

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

ESCUELA DE POSTGRADO



**ENSAYO DE PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* EN INSECTOS *Scarabaeidae* QUE AFECTAN EL ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CAJAMARCA**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS AGRARIAS, MENCIÓN EN  
PROTECCIÓN DE CULTIVOS**

**Autor: Br. RONALD LEONARDO LLIQUE MORALES**

**Asesor: Dr. JUAN CARLOS CABRERA LA ROSA**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2020**

**MIEMBROS DEL JURADO**

---

**DR. MILTON AMÉRICO HUANES MARIÑOS**  
**PRESIDENTE**

---

**DR. JOSÉ GUILLERMO GONZÁLEZ CABEZA**  
**SECRETARIO**

---

**DRA. BLANCA FLOR ROBLES PASTOR**  
**VOCAL**

---

**DR. JUAN CARLOS CABRERA LA ROSA**  
**ASESOR**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a la memoria de mi amada madre,  
Carmen Rosa Morales Goicochea.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y a la Virgen María, por su permanente protección y guía en mi vida y proyectos personales y académicos.

Mi eterna gratitud al Dr. Juan Carlos Cabrera La Rosa por su permanente e incondicional apoyo en mis estudios y en este trabajo de investigación.

A la empresa SOLAGRO SAC por su apoyo, orientaciones y provisión de material biológico para este trabajo de investigación. Mi sincero reconocimiento también por sus aportes a la agricultura nacional.

A la Ing. Hilda Virginia Gómez Ramírez de la Sub Dirección de Control Biológico del SENASA por sus orientaciones técnicas y apoyo permanente en este trabajo de investigación.

A la Dra. Blanca Robles Pastor por sus orientaciones técnicas en el análisis de datos.

## RESUMEN

### **ENSAYO DE PATOGENICIDAD DE *Beauveria bassiana* EN INSECTOS *Scarabaeidae* QUE AFECTAN EL ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) EN CAJAMARCA**

En la provincia de Cajamarca (Perú) en el cultivo de arándano, se presentan severas infestaciones de larvas *Scarabaeidae* contabilizando hasta 10 individuos/planta que ocasionan su muerte. La utilización del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* resulta una alternativa. El objetivo del presente trabajo fue determinar la cepa más eficaz de este hongo sobre insectos *Scarabaeidae* que atacan el arándano en Cajamarca, mediante ensayos de patogenicidad bajo condiciones de laboratorio; determinando también los géneros que atacan el arándano. Las cepas del hongo se obtuvieron de SOLAGRO y SENASA. Se instaló un Diseño de Bloques Completos al Azar con cuatro tratamientos incluyendo el testigo, siendo los tratamientos las cepas: Bb5, CCB-LE-265 y Bb3. Los bloques fueron diferentes géneros de *Scarabaeidae*. Las evaluaciones se realizaron a los 3, 8, 13, 18 y 23 días después de inocular. En los resultados se obtuvo que al tercer día se inicia la mortalidad de larvas pero sin mostrar diferencias importantes entre tratamientos. A partir del día 18 existe diferencia significativa entre tratamientos. El análisis estadístico determina que los tratamientos más patogénicos son las cepas Bb5 y CCB-LE-265 a los 23 días causando mortalidad de 100%. Los géneros *Scarabaeidae* que se determinaron fueron *Ligyris*, *Anomala*, *Heterogomphus* y *Dichotomius*.

**Palabras claves:** Arándano, *Beauveria bassiana*, Patogenicidad sobre larvas, *Scarabaeidae*

## ABSTRACT

### **PATHOGENICITY TEST OF *Beauveria bassiana* IN *Scarabaeidae* INSECTS AFFECTING BLUEBERRY (*Vaccinium corymbosum* L.) IN CAJAMARCA.**

In the province of Cajamarca (Peru), in the cultivation of blueberries, severe infestations of *Scarabaeidae* larvae occur, accounting for up to 10 individuals /plant that cause their death. The use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is an alternative. The objective of the present work was to determine the most effective strain of this fungus on *Scarabaeidae* insects that attack blueberries in Cajamarca, by means of pathogenicity tests under laboratory conditions; also determining the sorts that attack the blueberry. The strains of the fungus were obtained from SOLAGRO and SENASA. A Complete Random Block Design was installed with four treatments including the control, the treatments being the strains: Bb5, CCB-LE-265 and Bb3. The blocks were different genera of *Scarabaeidae*. Assessments were made at 3, 8, 13, 18, and 23 days after inoculation. In the results it was obtained on the third day the larval mortality begins but without showing important differences between treatments. From day 18 there is a significant difference between treatments. Statistical analysis determines that the most pathogenic treatments are the Bb5 and CCB-LE-265 strains at 23 days, causing 100% mortality. The *Scarabaeidae* genera that were determined were *Ligyris*, *Anomala*, *Hetereogomphus* and *Dichotomius*.

**Key words:** Blueberry, *Beauveria bassiana*, Pathogenicity on larvae, *Scarabaeidae*

## ÍNDICE

I.	Introducción .....	01
II.	Planteamiento de la investigación .....	04
	2.1. Planteamiento del problema .....	04
	2.2. Marco teórico .....	07
	2.2.1. Taxonomía del arándano .....	07
	2.2.2. Aspectos botánicos del arándano .....	08
	2.2.3. El cultivo del arándano .....	09
	2.2.4. Manejo agronómico del arándano .....	10
	2.2.5. Insectos <i>Scarabaeidae</i> en arándanos .....	12
	2.2.6. Orden <i>Coleoptera</i> – Principales características diferenciales .....	15
	2.2.6.1. Fam. <i>Scarabaeidae</i> – Principales características .....	16
	2.2.6.2. Fam. <i>Melolonthidae</i> – Principales características .....	16
	2.2.6.3. Género <i>Tomarus</i> .....	16
	2.2.6.4. Género <i>Dichotomius</i> .....	17
	2.2.6.5. Género <i>Anomala</i> .....	18
	2.2.6.6. Género <i>Heterogomphus</i> .....	18
	2.2.7. <i>Beauveria bassiana</i> como entomopatógeno .....	19
	2.2.8. Interacción <i>B. bassiana</i> e insectos <i>Scarabaeidae</i> .....	20
	2.2.9. Mecanismo de acción de <i>Beauveria bassiana</i> .....	24
	2.2.10. Conceptos básicos .....	25
	2.3. Justificación .....	26
	2.4. Objetivos .....	28
	2.4.1. Objetivo General .....	28
	2.4.2. Objetivos Específicos .....	29
III.	Materiales y Métodos .....	30
	3.1. Diseño de estudio .....	30
	3.1.1. Tipo de investigación .....	30
	3.1.2. Área / Línea de investigación .....	30
	3.2. Población .....	31
	3.2.1. Productores de arándano .....	31
	3.2.2. Familia <i>Scarabaeidae</i> .....	31
	3.2.3. Entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> .....	32
	3.3. Muestra y Muestreo .....	32
	3.3.1. Productores de arándano .....	32
	3.3.2. Familia <i>Scarabaeidae</i> .....	33
	3.3.3. Entomopatógeno <i>Beauveria bassiana</i> .....	33
	3.4. Operacionalización de variables .....	33
	3.5. Procedimientos y técnicas .....	35
	3.5.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación.....	35
	3.5.2. Materiales .....	38
	3.5.2.1. Material Biológico .....	38
	3.5.2.2. Material de Campo .....	38
	3.5.2.3. Material, reactivos y equipos de laboratorio .....	38

