4434	2.414	1.8173	2.918	1.626637	3.096623	2.1805
r ₅	4.63529	2.185	1.8871	3.6263	2.907765	3.734426	1.7897

Cuadro 49. Cálculo del radio de crecimiento en "cm" ($A_{\odot} = AT = \pi \cdot r^2$) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	4.99873	2.965	2.4713	3.0119	1.954409	3.739749	1.9797
r ₂	4.86767	2.975	2.4308	3.8961	2.573872	4.426729	2.0096
r ₃	4.84308	2.969	2.4019	4.4177	2.381153	4.908366	4.0806
r ₄	3.99191	2.928	2.1344	3.3467	1.908053	3.313862	2.4471
r ₅	4.74976	2.706	2.2479	3.9644	3.42893	3.994404	2.1016

Anexo E. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) en medio PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 50. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.14868	0.244	0.1939	0.1152	0.182091	0.175917	0.1821
r ₂	0.20494	0.262	0.1629	0.1559	0.148677	0.193851	0.133
r ₃	0.21545	0.253	0.1695	0.2575	0.141047	0.175917	0.5257
r ₄	0.18209	0.24	0.1629	0.1821	0.182091	0.175917	0.3223
r ₅	0.14105	0.133	0.1629	0.2155	0.162867	0.182091	0.1821

Cuadro 51. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.35729	0.17	0.1662	0.1679	0.146807	0.247671	0.1523
r ₂	0.21157	0.177	0.141	0.3299	0.132981	0.24543	0.1288
r ₃	0.33904	0.17	0.1487	0.3447	0.148677	0.366452	0.4948
r ₄	0.22913	0.173	0.1288	0.1967	0.164555	0.216732	0.2432
r ₅	0.36645	0.143	0.135	0.2374	0.135043	0.226702	0.1629

Cuadro 52. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.16595	0.498	0.4205	0.5853	0.420522	0.932051	0.3905
r ₂	1.06488	0.513	0.4841	0.8883	0.499785	0.776828	0.3581
r ₃	1.01057	0.495	0.4583	0.9462	0.453404	1.515484	1.1603
r ₄	0.81026	0.504	0.446	0.6515	0.458253	0.80478	0.5758
r ₅	1.22962	0.418	0.4152	0.7937	0.653164	0.956629	0.4205

Cuadro 53. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
r	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.3619	0.161	0.1396	0.1946	0.12822	0.269573	0.1187
r ₂	0.35574	0.162	0.1568	0.2599	0.16581	0.320174	0.1121
r ₃	0.34529	0.165	0.1473	0.3017	0.147745	0.401359	0.3072
r ₄	0.24851	0.163	0.134	0.2032	0.130886	0.236544	0.162
r ₅	0.35418	0.141	0.133	0.2578	0.20695	0.278645	0.1244

Cuadro 54. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación

	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
	0.32095	0.161	0.1385	0.1801	0.11478	0.237325	0.1105
	0.30988	0.163	0.1448	0.2358	0.153072	0.28319	0.1093
	0.30295	0.165	0.1363	0.2733	0.138836	0.327224	0.2592
	0.22956	0.161	0.1212	0.1945	0.108442	0.206442	0.1454
	0.30902	0.146	0.1258	0.2418	0.193851	0.248962	0.1193

Cuadro 55. Cálculo del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	0.27771	0.165	0.1373	0.1673	0.108578	0.207764	0.11
r ₂	0.27043	0.165	0.135	0.2164	0.142993	0.245929	0.1116
r ₃	0.26906	0.165	0.1334	0.2454	0.132286	0.272687	0.2267
r ₄	0.22177	0.163	0.1186	0.1859	0.106003	0.184103	0.1359
r ₅	0.26388	0.15	0.1249	0.2202	0.190496	0.221911	0.1168

Anexo F. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) en medio PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 56. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.07176	1.115	1.0926	1.056	1.08724	1.084397	1.0872
r ₂	1.0977	1.123	1.0784	1.0751	1.071763	1.092635	1.0644
r ₃	1.10248	1.119	1.0814	1.1214	1.068198	1.084397	1.2352
r ₄	1.08724	1.113	1.0784	1.0872	1.08724	1.084397	1.1499
r ₅	1.0682	1.064	1.0784	1.1025	1.078363	1.08724	1.0872

Cuadro 57. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.16503	1.081	1.0799	1.0807	1.070891	1.116992	1.0735
r ₂	1.10071	1.085	1.0682	1.1532	1.064416	1.115988	1.0624
r ₃	1.15717	1.081	1.0718	1.1596	1.071763	1.168953	1.2226
r ₄	1.10866	1.083	1.0624	1.0939	1.079146	1.103056	1.115
r ₅	1.16895	1.069	1.0654	1.1124	1.065384	1.107566	1.0784

Cuadro 58. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.47172	1.224	1.1919	1.2591	1.191856	1.389983	1.1792
r ₂	1.43697	1.23	1.2182	1.3742	1.224657	1.332977	1.1654
r ₃	1.41794	1.223	1.2076	1.3951	1.205572	1.586028	1.4698
r ₄	1.34546	1.226	1.2025	1.2851	1.207581	1.343421	1.2553
r ₅	1.49319	1.191	1.1896	1.3393	1.285754	1.398796	1.1919

Cuadro 59. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.167	1.077	1.0675	1.093	1.062177	1.126753	1.0577
r ₂	1.16436	1.078	1.0756	1.1225	1.079727	1.148988	1.0546
r ₃	1.15987	1.079	1.0711	1.1409	1.071329	1.18379	1.1433
r ₄	1.11737	1.079	1.0649	1.0969	1.063431	1.112	1.078
r ₅	1.16369	1.068	1.0644	1.1215	1.098613	1.130772	1.0604