3.5.2.4.	Material y equipos de escritorio .....	39
3.5.3.	Metodología .....	39
3.5.3.1.	Trabajos de campo .....	39
3.5.3.2.	Trabajos de laboratorio .....	40
a)	Crianza de larvas y pupas de <i>Scarabaeidae</i> .....	40
b)	Identificación de géneros de <i>Scarabaeidae</i> .....	41
c)	Consecución del entomopatógeno .....	42
d)	Análisis de la calidad del agua .....	44
-	Medición de la Dureza Total .....	44
-	Medición del pH .....	45
e)	Pruebas de patogenicidad del hongo.....	47
	1ra. Etapa: Corrección de pH y Dureza Total de agua .....	47
	2da. Etapa: Cálculo del volumen de agua .....	49
	3ra. Etapa: Cálculo de la dosis de tratamiento .....	50
	4ta. Etapa: Preparación del entomopatógeno .....	52
	5ta. Etapa: Instalación del experimento .....	54
	6ta. Etapa: Aplicación de tratamientos .....	57
f)	Evaluaciones .....	59
3.5.4.	Plan de análisis de datos .....	61
3.5.5.	Consideraciones éticas .....	61
IV.	Resultados .....	62
4.1.	Identificación de géneros de <i>Scarabaeidae</i> .....	62
4.2.	Orden <i>Coleoptera</i> – Principales características encontradas .....	62
4.2.1.	Fam. <i>Scarabaeidae</i> – Principales características encontradas .....	63
4.2.2.	Fam. <i>Melolonthidae</i> – Principales características encontradas .....	63
4.2.3.	Género <i>Tomarus (Ligyris)</i> .....	64
4.2.4.	Género <i>Dichotomius</i> .....	65
4.2.5.	Género <i>Anomala</i> .....	66
4.2.6.	Género <i>Heterogomphus</i> .....	67
4.3.	Mortalidad de larvas .....	68
4.3.1.	Primera evaluación (3 ddi) – Análisis estadístico .....	68
4.3.2.	Segunda evaluación (8 ddi) – Análisis estadístico .....	71
4.3.3.	Tercera evaluación (13 ddi) – Análisis estadístico .....	72
4.3.4.	Cuarta evaluación (18 ddi) – Análisis estadístico .....	77
4.3.5.	Quinta evaluación (23 ddi) – Análisis estadístico .....	82
4.3.6.	Evolución de mortalidad en el ensayo .....	86
4.4.	Confirmación de la presencia del entomopatógeno .....	88
V.	Discusión .....	89
5.1.	Evolución de la mortalidad promedio de larvas <i>Scarabaeidae</i> con cada una de las cepas de <i>Beauveria</i> <i>bassiana</i> .....	90
5.2.	Evolución de la mortalidad promedio de cada uno de los géneros de <i>Scarabaeidae</i> con todas las cepas de <i>Beauveria bassiana</i> .....	91



5.3. Patogenicidad de las cepas de <i>Beauveria bassiana</i> en larvas de <i>Scarabaeidae</i> .....	92
VI. Conclusiones .....	94
VII. Recomendaciones .....	95
VIII. Referencias bibliográficas .....	96
IX. Anexos .....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Número de Laboratorios de Control Biológico en convenio con SENASA a nivel de regiones .....	32
<b>Tabla 2.</b> Variables a operacionalizar en el análisis de eficacia del entomopatógeno <i>Beauveria basssiana</i> .....	34
<b>Tabla 3.</b> Predios de arándano bajo estudio en la provincia de Cajamarca con presencia de <i>Scarabaeidae</i> y realización de colecta de muestras de larvas para recuperación de adultos ....	37
<b>Tabla 4.</b> Características de las cepas de entomopatógenos de <i>Beauveria basssiana</i> utilizadas en el ensayo .....	43
<b>Tabla 5.</b> Características del Kit de ensayo de Dureza Total del agua .....	44
<b>Tabla 6.</b> Características de los métodos de medición de pH del agua .....	46
<b>Tabla 7.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas <i>Scarabaeidae</i> con tratamientos de <i>Beauveria basssiana</i> (Valores Arcoseno), 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	68
<b>Tabla 8.</b> Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria basssiana</i> , 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	68
<b>Tabla 9.</b> Prueba de Normalidad para las cepas de <i>Beauveria basssiana</i> , 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 ...	69
<b>Tabla 10.</b> Análisis de Varianza para la mortalidad en larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria basssiana</i> , 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	69
<b>Tabla 11.</b> Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria basssiana</i> , 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	70

<b>Tabla 12.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas <i>Scarabaeidae</i> con tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> (Valores Arcoseno), 8 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	71
<b>Tabla 13.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas <i>Scarabaeidae</i> con tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> (Valores Arcoseno), 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	72
<b>Tabla 14.</b> Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	72
<b>Tabla 15.</b> Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	73
<b>Tabla 16.</b> Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	74
<b>Tabla 17.</b> Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	74
<b>Tabla 18.</b> Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	75
<b>Tabla 19.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas <i>Scarabaeidae</i> con tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> (Valores Arcoseno), 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	77
<b>Tabla 20.</b> Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	77
<b>Tabla 21.</b> Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	78

<b>Tabla 22.</b> Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	79
<b>Tabla 23.</b> Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	79
<b>Tabla 24.</b> Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	80
<b>Tabla 25.</b> Porcentaje de mortalidad de larvas <i>Scarabaeidae</i> con tratamientos de <i>Beauveria bassiana</i> (Valores Arcoseno), 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	82
<b>Tabla 26.</b> Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	82
<b>Tabla 27.</b> Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	83
<b>Tabla 28.</b> Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	84
<b>Tabla 29.</b> Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	84
<b>Tabla 30.</b> Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de <i>Scarabaeidae</i> por <i>Beauveria bassiana</i> , 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020 .....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Larvas de <i>Scarabaeidae</i> en crianza colectadas en cultivo de arándano en Cajamarca, 2020. ....	40
<b>Figura 2.</b> Pupas de diferentes especies de <i>Scarabaeidae</i> en crianza, colectadas en arándano en Cajamarca, 2020. ....	41
<b>Figura 3.</b> Adultos de <i>Scarabaeidae</i> recuperados vía crianza en laboratorio en Cajamarca, 2020. ....	41
<b>Figura 4.</b> Proceso de medición de pH y Dureza Total de Agua. ....	46
<b>Figura 5.</b> Proceso de corrección de Dureza Total de Agua. ....	48
<b>Figura 6.</b> Proceso de medición del producto entomopatógeno. ....	51
<b>Figura 7.</b> Proceso de preparación del producto entomopatógeno. ....	51
<b>Figura 8.</b> Homogeneización de la mezcla hongo - aceite agrícola. ....	53
<b>Figura 9.</b> Hidratación del hongo entomopatógeno. ....	53
<b>Figura 10.</b> Croquis del ensayo de patogenicidad de <i>Beauveria bassiana</i> sobre insectos <i>Scarabaeidae</i> . ....	54
<b>Figura 11.</b> Colocación de larvas en envases para la realización del experimento con las cepas de entomopatógeno. ....	56
<b>Figura 12.</b> Ordenamiento de unidades experimentales en el ensayo de patogenicidad de cepas de <i>B. bassiana</i> . ....	56
<b>Figura 13.</b> Detalle de la unidad experimental en el ensayo de patogenicidad de cepas de <i>Beauveria bassiana</i> . ....	58
<b>Figura 14.</b> Aplicación de las cepas de <i>Beauveria bassiana</i> a cada unidad experimental con 10 larvas <i>Scarabaeidae</i> . ....	58
<b>Figura 15.</b> Características diferenciales confirmatorias de especímenes del Orden <i>Coleóptera</i> encontrados en arándano. ....	62
<b>Figura 16.</b> Características diferenciales confirmatorias de especímenes de la Familia <i>Scarabaeidae</i> en arándano. ....	63
<b>Figura 17.</b> Características diferenciales confirmatorias de especímenes de la Familia <i>Melolonthidae</i> en arándano. ....	63

<b>Figura 18.</b> Características diferenciales encontradas en especímenes de <i>Tomarus</i> encontrados en arándano. ....	64
<b>Figura 19.</b> Características diferenciales encontradas en especímenes de <i>Dichotomius</i> encontrados en arándano. ....	65
<b>Figura 20.</b> Características diferenciales encontradas en especímenes de <i>Anomala</i> encontrados en arándano. ....	66
<b>Figura 21.</b> Características diferenciales encontradas en especímenes de <i>Heterogomphus</i> encontrados en arándano. ....	67
<b>Figura 22.</b> Evolución de la mortalidad promedio de larvas de <i>Scarabaeidae</i> con cada una de las cepas de <i>B. bassiana</i> .....	86
<b>Figura 23.</b> Evolución de la mortalidad promedio de cada uno de los géneros de <i>Scarabaeidae</i> con todas las cepas de <i>B. bassiana</i> . ....	87
<b>Figura 24.</b> <i>Beauveria bassiana</i> esporulando en larvas de <i>Scarabaeidae</i> (A-C), Vista microscópica (40X) (D-E), Vista estereoscópica de <i>B. bassiana</i> esporulando (25X) (F). ...	88

## I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación buscó la mejor opción biológica para el manejo integrado de la plaga de insectos *Scarabaeidae* que atacan el cultivo de arándano, ensayando diversas cepas del hongo *Beauveria bassiana* como entomopatógeno actuando sobre larvas de la plaga.

En 2019, el Perú se consolidó como el primer exportador de arándanos en el mundo, con dividendos que ascienden a los 810 millones de dólares, siendo los principales países destino: Estados Unidos, Países Bajos y China. Así, el arándano ha ascendido al segundo puesto en el ranking de frutos peruanos de exportación, después de la vid. Sus bondades para la salud están más que probadas y se encuentran en una variedad de canales de distribución. Unas 7 mil hectáreas de suelo nacional se destinan al trabajo con la baya azulada (Koo, 2020).

Pedraza (como se citó en Medina, 2016) indica que el arándano pertenece a la familia de los berries y que el arándano en la actualidad ocupa el primer lugar en el grupo denominado Súper Frutas, debido a sus características nutricionales y porque ofrece muchos beneficios, pues tiene las mayores propiedades antioxidantes del planeta. Estos atributos incentivan a mercados extranjeros como: América central, Europa y Asia, a su consumo.

Sin embargo, al ser un cultivo introducido, mientras se incrementan las superficies y la antigüedad de las plantaciones, es afectado por especies nativas que se van adecuando y transformando en plaga (Arias, 2018).

Esta situación en particular, ha sucedido en la provincia de Cajamarca, en cuyas áreas cultivadas con arándano se ha presentado un severo ataque de insectos *Scarabaeidae* que han afectado las plantas a nivel radicular.

La agresividad del insecto en el campo estriba en la posibilidad de superposición de poblaciones ya que los adultos continúan ovipositando con lo que podrán encontrarse larvas de diferentes estadios, tamaños y especies de *Scarabaeidae* dañando la raíz y produciendo la muerte de las plantas (Sender, Chuchon y Rolfi, 2017).

Para el control de estos insectos se realizan intensas aplicaciones de insecticidas químicos sintéticos observándose que no resultan ser muy eficaces por la ubicación de las larvas, existiendo además la posibilidad de generación de resistencia de la plaga y obstaculizando la dinámica de comercio exterior de este fruto por la eventual detección de residuos de plaguicidas.

Al respecto, se llevó a cabo este trabajo de investigación para determinar la eficacia del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* a través del comportamiento que mostró sobre larvas de algunos géneros de *Scarabaeidae* y además, para diferenciar dicha eficacia se ensayaron varias cepas buscando conseguir la más alta patogenicidad seleccionando las mejores dentro de la especie patógena, utilizando para ello algunos de los productos comerciales que se ofrecen en el medio.

Ello se pudo establecer en términos de tiempo, determinando la cepa que causó la mortalidad de forma más rápida y; en términos de patogenicidad, comprobando el mayor porcentaje de ataque en los insectos.



Todo esto para que posteriormente, luego de ensayos en campo de las cepas promisorias, pueda ser utilizado en el control de esta plaga por los productores de la zona y del país.

## II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1. Planteamiento del Problema.-

Estudios de zonificación agraria de cultivos han identificado a Cajamarca y otros lugares afines del país como zonas viables que conglomeran escenarios característicos y apropiados para la producción de arándanos con aptitud exportadora, por lo que recomendaron poner en marcha tecnología productiva apropiada para la productividad y competitividad con el cultivo. En tal sentido, se prioriza su siembra en los andes, especialmente en la zona norte del Perú, considerando que en ella se cuenta con características agro y edafo-climáticas, como vientos, temperaturas, etc. (MINAGRI, 2016).

Calla y Escobar (2018) manifiestan que el cultivo de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en Cajamarca provincia, se viene sucediendo de forma progresiva y actualmente está en una creciente expansión. Todos o la gran mayoría de los productores reconocen la ventana de oportunidad para acceder a mercados internacionales y realizan actividades de exportación de este fruto. Es así que la tercera parte de productores tiene como mercado de destino Estados Unidos; por otro lado, las dos terceras partes de los mismos destinan sus exportaciones hacia el mercado estadounidense y también el mercado europeo, ya que la demanda ha aumentado, teniendo incluso ofertas para iniciar negociaciones y exportar al mercado Asiático.

Diferentes especies de gusanos blancos (*Coleoptera : Scarabaeidae*) son frecuentes en el ataque del Arándano, las cuales desarrollan su ciclo biológico en alrededor de un año. La alimentación de los adultos es mayoritariamente de follaje de árboles y

en mucha menor medida de follaje de arándano. Las larvas se ubican normalmente junto a las raíces de las plantas y se alimentan de ellas y las raicillas del arándano, lo que produce un debilitamiento generalizado e inclusive muerte de plantas jóvenes. Las heridas practicadas por las mordeduras son puerta de entrada para patógenos causantes de enfermedades. Las plantas atacadas denotan estrés hídrico y bajo crecimiento. El daño más severo se manifiesta en plantas recién tiernas y menores de 4 años (Cisternas, Undurraga & Vargas. 2013).

Los Scarabaeidos atacan al Arándano iniciando el cultivo y extienden sus cantidades poblacionales debido a las enmiendas con materia orgánica y la existencia de algunas especies vegetales como maíz o caña de azúcar. La práctica de descomponer la materia orgánica fuera del campo de cultivo ocasiona que los adultos acudan allí a ovipositar; entonces sus huevos y larvas son transportados al campo en la incorporación de esta enmienda antes de la siembra. (Sender, *et al.*, 2017).