Cuadro 60. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.14933	1.078	1.067	1.0863	1.055831	1.112351	1.0538
r ₂	1.1445	1.078	1.0699	1.1117	1.073812	1.13278	1.0532
r ₃	1.14147	1.079	1.066	1.1284	1.067163	1.152052	1.1222
r ₄	1.10886	1.077	1.0588	1.0929	1.052826	1.098381	1.0702
r ₅	1.14412	1.07	1.061	1.1143	1.092635	1.11757	1.058

Cuadro 61. Transformación a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación

r	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	1.13036	1.079	1.0664	1.0804	1.05289	1.098983	1.0536
r ₂	1.12713	1.079	1.0654	1.1029	1.069108	1.116212	1.0543
r ₃	1.12653	1.079	1.0646	1.116	1.064089	1.128134	1.1076
r ₄	1.10534	1.078	1.0576	1.089	1.051667	1.088165	1.0658
r ₅	1.12422	1.073	1.0606	1.1046	1.091099	1.105401	1.0568

Anexo G. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) en medio PDA de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 62. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al tercer día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.	
Tratamiento	6	0.0083	0.00138663	ns	1.52	2.44
Error Experimental	28	0.0256	0.00091347			
Total	34					

CV = 2.76%

ns: no existe significancia estadística.

* : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Cuadro 63. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al sexto día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	0.0240	0.00400532 *	3.76	2.44
Error Experimental	28	0.0299	0.0010663		
Total	34				

CV = 2.96%

ns: no existe significancia estadística. * : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Cuadro 64. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al noveno día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	0.0428	0.007126 *	8.91	2.44
Error Experimental	28	0.0224	0.000799		
Total	34				

CV = 2.55%

ns: no existe significancia estadística. * : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Cuadro 65. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al doceavo día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	0.0372	0.006192 *	13.37	2.44
Error Experimental	28	0.0130	0.000463		
Total	34				

CV = 1.95%

ns: no existe significancia estadística. * : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Cuadro 66. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al quinceavo día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	0.0260	0.004337 *	14.34	2.44
Error Experimental	28	0.0085	0.000302		
Total	34				

CV = 1.59%

ns: no existe significancia estadística. * : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Cuadro 67. Análisis de Varianza ($\alpha = 0.05$) de los datos transformados a la $\sqrt{(x+1)}$ del ritmo promedio de crecimiento (RPC) de los tratamientos en estudio, al dieciochoavo día de evaluación

Fuente de variación	G.L.	SC	CM	F.Cal.	F.Tab.
Tratamiento	6	0.0263	0.004389 ns	0.03	2.44
Error Experimental	28	4.7515	0.169695		
Total	34				

CV = 45.59%

ns: no existe significancia estadística. * : significancia estadística de 5 % de probabilidad

Anexo H. Valores de los radios promedio de crecimiento micelial, de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Cuadro 68. Valores de los radios promedio de crecimiento micelial, de los tratamientos en estudio, al 3^{er}, 6^{to}, 9^{no}, 12^{avo}, 15^{avo} y 18^{avo} día de evaluación.

Días	Tratamientos						
	BB-2118	MA-302	P. fum	BB-UNAS	B rogniartii	BB-265	V. lecani
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
3	0.5	0.7	0.5	0.6	0.5	0.5	0.8
6	1.8	1.0	0.9	1.5	0.9	1.6	1.4
9	3.2	1.5	1.3	2.3	1.5	3.0	1.7
12	4.0	1.9	1.7	2.9	1.9	3.6	2.0
15	4.4	2.4	2.0	3.4	2.1	3.9	2.2
18	4.7	2.9	2.3	3.7	2.4	4.1	2.5
r_x	4.7	2.9	2.3	3.7	2.4	4.1	2.5
RPC_t	0.47	0.29	0.23	0.37	0.24	0.41	0.25
R^2_t	0.929	0.894	0.985	0.981	0.989	0.963	0.945
σ_{RPC_t}				0.092			
Promedio RPC				0.324			
C.V. $_{RPC_t}$				28.42%			

r_x : Radio promedio / R^2_t : Coeficiente de determinación de los tratamientos / σ_{RPC_t} : Desviación estándar del RPC_t / C.V. $_{RPC_t}$:

Coeficiente de varianza del RPC_t

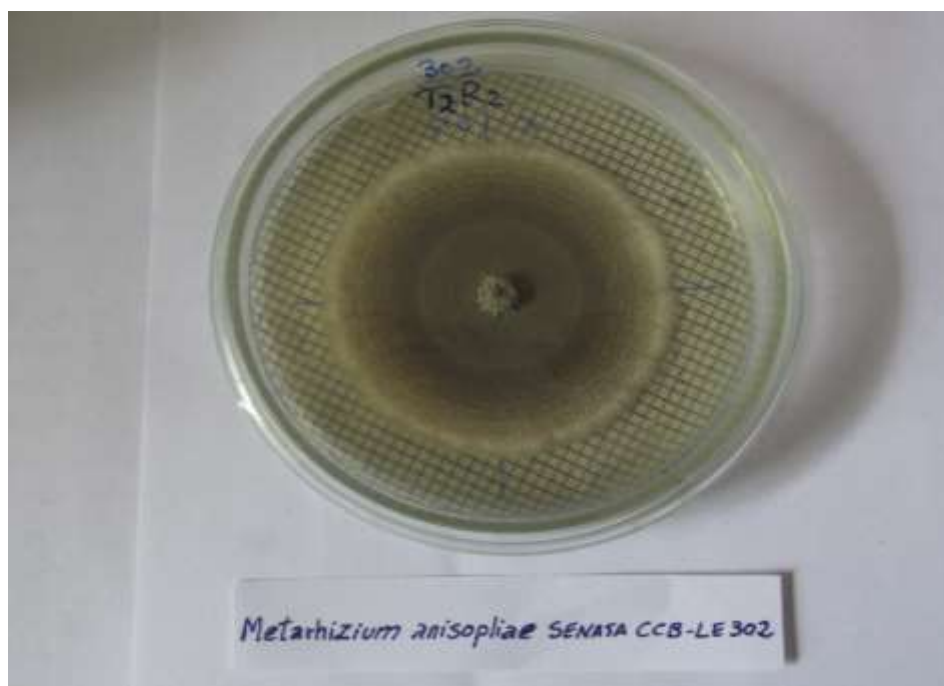


Figura 24. Conteo de cuadrícula, vista frontal

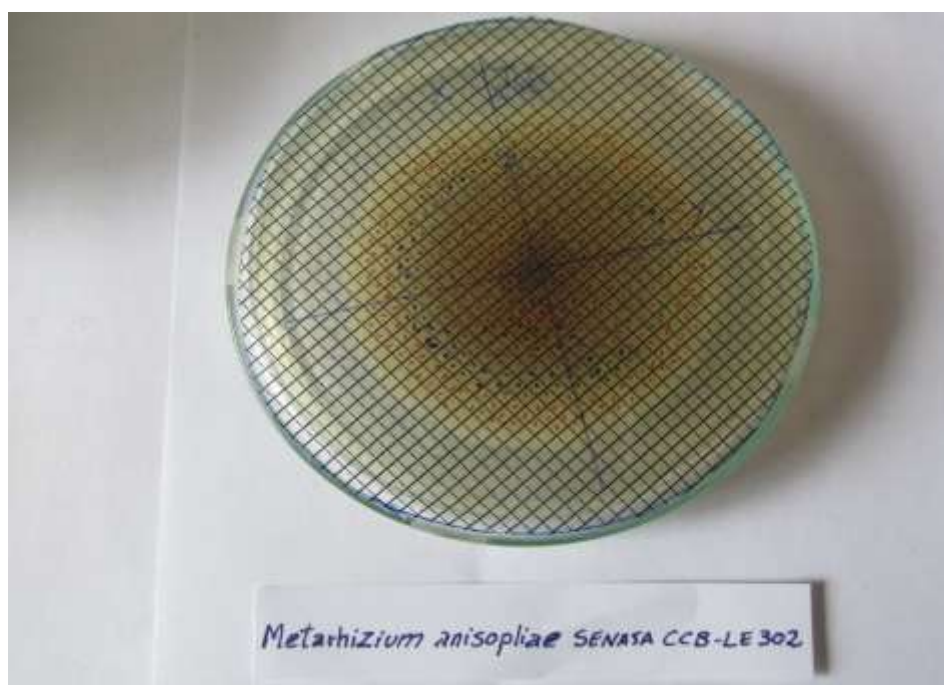


Figura 25. Conteo de cuadrícula vista al reverso.

Anexo I. Determinación de la concentración de conidias de los hongos entomopatógenos

Cuadro 69. Cuadro resumen de la concentración de conidias por gamo de arroz de los tratamientos en estudio

Repetición	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	2.94E+10	4.71E+10	3.02E+10	5.83E+10	3.76E+10	2.45E+10	1.58E+10
r ₂	2.42E+10	4.58E+10	3.06E+10	5.28E+10	4.02E+10	2.48E+10	1.64E+10
r ₃	2.80E+10	4.92E+10	3.20E+10	6.42E+10	3.66E+10	2.60E+10	1.60E+10
Suma	8.16E+10	1.42E+11	9.28E+10	1.75E+11	1.14E+11	7.53E+10	4.82E+10
Promedio	2.72E+10	4.74E+10	3.09E+10	5.84E+10	3.81E+10	2.51E+10	1.61E+10



Figura 26. Crecimiento de los tratamientos en estudio en arroz.



Figura 27. Cámara de Neubauer marca Marienfeld de procedencia alemana



Figura 28. Conteo de conidias, vertiendo alícuota de la suspensión del hongo entomopatógeno.



Figura 29. Conteo de conidias a través de la cámara Neubauer con el microscopio conectada al computador.



Figura 30. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *B. bassiana* tratamiento T₁ (BB – 2118).

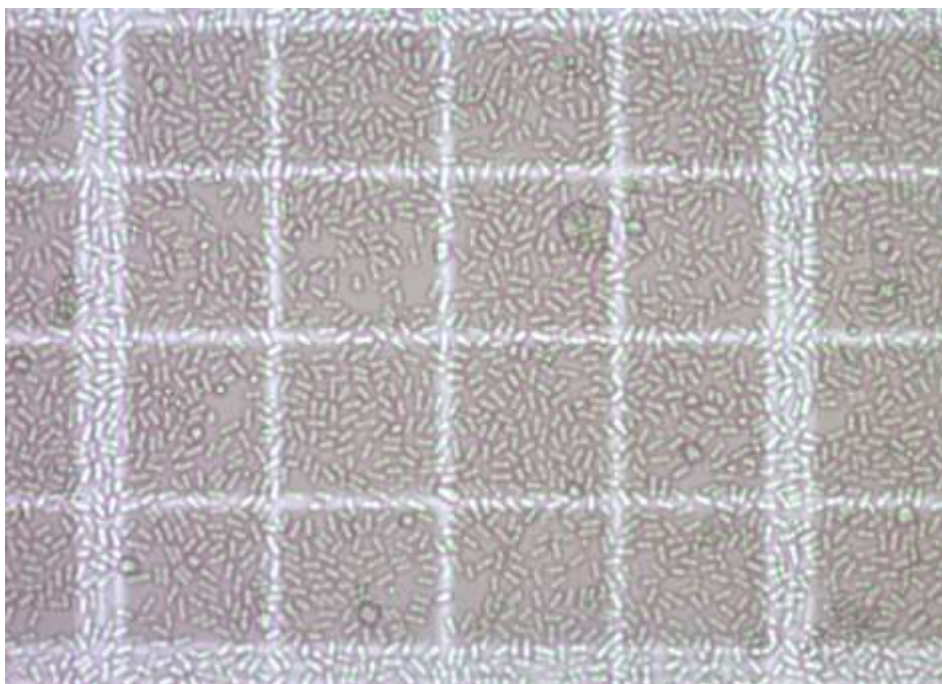


Figura 31. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *M. anisopliae* del tratamiento T₂ (MA-302).

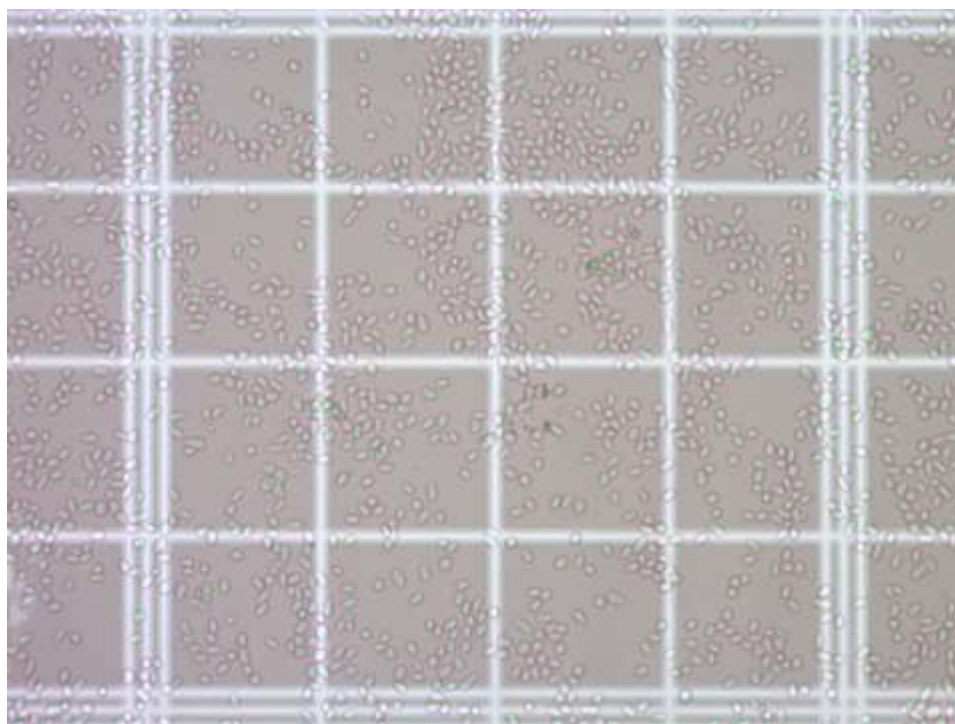


Figura 32. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *P. fumosoroseus* tratamiento T₃ (PL – SENASA).

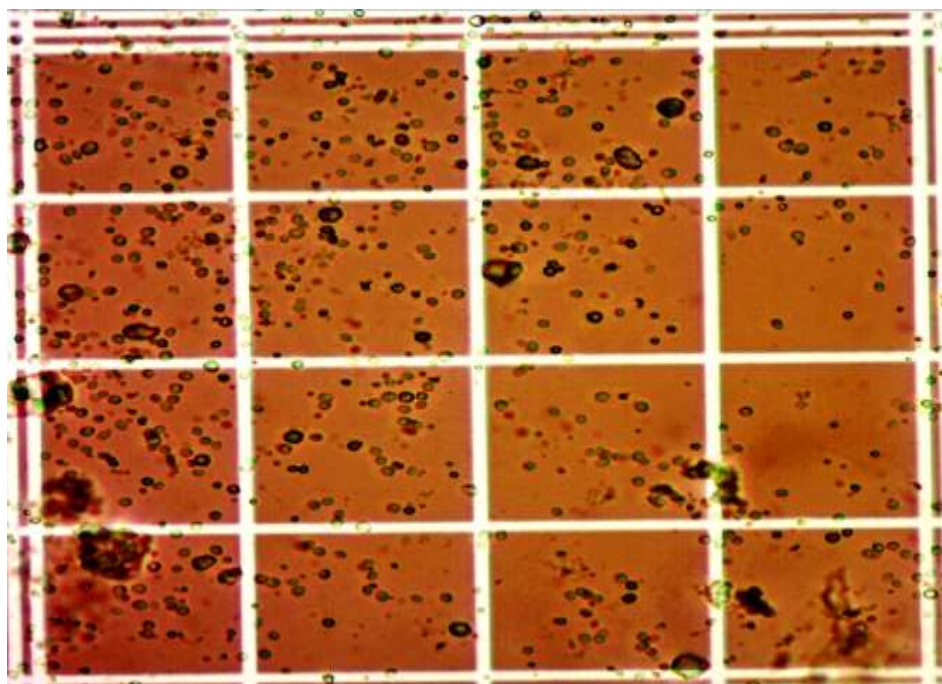


Figura 33. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *B. bassiana* del tratamiento T₄ (BB-UNAS).



Figura 34. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *B. brongniartii* tratamiento T₅ (BBr).