La superposición de poblaciones de los *Scarabaeidae* incide sobre su agresividad ya que los adultos siguen ovipositando, determinando que podrán encontrarse larvas de diferentes estadios y tamaños, dañando la raíz y produciendo la muerte de las plantas (Sender, *et al.*, 2017).

Larvas de diferentes especies de *Coleoptera* : *Scarabaeidae*, dañan el sistema radicular de las plantas provocando su muerte (Paita, 2017).

Frente a este grave problema, la situación ha obligado a los productores a la ejecución de acciones tendientes al manejo y control de insectos *Scarabaeidae* con el fin de aminorar las poblaciones larvales que son las que causan los mayores

daños, utilizando como metodología principal la aplicación indiscriminada de plaguicidas químicos, lo cual deviene en el substancial incremento de los costos de producción, causando además un severo desequilibrio en la entomofauna benéfica y un impacto negativo sobre el ambiente (Tolosa, Henao, Salazar y Peña, 2004).

Cisternas *et al.* (2013) afirman que “para el control químico de *Scarabaeidae*, se deberá aplicar un insecticida de suelo incorporándolo cuando se hayan detectado larvas antes de la plantación. Una medida de control eficaz es aplicar insecticidas registrados respetando los períodos de carencia para el control de los adultos” (p. 93). Sin embargo, Sender, *et al.* (2017) indican que “el uso de control químico no es recomendable en el estado larval ya que estas viven en el suelo y su control es errático, mientras para el control en el estado adulto la mejor opción es el uso de trampas de luz” (p. 29). Además, respecto al problema que representan los residuos químicos por el uso de plaguicidas en el arándano los cuales representan un riesgo para la salud humana, Gonzales (2016) afirma que “el sistema de manejo integrado de plagas del arándano tiene como objetivo general asegurar una producción sustentable de arándanos de alta calidad y con una ocurrencia mínima de residuos de pesticidas. Para lograr este objetivo, los productores de arándanos deben jerarquizar su programa de manejo, priorizando las medidas de prevención de las plagas” (p. 40).

Londoño y Pérez (como se citó en Mafla, *et al.* 2004), mencionan que “debido al incremento e incidencia de la plaga de *Scarabaeidae* en cultivos, la frecuencia en la aplicación de los insecticidas se ha incrementado, lo que ha acrecentado los costos de producción, la contaminación ambiental y, en general, un desequilibrio en los agroecosistemas” (p. 43).

Esta situación problemática ha creado la necesidad de optar por otras estrategias de control de la plaga, como por ejemplo el uso de agentes entomopatógenos dentro de los cuales los hongos *Beauveria bassiana* han mostrado buenos resultados en el control de plagas. Fuertes y Chamorro (como se citó en Mafla *et al.*, 2004).

Ante esta problemática, el trabajo de investigación se plantea resolver la interrogante siguiente:

¿Cuáles son las cepas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin que, mediante ensayos in vivo muestran mayor patogenicidad al aplicarlas a insectos de la familia *Scarabaeidae* en estado larval que atacan al cultivo de Arándano en Cajamarca?

## **2.2. Marco Teórico**

### **2.2.1. Taxonomía del Arándano**

Bañados (como se citó en Arias, 2018) lo clasifica taxonómicamente como sigue:

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>Super división</b>	: Spermatophyta
<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Sub clase</b>	: Dicotyledonae
<b>Orden</b>	: Ericales
<b>Familia</b>	: Ericaceae
<b>Sub familia</b>	: Vaccinioideae
<b>Tribu</b>	: Vaccinieae
<b>Género</b>	: <i>Vaccinium</i>
<b>Especie</b>	: <i>Vaccinium corymbosum</i> L.

### 2.2.2. Aspectos Botánicos del Arándano.-

**Las raíces** del arándano poseen un aspecto fibroso y se distribuyen en forma superficial en el suelo, hecho que las torna constantemente demandantes de abastecimiento de agua y de disfrutar de ese estrato de suelo esponjoso y oxigenado que posibilite el avance de un exuberante sistema radicular. Naturalmente las raíces se asocian a determinadas micorrizas, con las que establecen simbiosis. **El tallo** emerge del pie del vegetal, manifestando color castaño dependiente de la variedad comercial; estando sobre él las yemas que producen flores, tallos y hojas. El espesor está relacionado a la edad del vegetal y de su localización en ella. La bifurcación del tallo se observa copiosa. **Las hojas** del arándano son alternas con pecíolos pequeños. Las especies comerciales muestran carácter caducifolio. Durante meses de estiaje algunas variedades muestran un color rojo. **Las flores** tienen una corola rosada o blanquecina. Estas se agrupan en inflorescencias tipo racimo con ubicación axilar y cada una de las flores se genera a partir de brotes apicales de las ramas pequeñas cuando cesa el crecimiento vegetativo empezando el otoño y posiblemente en relación al fotoperiodo. **El fruto** es una baya básicamente esférica, que dependiendo de la especie y cultivar, puede variar entre un diámetro desde 7 a 15 milímetros, y en color desde azulado a negro. La piel de la baya está protegida por capas cerosas, que le asignan una textura muy agradable hecho que es muy importante en el proceso de comercialización. Tiene un sabor específico, incomparable: dulce y algo ácido a la vez (Gordó, 2011).

### **2.2.3. El Cultivo del Arándano.-**

El arándano es un fruto oriundo de Norteamérica, donde crece en forma silvestre. En general se siembran dos clases de arándano: Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) que involucra especies pequeñas y Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) que considera arbustos grandes, dentro de los que están muchas variedades comerciales. Esta especie pertenece a la familia de los berries y presenta altas perspectivas de crecimiento en el mercado internacional debido a sus características nutritivas, pues contiene alta cantidad de antioxidantes. (MINAGRI, 2016).

El cultivo en Perú inició entre el año 2007 y 2008, con una pequeña superficie de 10 ha en la región Arequipa; 1900 hectáreas en el 2014, y 2500 ha el año 2015, con tendencia a incrementar abundantemente en los años siguientes ya que se están instalando nuevos cultivos en regiones como la Libertad, Lima, Lambayeque, Ancash, Ica y Cajamarca (Programa Sierra Exportadora, 2016).

Muñoz *et al.* (como se citó en Arias, *et al.* 2018) menciona que el arándano es una especie arbustiva, leñosa y perenne que tiene un ciclo de vida de aproximadamente 20 o 30 años. Dependiendo de la variedad, pueden crecer desde unos centímetros hasta más de 2 metros.

La planta de arándano crece en dos etapas, vegetativa y reproductiva. La etapa vegetativa consta de cuatro fases: a) desarrollo de yema vegetativa, b) crecimiento de un brote con entrenudos precarios, c) estiramiento de entrenudos y crecimiento de hojas y, d) generación de una nueva rama formada por las hojas completamente desarrolladas y entrenudos prolongados. En crecimiento reproductivo, son seis las

fases: empezando con una yema hinchada que generará flores para luego abrirse dando origen a la floración. Luego los botones florales tienen la corola cerrada. En seguida sucede la floración plena con corola totalmente abierta. Posteriormente sucede la caída de pétalos y cuajado de fruto. Finalmente se muestra el fruto verde (Muñoz *et al*, como se citó en Arias, 2018).