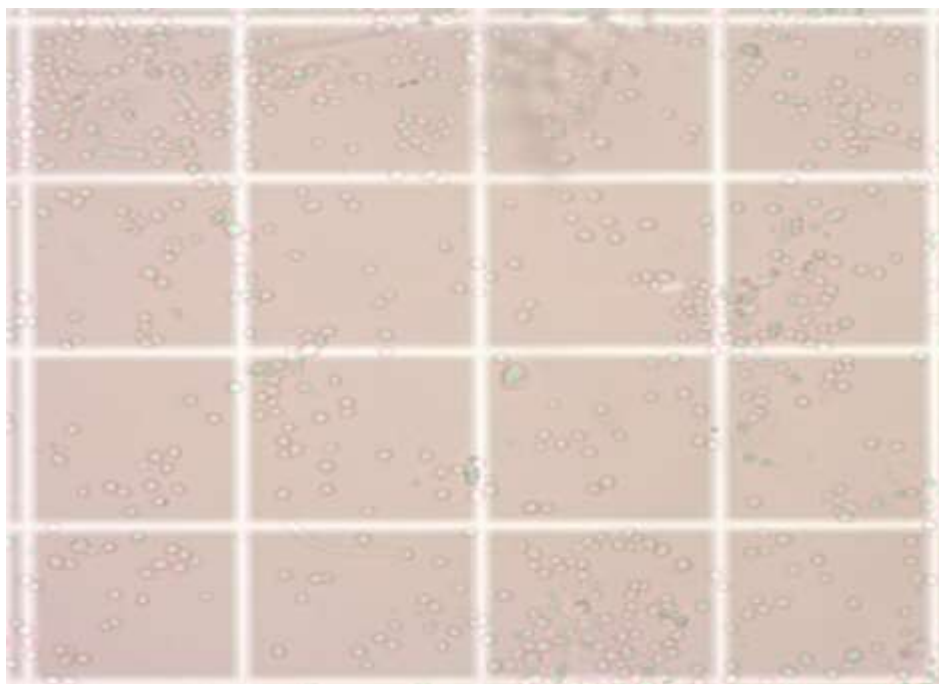


Figura 35. Conteo de conidia en la cámara de neubauer de los hongos *B. bassiana* del tratamiento T₆ (BB-265).

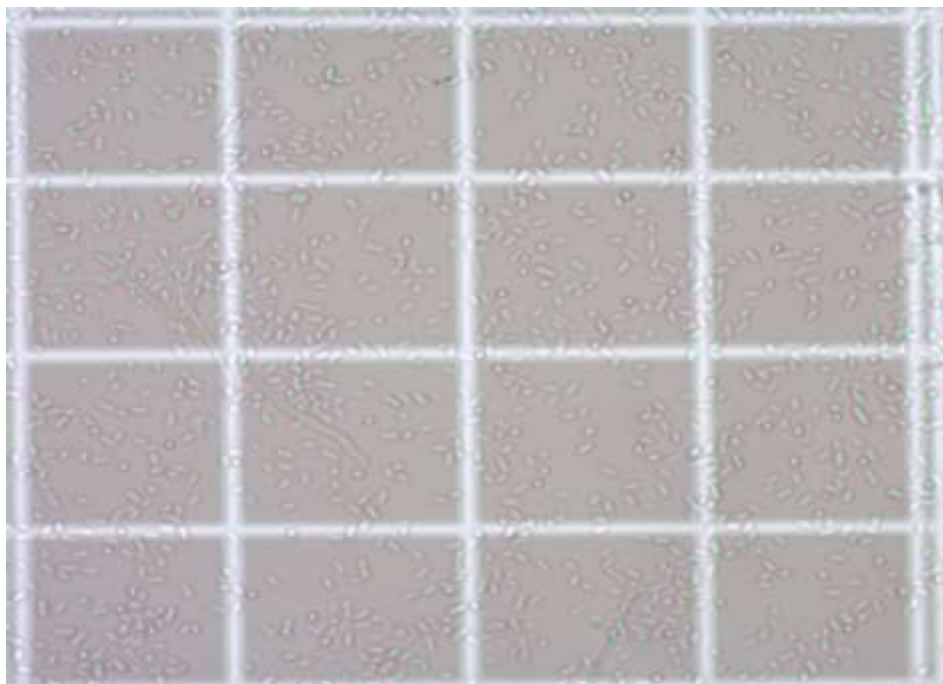


Figura 36. Conteo de conidia en la cámara de Neubauer del hongo *V. lecani* del tratamiento T₇ (VL-SENASA).

Anexo B. Determinación del TL₅₀ de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Cuadro 73. Cálculo del TL₅₀ de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Días	Horas	Tratamientos																																															
		T ₁		T ₂		T ₃		T ₄		T ₅		T ₆		T ₇		T ₈																																	
		BB-2118					MA-302					PL-SENASA					BB-UNAS					BBr					BB-265					VL-SENASA					Testigo												
		r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅								
1	24	1	1	1	2	3	8	1	1	1	1	1	5	0	1	0	0	1	2	5	5	3	2	6	21	1	2	0	2	0	5	3	0	4	1	1	9	1	0	3	3	2	9						
2	48	2	3	5	10	7	27	6	9	6	2	5	28	10	10	8	9	7	44	8	10	8	7	6	39	10	10	8	8	9	45	10	1	10	1	4	26	5	1	3	7	10	26						
3	72	9	8	10	10	10	47	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	9	49	10	10	10	10	10	50	10	6	10	8	10	44	10	10	7	10	10	47						
4	96	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	9	10	49	10	10	9	10	10	49						
5	120	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50	10	10	10	10	10	50						
Subtotal		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10		10	10	10	10	10							
Total		50					50					50					50					50					50					0																	
		a	8	d	0	a	5	d	0	a	2	d	0	a	21	d	0	a	5	d	0	a	9	d	0	a	9	d	0	a	9	d	0	a	0	d	0												
		b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	25	X	b	0	X															
		c	27	e	24	c	28	e	24	c	44	e	24	c	39	e	24	c	45	e	24	c	26	e	24	c	26	e	24	c	26	e	24	c	0	e	24												
		TL50	21.47			TL50	20.9			TL51	13.1			TL50	5.33			TL52	12			TL51	22.588			TL53	22.588			TL52	0																		
		45.5				44.9				37.1				29.3				36.0				46.6				46.6				0																			