#### **2.2.4. Manejo Agronómico del Arándano.-**

En cuanto a suelo y nutrición es necesaria la realización de un análisis que determine excesos o carencias nutricionales, pues estas están determinadas por el estado de desarrollo de la plantación, luego de lo cual se puedan realizar las correcciones mediante enmiendas y la fertilización de fondo. Y una vez establecido el cultivo se le continúa proporcionando los requerimientos nutricionales, preferiblemente mediante un sistema de fertirriego (De Sebastián, como se citó en Caballero, 2015).

En suelos con  $\text{pH} < 4.0$  las enmiendas pueden hacerse mediante la aplicación de Óxido de Calcio (cal viva) o Hidróxido de Calcio (cal apagada) con lo cual se incrementará el pH, ya que son consideradas como sales de actuación rápida. Si el  $\text{pH} > 5$  se hace necesario acidificar el suelo (teniendo en cuenta la preferencia de suelos ácidos que tiene el arándano), utilizando componentes como el ácido nítrico, ácido fosfórico o ácido sulfúrico, ideales para bajar pH (De Sebastián, como se citó en Caballero, 2015).

En cuanto a la siembra o instalación del arándano, el marco está muy determinado por la cantidad total de terreno que se tenga disponible, pero en general se maneja



una distancia entre plantas de 0.5 a 1 m y de 2.5 a 3 m entre calles para lograr alcanzar aproximadamente una densidad de siembra de 6 000 plantas / hectárea. Para ello los hoyos de plantación deben ser de 0.4 x 0.4 x 0.4 m previamente realizados para lograr una desinfección y fertilización adecuada del suelo y desenrollar la raíz de manera que no sufra daños mecánicos o deformaciones (Bustillo, 2018).

Es muy aconsejable instalar sobre los camellones de siembra una cobertura tipo mulch plástico o corteza de pino u otro material para mantener la humedad necesaria en el suelo y además para evitar la proliferación de malezas en el cultivo (Gordó, 2011).

El método de "fertirriego" hace simultánea la dotación de agua de riego con los nutrientes disueltos. Esta práctica incrementa enormemente la eficiencia de la aplicación de los nutrientes, obteniéndose mayores rendimientos y mejor calidad pues permite aplicar los nutrientes en forma exacta y uniforme solamente al volumen radicular humedecido, donde están concentradas las raíces fisiológicamente activas. Para programar correctamente el fertirriego se debe conocer la demanda de nutrientes en las diferentes etapas fenológicas del ciclo del cultivo. Las recomendaciones del régimen de fertirriego para berries deben estar basadas en la fenología del cultivo, tipo de suelo, clima, variedades y otros factores agrotécnicos. Especial atención debe prestarse al pH, la relación  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ , la movilidad de los nutrientes en el suelo y conductividad eléctrica (Vidal, 2015).

Respecto a la poda, se trata de una actividad cultural que demanda mucha atención, pues de ella depende que se generen plagas determinantes para la planta. Puesto que el arándano es una planta que se caracteriza por producir yemas florales en el ápice de los brotes, las que con el tiempo se transforman en racimos florales y yemas vegetativas en la planta; requiere una poda en los primeros años del cultivo, directamente en relación con la altura de la planta, esto con el fin de desechar partes vegetativas que no guarden relación con el tamaño característico para su crecimiento o las que sean infructuosas proporcionando un buen tamaño en longitud y espesor a las ramas y los tallos (Bustillo, 2018).

#### **2.2.5. Insectos *Scarabaeidae* en Arándanos.-**

La familia *Scarabaeidae* (*Insecta* : *Coleoptera*) consiste de más de 30,000 especies de escarabajos en todo el mundo. Las especies en esta familia son a menudo llamadas “escarabajos”, “scarab beetles” y sus larvas son conocidas generalmente como “larvas blancas”, “gallinas ciegas” o “gusanos aradores”. Erler y Ates (2015).

Existen dentro de la familia *Scarabaeidae*, un total de 459 géneros en todo el mundo, dentro de los 2000 géneros existentes en la superfamilia *Scarabaeoidea* Latreille, de la cual sus especies presentan una amplísima diversidad morfológica, ecológica y etológica. (Delgado, Pérez y Blackaller, 2000).

Las larvas de la familia *Scarabaeidae* se desarrollan en el suelo o al interior de maderas en descomposición; los adultos se encuentran en flores, follaje y plantas donde muchos de ellos se asocian a estiércol y excremento de animal. Es una familia considerada plaga por ser perjudicial en ciertos árboles y cultivos (González, 1989).

Diferentes especies de gusanos blancos (*Coleoptera : Scarabaeidae*) son frecuentes en el ataque del Arándano, las cuales desarrollan su ciclo biológico en un año. La alimentación de los adultos es mayoritariamente de hojas forestales y en mucha más baja proporción de hojas de arándano. Las larvas se ubican normalmente junto a las raíces de las plantas y se alimentan de ellas y las raicillas del arándano, lo que genera una debilidad y afectación generalizada e inclusive expiración de plantas tiernas. Las mordeduras ocasionan heridas que se constituyen en entradas para patógenos causantes de fitoenfermedades. Las plantas afectadas denotan severo déficit hídrico y enanismo. El problema más grave se manifiesta en plantas aún tiernas y de menos de 4 años de edad (Cisternas, Undurraga & Vargas, 2013).

El umbral económico de estas especies en áreas de césped y pastos es de aproximadamente 8 – 10 larvas por metro cuadrado. (Erler y Ates, 2015).

Los huevos de estos insectos eclosionan e inicialmente pueden alimentarse de materia orgánica que se incorpora al campo de cultivo; sin embargo enseguida pueden ocasionar daños en la zona radicular y en la zona del cuello de las plantas, las cuales consecuentemente fallecen debido a la severa afectación que ocasiona la plaga (Sender *et al.*, 2017).

Para estos insectos se recomienda que el control químico de estadios adultos, susceptibles a muchos plaguicidas del tipo insecticida de contacto bastante comunes, debe ejecutarse con cautela, pues ya que esta etapa generalmente coincide con el período de polinización, es necesaria una determinación inteligente de ingredientes activos, no dañinas a las especies polinizadoras, esencialmente abejorros y abejas. Por otro lado, debe evaluarse la opción de tener que sobre

dosificar o reconsiderar el diámetro de la gota de aspersión, ya que las pilosidades corporales que poseen los adultos interfieren con el contacto que debe existir entre molécula activa y cutícula del insecto, pudiendo reducir o eliminar la eficacia del producto utilizado (Molina, 2001).

La aplicación de productos plaguicidas químicos no se recomienda en etapa larval ya que ellas atraviesan ese período debajo del suelo y su control es errático, mientras que para el manejo de individuos en estado adulto la alternativa más viable está basada en la utilización de trampas de luz (Sender *et al.*, 2017).

En cuanto a *Scarabaeidae*, se conoce que en especies de *Cyclocephala* con muchas variaciones en su patrón de pigmentación a nivel de élitros en los adultos, pueden presentarse también variaciones en la forma de los parámetros de los machos. Esto ha generado que se realicen estudios de filogenia y análisis molecular empleando diferentes fenotipos, los cuales han demostrado la existencia de polifenismo en esta especie (Gasca-Álvarez, 2014).