Anexo C. Determinación del tiempo en hora de la mortalidad, inicio del cubrimiento micelial (esporulación) y cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Cuadro 75. Cálculo del tiempo (horas) de la mortalidad de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Horas	T ₁					T ₂					T ₃					T ₄					T ₅					T ₆					T ₇					T ₈				
	BB-2118					MA-302					PF-SENASA					BB-UNAS					BBr					BB-265					VL-SENASA					Testigo				
	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅	r ₁	r ₂	r ₃	r ₄	r ₅
24	24	24	24	48	72	24	24	24	24	24	0	24	0	0	24	120	120	72	48	144	24	48	0	48	0	72	0	96	24	24	24	0	72	72	48	0	0	0	0	0
48	48	96	192	384	192	240	384	240	48	192	480	432	384	432	288	144	240	240	240	0	432	384	384	288	432	336	48	288	0	144	192	48	0	192	384	0	0	0	0	0
72	504	360	360	0	216	288	72	288	576	360	0	0	144	72	216	144	0	144	216	216	0	0	144	144	72	0	360	0	504	432	360	648	288	216	0	0	0	0	0	0
96	96	192	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0	0	384	0	96	0	0	0	192	0	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	0
Suma	672	672	576	432	480	552	480	552	648	576	480	456	528	504	528	408	360	456	504	456	456	432	528	480	504	408	792	384	744	600	576	696	672	480	432	0	0	0	0	0
X Horas	67.2	67.2	57.6	43.2	48.0	55.2	48.0	55.2	64.8	57.6	48.0	45.6	52.8	50.4	52.8	40.8	36.0	45.6	50.4	45.6	45.6	43.2	52.8	48.0	50.4	40.8	79.2	38.4	74.4	60.0	57.6	69.6	67.2	48.0	43.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
X Dias	2.8	2.8	2.4	1.8	2	2.3	2	2.3	2.7	2.4	2	1.9	2.2	2.1	2.2	1.7	1.5	1.9	2.1	1.9	1.9	1.8	2.2	2	2.1	1.7	3.3	1.6	3.1	2.5	2.4	2.9	2.8	2	1.8	0	0	0	0	0

Cuadro 77. Cálculo del tiempo (horas) del cubrimiento micelial de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Horas	T ₁					T ₂					T ₃					T ₄					T ₅					T ₆					T ₇						
	BB-2118					MA-302					PF-SENASA					BB-UNAS					BBr					BB-265					VL-SENASA						
	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅	f ₁	f ₂	f ₃	f ₄	f ₅		
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	144	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
96	96	192	0	0	0	0	0	0	0	0	96	0	288	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
120	120	240	240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	480	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
144	432	288	288	288	144	0	0	0	0	0	288	0	144	0	144	0	0	0	0	0	0	144	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
168	168	0	840	336	0	0	0	0	0	0	672	0	0	0	0	0	0	0	168	840	1512	1008	504	0	0	0	0	0	0	0	0	0	504	0	0		
192	0	192	0	768	0	0	0	0	0	192	192	384	0	192	0	0	0	0	192	768	0	0	1152	576	0	0	0	0	576	0	0	192	0	0	0		
216	0	0	0	0	0	0	0	0	0	216	0	432	0	0	0	0	0	0	0	0	0	648	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	216	0		
240	960	240	0	480	720	0	0	0	0	240	480	960	0	2160	720	0	0	0	0	480	240	0	0	0	720	0	0	0	240	0	0	0	0	0	0		
264	0	264	0	0	528	264	264	264	1056	264	0	0	0	0	528	1056	0	0	0	264	0	0	0	264	1056	1320	0	0	0	792	0	528	264	0	1056	0	
288	0	288	288	0	1152	864	576	288	576	288	0	288	0	0	288	288	1152	864	288	288	0	0	0	0	0	576	864	1152	1152	288	576	0	0	864	288	0	
312	0	0	0	0	0	312	0	624	312	0	0	312	0	0	0	624	312	312	312	312	0	0	0	0	0	312	0	624	624	312	312	0	624	624	624	0	0
336	0	0	0	0	0	336	672	1008	336	1008	0	0	0	0	1008	336	336	672	672	672	0	0	0	0	0	672	1344	1344	336	0	1680	1008	1008	672	0	0	
360	0	0	0	0	0	720	720	0	720	720	0	0	0	0	0	360	1440	1440	1080	360	0	0	0	0	0	0	1080	0	0	720	720	1800	0	720	720	0	
384	0	0	0	0	0	768	1152	1152	0	0	0	0	0	0	0	384	0	0	1152	0	0	0	0	0	0	0	0	0	384	0	0	0	0	384	0	0	
408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	408	0	0	0	0	0	0	0	0	
Suma	1776	1704	1656	1872	2544	3264	3384	3336	3000	2928	1728	2376	1056	2352	2688	3048	3240	3288	3504	2736	1848	1656	1776	1920	2352	2880	3288	3120	3144	2688	3288	3336	2592	3264	2904	0	
X	177.	170.	165.	187.	254.	326.	338.	333.	300.	292.	172.	237.	105.	235.	268.	304.	324.	328.	350.	273.	184.	165.	177.	192.	235.	288.	328.	312.	314.	268.	328.	333.	259.	326.	290.	0	
Horas	6	4	6	2	4	4	4	6	0	8	8	6	6	2	8	8	0	8	4	6	8	6	6	0	2	0	8	0	4	8	8	6	2	4	4	0	
X Días	7.4	7.1	6.9	7.8	10.6	13.6	14.1	13.9	12.5	12.2	7.2	9.9	4.4	9.8	11.2	12.7	13.5	13.7	14.6	11.4	7.7	6.9	7.4	8	9.8	12	13.7	13	13.1	11.2	13.7	13.9	10.8	13.6	12.1	0	

Anexo D. Indicadores de patogenicidad determinados a partir de las evaluaciones de patogenicidad, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coquí *Atta cephalotes* en 17 días de evaluación.