Los insectos de la familia *Scarabaeidae* se consideran una potencial amenaza para el cultivo de arándano (González, 1989).

También se reporta el ataque por adultos de un *Scarabaeidae* (*Tropinota squalida*) en Arándano causando daños en las flores mas no en hojas y brotes. En este caso, se observan las corolas rotas longitudinalmente con un característico aspecto operculado; el insecto come y/o daña estambres, principalmente anteras y pistilo, pudiendo mordisquear el ovario debido a la situación de los nectarios (Molina, 2001).

### 2.2.6. Orden *Coleoptera* – Principales Características Diferenciales.-

i) Poseen metamorfosis holometábola o completa, atravesando estados de huevo, larva, pupa y adulto; ii) Los adultos presentan una marcada esclerotización corporal con una reducción generalizada de áreas membranosas expuestas; iii) Poseen aparato bucal de tipo masticador; iv) Cuenta con antenas que constan de un máximo de once artejos; v) Posee coxas incrustadas en cavidades denominadas acetábulos; vi) El mesotórax es acortado, con un mesoscutelo reducido entre las bases elitrales, a veces ausente; vii) Poseen meso y metasterno invaginados en la línea media y representados por endosternitos, reemplazados externamente por un meso y un metaventrito; viii) Cuentan con el par de alas mesotorácicas transformadas en estuches endurecidos, llamados élitros (ausentes en algunas hembras); ix) Poseen las alas metatorácicas membranosas con mecanismos de plegamiento longitudinal y transversal; x) El esternito abdominal I está ausente y; xi) Los segmentos abdominales a partir del VII invaginados formando *terminalia* (segmentos VIII y IX) al servicio de la *genitalia* (X y XI). (Alonso – Zarazaga, 2015).

Sus larvas presentan cuerpo robusto, arqueado de color blanco lechoso, presentando una cápsula cefálica redondeada y bien esclerotizada, con ocelos muy pequeños y con antenas de 4 artejos. Las mandíbulas son ensanchadas y cortas. Consta de tres segmentos torácicos y diez (rara vez menos) segmentos abdominales con espiráculos (Morelli, 1996).

Las pupas son libres, pero son momificadas en unos cuantos grupos. La superficie del cuerpo presenta sedas y tubérculos que ayudan a mantenerla aislada de las paredes de la cámara pupal (Alonso – Zarazaga, 2015).

#### **2.2.6.1.- Familia Scarabaeidae – Principales Características Diferenciales.-**

En esta familia, los adultos muestran láminas de la clava de antena, planas y con capacidad de fusionarse mientras reposan. Clava antenal con mínimo los dos últimos segmentos oscuros, pilosos. La totalidad de espiráculos del abdomen ubicados en tergitos o pleuritos. Canto del ojo frecuentemente existente. Depresiones coxales de patas centrales abiertas aperturadas por los lados, juntas con los mesepímeros (Delgado *et al.*, 2000).

#### **2.2.6.2.- Familia Melolonthidae – Principales Características Diferenciales.-**

En esta familia, los adultos muestran láminas de la clava de la antena, planas y con capacidad de fusionarse mientras reposan. Clava antenal brillante con cerdas alargadas e insuficientes. Comúnmente en el abdomen los espiráculos conformantes de los tres pares finales ubicados lateralmente a los esternitos (Delgado *et al.*, 2000).

Cabe resaltar que Delgado *et al.*, (2000), consideran a *Melolonthidae* como una familia propia en el orden Coleóptera. Sin embargo, García y Martínez (2015), en un estudio más actual en Colombia, consideran a la Sub Familia *Melolonthinae*, dentro de la familia *Scarabaeidae*.

#### **2.2.6.3.- Género *Tomarus* (*Ligyris*)**

García y Deloya (2018) y Hermes y Joly (2006) consideran a *Tomarus* como sinónimo de *Ligyris* y mencionan caracteres diferenciales del género.

Las características diferenciales de este género son: mentón más o menos estrecho, no cubriendo la base de los palpos labiales. Machos y hembras con las patas anteriores del mismo tamaño. Artejo basal de los tarsos posteriores dilatados

triangularmente o cilíndricos. Dimorfismo sexual variable. Tamaño corporal pequeño o moderado. Cabeza y pronoto con impresiones, concavidades, cuernos o tubérculos más o menos conspicuos; si igualmente convexos, entonces patas más o menos robustas o con aparato estridulador presente. Tarsos anteriores de los machos raramente engrosados. Élitros brillantes, sin cubierta tomentosa y con filas dobles de puntos o costillas. Ápice de la tibia posterior truncado o ligeramente prolongado. Dimorfismo sexual escaso. Antenas con diez artejos. Especies grandes, mayores a 15 mm de longitud. Cabeza con carina transversa, tubérculos o cuernos. Pronoto usualmente con tubérculos o foveas. Ápice del clípeo bidentado, truncado o redondeado, con los márgenes subapicales no cariniformes. Cabeza sin una carina transversal preapical. Mandíbulas apenas visibles desde arriba o escondidas bajo el clípeo. Ápice del clípeo con dos dentículos pequeños. Cabeza con una carina fronto-clipeal o con dos tubérculos. Borde externo de las mandíbulas sinuado (Delgado *et al.*, 2000).

#### **2.2.6.4.- Género *Dichotomius***

Las características diferenciales de este género son: Meso y metatibias cortas y robustas, fuertemente y en ocasiones abruptamente ensanchadas apicalmente. Cabeza y pronoto generalmente con cuernos y protuberancias. Tercer artejo de los palpos labiales bien desarrollado. Artejo basal de la maza antenal normal, no excavado. Protarsos presentes y con uñas. Cada élitro con siete u ocho estrías discales y en ocasiones con una más sobre la epipleura. Surco pronotal medio longitudinal ausente o débilmente impreso. Superficie dorsal glabra. Metatarsos con el artejo basal triangular. Clípeo usualmente muy rugoso. Cabeza con tubérculos o cuernos y pronoto generalmente con quillas, tubérculos o prominencias. Mesocoxas

separadas por una distancia mayor al ancho del mesofémur. Esternitos abdominales normales, no reducidos fuertemente hacia su línea media (Delgado *et al.*, 2000; Kohlmann, 1997).

#### **2.2.6.5.- Género *Anomala***

Las características diferenciales de este género son: Labro horizontal con respecto al clípeo, separado claramente por una sutura. Margen elitral con borde membranoso. Antenas con nueve segmentos. Clípeo de forma variable pero no estrechado, extendido y elevado en el ápice. Espolón protibial presente. Lacinia con más de dos dientes. La mayor parte del labro oculto bajo el clípeo, con el borde anterior sinuado, redondeado, recto o escotado. Borde anterior del labio sinuado o recto. Borde anterior del clípeo recto, redondeado, parabólico o proyectado. Lacinia con cinco o seis dientes. Porción dorsal de los mesepímeros totalmente cubierta por la base de los élitros. Lacinia con seis dientes. Borde lateral de los élitros no engrosado. Clípeo ampliamente redondeado o con el borde anterior casi recto. Cuerpo robusto y convexo. Espacio intercoxal del mesosternón estrecho, sin proyección notable (Delgado *et al.*, 2000).