Cuadro 78. Etapa de inoculación a muerte de *A. cephalotes*, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coquí, en 17 días de evaluación.

Repeticiones	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	67.2	55.2	48	40.8	45.6	40.8	57.6
r ₂	67.2	48	45.6	36	43.2	79.2	69.6
r ₃	57.6	55.2	52.8	45.6	52.8	38.4	67.2
r ₄	43.2	64.8	50.4	50.4	48	74.4	48
r ₅	48	57.6	52.8	45.6	50.4	60	43.2
Suma	283.2	280.8	249.6	218.4	240	292.8	285.6
Promedio (Horas)	56.64	56.16	49.92	43.68	48	58.56	57.12
Promedio (Días)	2.36	2.34	2.08	1.82	2	2.44	2.38

Cuadro 79. Inicio de la producción de micelio en horas de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coquí, en 17 días de evaluación.

Repeticiones	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	112.8	208.8	76.8	158.4	127.2	122.4	124.8
r ₂	96	223.2	103.2	180	108	189.6	139.2
r ₃	103.2	237.6	79.2	216	88.8	194.4	127.2
r ₄	105.6	170.4	93.6	158.4	115.2	189.6	139.2
r ₅	98.4	156	103.2	127.2	112.8	156	110.4
Suma	516	996	456	840	552	852	640.8
Promedio (Horas)	103.2	199.2	91.2	168	110.4	170.4	128.16
Promedio (Días)	4.3	8.3	3.8	7	4.6	7.1	5.34

Cuadro 80. Muerte a producción de micelio en horas de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.

Repeticiones	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	45.6	153.6	28.8	117.6	81.6	81.6	67.2
r ₂	28.8	175.2	57.6	144	64.8	110.4	69.6
r ₃	45.6	182.4	26.4	170.4	36	156	60
r ₄	62.4	105.6	43.2	108	67.2	115.2	91.2
r ₅	50.4	98.4	50.4	81.6	62.4	96	67.2
Suma	232.8	715.2	206.4	621.6	312	559.2	355.2
Promedio (Horas)	46.56	143.04	41.28	124.32	62.4	111.84	71.04
Promedio (Días)	1.94	5.96	1.72	5.18	2.6	4.66	2.96

Cuadro 81. Inicio del cubrimiento micelial en horas, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, en 17 días de evaluación.

Repeticiones	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	177.6	326.4	172.8	304.8	184.8	288	328.8
r ₂	170.4	338.4	237.6	324	165.6	328.8	333.6
r ₃	165.6	333.6	105.6	350.4	177.6	312	259.2
r ₄	187.2	300	268.8	350.4	192	314.4	326.4
r ₅	254.4	292.8	268.8	273.6	235.2	268.8	290.4
Suma	955.2	1591.2	1053.6	1603.2	955.2	1512	1538.4
Promedio (Horas)	191.04	318.24	210.72	320.64	191.04	302.4	307.68
Promedio (Días)	7.96	13.26	8.78	13.36	7.96	12.6	12.82

Cuadro 82. Muerte a cubrimiento micelial, de los hongos entomopatógenos (tratamientos en estudio) sobre la hormiga coqui, *en* 17 días de evaluación.

Repeticiones	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
	BB-2118	MA-302	PF-SENASA	BB-UNAS	BBr	BB-265	VL-SENASA
r ₁	110.4	271.2	124.8	264	139.2	247.2	271.2
r ₂	103.2	290.4	192	288	122.4	249.6	264
r ₃	108	278.4	52.8	304.8	124.8	273.6	192
r ₄	144	235.2	218.4	300	144	240	278.4
r ₅	206.4	235.2	216	228	184.8	208.8	247.2
Suma	672	1310.4	804	1384.8	715.2	1219.2	1252.8
Promedio (Horas)	134.4	262.08	160.8	276.96	143.04	243.84	250.56
Promedio (Días)	5.6	10.92	6.7	11.54	5.96	10.16	10.44



Figura 37. Evaluación de la prueba de patogenicidad, Inspección visual



Figura 38. Evaluación de la prueba de patogenicidad, Verificación de mortandad.



Figura 39. Hormigas *A. cephalotes* muertas a. Hormigas con inicio de crecimiento micelial

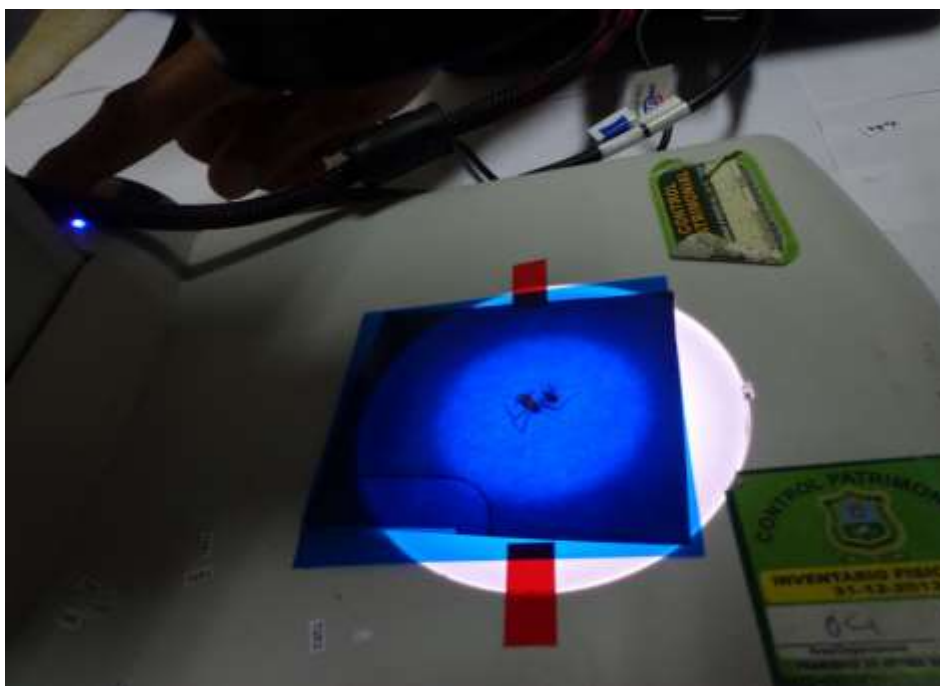


Figura 40. Hormigas *A. cephalotes* muertas. Observación en el estereoscopio



Figura 41. Observación de las hormigas muertas en el estereoscopio y laptop



Figura 42. Verificación de la patogenicidad de los hongos entomopatógenos sobre la hormiga coquí



Figura 43. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. *B. bassiana* tratamiento T₁ (BB – 2118)



Figura 44. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. *M. anisopliae* del tratamiento T₂ (MA-302).



Figura 45. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. a. *P. fumosoroseus* tratamiento T₃ (PL – SENASA) y



Figura 46. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. *B. bassiana* del tratamiento T₄ (BB-UNAS).



Figura 47. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. a. *B. brongniartii* tratamiento T₅ (BBr)



Figura 48. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. *B. bassiana* del tratamiento T₆ (BB-265).



Figura 49. Cubrimiento micelial sobre *A. cephalotes* L. del hongo *V. lecani* del tratamiento T₇ (VL-SENASA).

Anexo G. Plano del Laboratorio de Entomopatógeno de la Universidad Nacional Agraria de la Selva

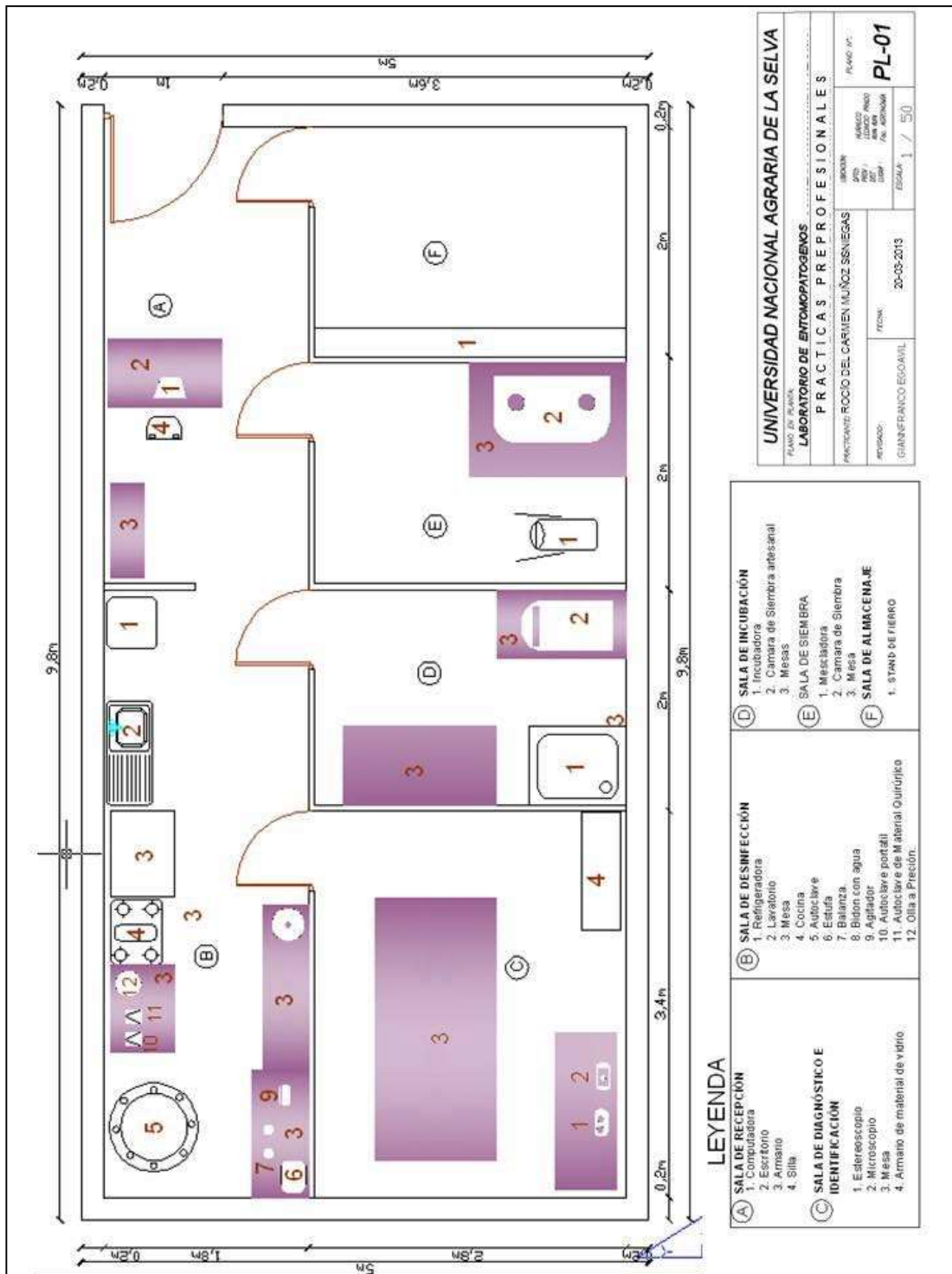


Figura 50. Plano del Laboratorio de entomopatógenos de la Facultad de Agronomía de la UNAS.