#### **2.2.6.6.- Género *Heterogomphus***

Las características diferenciales de este género son: Mentón más o menos estrecho, no cubriendo la base de los palpos labiales. Machos y hembras con las patas anteriores del mismo tamaño. Artejo basal de los tarsos posteriores dilatados triangularmente o cilíndricos. Dimorfismo sexual variable. Tamaño corporal pequeño o moderado. Cabeza y pronoto con impresiones, concavidades, cuernos o tubérculos más o menos conspicuos; si igualmente convexos, entonces patas más o



menos robustas o con aparato estridulador presente. Tarsos anteriores de los machos raramente engrosados. Artejo basal de los tarsos posteriores casi siempre dilatado triangularmente. Élitros brillantes, sin cubierta tomentosa y con filas dobles de puntos o costillas. Ápice de la tibia posterior con dientes cortos o largos. Dimorfismo sexual casi siempre muy evidente. Tibia anterior cuadridentada. Cuerpo ovalado. Armadura de los machos variable. Hembras sin cuerno cefálico. Combinación de caracteres diferente a la siguiente opción. Frente de los machos con un cuerno, en las hembras con uno o dos tubérculos. Pronoto de los machos sin un cuerno apical, en las hembras convexo, con dos tubérculos postapicales (Delgado *et al.*, 2000).

#### **2.2.7. *Beauveria bassiana* como entomopatógeno.-**

*Beauveria* es la causa más común de enfermedades en los insectos, afectando a un amplio rango de hospederos de más de 700 especies de insectos (De Faria y Wraight, 2007).

*Beauveria* posee micelio blanquecino, aspecto algodonoso con consistencia polvosa; las estructuras que sostienen las conidias únicas, espiraladas, amorfas, en grupos o arracimadas que forman verticilos; generalmente son dilatados en su base, estrechándose hacia una fracción delgada que porta conidias alternadas luego de la aparición de muchas de ellas; conidias hialinas, redondas a ovaladas, de una sola célula, de paredes delgadas, generadas de manera individual en pequeños esterigmas (Barnett y Hunter, 1972; Samson *et al.*, 1998).

El hongo *Beauveria bassiana* es un entomopatógeno ubicuo, encontrado y extraído de una extensa lista de órdenes entomológicos (McLeod, como se citó en Zimmermann, 2007).

Se conoce que las concentraciones de C y N (porcentaje de materia seca) y la relación Carbono-Nitrógeno de las puntas de las raíces de algunas gramíneas tres semanas después de la colonización por diferentes especies de hongos endofíticos como *Beauveria bassiana* es de 27.96 (Gan, Churchil y Wickings, 2017).

*Beauveria*, entre otros entomopatógenos manifiesta comportamiento específico entre insectos, hecho que exige ejecutar ensayos de patogenicidad usando varias cepas, para optar por la más eficaz (France, Macarena, Gerding y Sandoval, 2000).

Los metabolitos principales que *Beauveria bassiana* produce para ejercer su efecto entomopatógeno son: Beauvericina, Bassianina, Bassianolida, Beauverolidas, Beauveriolidas, Tenelina, Oosporeina, Ácido oxálico y Bassiacridina (Zimmermann, 2007).

#### **2.2.8. Interacción *Beauveria bassiana* e insectos (*Scarabaeidae*).**

Para manejar insectos Scarabaeidos, se utilizan nemátodos como *Heterorhabditis* sp. que se aplican mediante el riego. No obstante, es imprescindible tomar en cuenta que debe haber especificidad con estos insectos, ya que existen cepas para otras plagas que al ser enfrentadas con estos, no producen la eficacia esperada. Se pueden utilizar también para su manejo los entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. (Sender et al., 2017).

Jackson (como se citó en France *et al.*, 2000) menciona acerca de esta estrategia de control biológico de plagas que, la misma representa una alternativa adicional, principalmente para el grupo de *Scarabaeidae*, el cual se considera plaga de los próximos años.

La primera defensa que manifiesta el insecto al ingreso del entomopatógeno es la cutícula, la misma que se diferencia substancialmente cuando se trata de una larva o de un adulto, por lo que una buena cepa de hongo no necesariamente es eficaz a nivel de larva y a la vez del adulto (France *et al.*, 2000).

Burges *et al.* (como se citó en Dávila, *et al.*, 2001) indican que la capacidad para “controlar plagas” por parte de los entomopatógenos, conocida como virulencia, está gobernada por las cualidades genéticas de la especie.

Vey *et al.* (como se citó en France *et al.*, 2000) manifiestan que la especificidad es una característica ocasionada por variaciones en cuanto a la habilidad de la conidia para adherirse y/o penetrar en el integumento, además de su acción toxicogénica.

En un ensayo realizado en Colombia, *Beauveria bassiana* en sus 9 cepas utilizadas, mostró una fuerte adherencia de esporas al cuerpo de las larvas de segundo instar de dos especies de *Scarabaeidae* al realizar los ensayos de mortalidad al décimo día de evaluación, en el cual se manifestó un 30 a 80% de mortalidad de los insectos (Mafla, 2004).

En otro estudio realizado en la Universidad de Riau en Indonesia, se observó que utilizando una dosis de *Beauveria bassiana* de 30 g/m<sup>2</sup> aplicado en larvas de *O. rhinoceros* (*Scarabaeidae*) por un tiempo inicial de 90 horas, éste tuvo la capacidad

para matar el 50% de los insectos de prueba, mientras que a las 193.5 horas se puede causar una mortalidad del 77,5% con esa misma dosis (Salbiah, 2013).

Respecto a la evolución de la sintomatología general presentada por las larvas de *Plutella* enfermas que, por lo observado es muy similar a *Scarabaeidae*, se manifestó como una reducción de la alimentación después del tercer día de inoculado el hongo. También fue evidente un cambio en la coloración de verde intenso (que es el normal) a amarillo verdoso próximas a su muerte, luego se tornan de color anaranjado opaco muy característico en larvas endurecidas. Posteriormente se exterioriza el desarrollo micelial que se inicia desde las primeras suturas intersegmentales de la larva momificada, hasta aparecer en todas éstas, incluso en la región anal. Se nota inicialmente un cubrimiento parcial de los anillos de la larva llegando a quedar cubiertos totalmente por el hongo, con la subsecuente esporulación sobre la larva colonizada. Los síntomas y signos de *B. bassiana* en larvas de *P. xylostella* se presentaron desde el tercer día después del tratamiento. (Fernández *et al.*, 2003)

Pedrini *et al.* (como se citó en Huarte, 2017) refiere que “la cutícula juega un papel protector fundamental en el proceso de infección. La capa más externa, la epicutícula, es (...) una mezcla compleja de lípidos no polares. Predominan hidrocarburos alifáticos (...), alcoholes grasos, ceras, glicéridos y ácidos grasos libres (...)” (p. 15).

En *Beauveria bassiana* están definidos dos genes que codifican hidrofobinas, *Bbhyd1* y *Bbhyd2*, determinantes en la adhesión de la superficie celular de conidias a matrices hidrofóbicas. En *B. bassiana* la superficie de las conidias contienen una

capa compuesta de hidrofobinas que facilitan el anclaje de éstas en la superficie cuticular del insecto. Zhang *et al.*, (como se citó en Huarte, 2017).

La penetración del hongo dentro del insecto implica que debe degradar los componentes de la cutícula. Así también el metabolismo de hidrocarburos epicuticulares, requiere que el hongo debe captarlos e internalizarlos, proceso poco estudiado en hongos entomopatógenos. No obstante, están descritas enzimas responsables de la degradación de compuestos cuticulares como citocromo P450 (CYP), lipasas, proteasas, peptidasas y quitinasas (Huarte, 2017).

Fan *et al.* (como se citó en Tellez-Jurado, 2009) indica que de la misma forma la sobreexpresión del gen que codifica para la quitinasa de *Beauveria bassiana* acelera el proceso de muerte en los insectos en un 23%.

Es importante destacar que en un estudio en Chile, los aislados que resultaron ser más patogénicos con una especie, no lo fueron así con otras, lo que nos faculta a inferir sobre la existencia de especificidad en las distintas cepas, justificando la ejecución de ensayos preliminares y prospecciones para encontrar la cepa más eficaz para ciertas plagas (France, *et al.*, 2000).

Finalmente, en un ensayo realizado en la Universidad de Nariño, Colombia, con 04 cepas de *Beauveria bassiana*, se obtuvieron porcentajes de mortalidad de hasta 75 a 80% al ser aplicado a larvas de *Scarabaeidae* con una concentración de  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  esporas /ml a los 20 días después de la aplicación (Tolosa, 2004).

### **2.2.9. Mecanismo de acción de *Beauveria bassiana*.-**

Como en otros hongos entomopatógenos, las especies de *Beauveria* atacan a sus insectos hospedantes generalmente percutáneamente. La vía de infección consta de las seis siguientes etapas: (1) fijación de la espora a la cutícula; (2) germinación; (3) penetración a través de la cutícula; (4) superación de la respuesta inmune del huésped y las reacciones de defensa; (5) proliferación dentro del huésped mediante la formación de cuerpos hifales / blastosporas; y (6) crecimiento saprofítico dentro del huésped muerto acompañada de la producción de nuevos conidios. La adhesión se debe a la hidrofobicidad de los conidios a la superficie cuticular. En *Beauveria bassiana* los conidios poseen una proteína de tipo hidrofobina en su superficie exterior. La germinación y la infección exitosa dependen de varios factores, p. Ej. huésped susceptible, etapa del huésped y ciertos factores ambientales, tales como temperatura y humedad óptimas. La germinación está influenciada por ciertos lípidos cuticulares, como ácidos grasos de cadena corta, aldehídos, ésteres de cera, cetonas y alcoholes que pueden poseer actividad antimicrobiana. Sin embargo, la cutícula también puede estar recubierta con sustancias que son importantes para el reconocimiento de hongos, como aminoácidos libres o péptidos, y puede desencadenarla adhesión y la germinación. Normalmente, la germinación de conidios de *Beauveria bassiana* comienza después de aproximadamente 10 horas y se completan en gran medida a las 20 horas a 20 – 25 °C. En general, el hongo penetra en áreas más delgadas y no esclerotizadas de la cutícula, como articulaciones, entre segmentos o las piezas bucales. Antes de la penetración, los tubos germinales pueden producir los llamados apresorios y clavijas de infección. El proceso de penetración es por medios mecánicos y mediante la producción de

varias enzimas, incluidas las proteasas, quitinasas y lipasas. La penetración de las capas de la cutícula y el comienzo de la invasión se acompañan por varias actividades de respuesta del insecto anfitrión, p. ejm. la producción de fenoloxidasa y ciertos hemocitos y melanización (Zimmermann, 2007).

Carreño (como se citó en Motta, 2011) sintetiza el mecanismo de acción de un hongo entomopatógeno el cual menciona que “se divide en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espora a la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo. Lo cual generalmente resulta en la muerte del insecto” (p.3).

St. Leger (como se citó en Motta, 2011) destaca que durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el haemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos; algunos de ellos son nutrimentos pero otros pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento.

Khachatourians (como se citó en Motta, 2011), indica que no obstante, los patógenos como los hongos ponen en marcha varios mecanismos que les posibilitan sortear este tipo de inhibidores, como por ejemplo modificaciones en su pared celular y generación de productos inmunomodulatorios o ciertas toxinas.

#### **2.2.10. Conceptos Básicos.-**

**“Plaga.-** Cualquier especie, raza o biotipo vegetal o animal o agente patógeno dañino para las plantas o productos vegetales” (FAO, 2018, p.56).

**“Control Biológico.-** Estrategia de control contra las plagas en que se utilizan enemigos naturales, antagonistas, competidores u otros agentes de control biológico” (FAO, 2018, p.50).

**“Enemigo Natural.-** Organismo que vive a expensas de otro en su área de origen y que puede contribuir a limitar la población de ese organismo. Incluye parasitoides, parásitos, depredadores, organismos fitófagos y patógenos” (FAO, 2018, p.52).

**“Organismo Benéfico.-** Cualquier organismo favorable en forma directa o indirecta para las plantas o productos vegetales, incluidos los agentes de control biológico” (FAO, 2018, p.56).

**“Plaguicida Biológico o Bioplaguicida.-** Término genérico, no definible específicamente, pero que se aplica en general a un agente de control biológico, normalmente un patógeno, formulado y aplicado de manera similar a un plaguicida químico y utilizado normalmente para la disminución rápida de la población de una plaga en un control de plagas a corto plazo”. (FAO, 2018, p.57).

### **2.3. Justificación**

El cultivo de Arándano a nivel nacional casi ha duplicado la producción de fruto en los dos últimos años, siendo que para el 2018 se cosecharon 11 812 toneladas y, al primer trimestre del año 2019 se han logrado un total de 21 513 toneladas. Ello, traducido a índices económicos significa 106 y 193 mil millones de soles, respectivamente, como valor bruto de la producción (VBP). Esto a su vez ha significado para el país una exportación que se calcula en 48.7 y 83.1 millones de dólares (valor FOB) respectivamente. Para este período los principales países destino son: Estados Unidos, Holanda, Inglaterra, China y Canadá, entre otros



(MINAGRI, 2019). Estos datos muestran una realidad muy promisorio del cultivo en el Perú.

Por ser un cultivo de reciente introducción en los países, existen muy escasos trabajos realizados en este tema. Está reportada la presencia de larvas rizófagas, arañuelas y pulgones como plagas. Para determinar el daño de estos insectos sobre el cultivo de arándano será necesario estudiar sus características, ciclos biológicos, presencia de enemigos naturales y poder así contar con herramientas para desarrollar estrategias de manejo (Gordó, 2008).

Dentro de las plagas que más limitan el cultivo de arándano están especies de *Scarabaeidae*, las que se caracterizan por generar graves daños afectando a la planta en la mayoría de sus estadios. En su fase adulta afectan directamente la polinización y fructificación, y en su etapa larval se alimentan directamente de las raíces, causando disminución en la capacidad de absorción de nutrientes (Bustillo, 2018).

Durante el estado larval y pupal, los “gusanos blancos” se encuentran en la tierra, transformándose en “escarabajos” en estado adulto, los cuales completan su desarrollo en la parte aérea. Las larvas, de tipo escarabeiformes, se caracterizan por su forma de herradura, cabeza notable de color castaño y 3 pares de patas. El tamaño de las larvas, al igual que la coloración cefálica varía de acuerdo con la especie (Rocca, 2010).

La terapia química de insectos de ubicación y comportamiento subterráneo o ecosistemas que permiten su camuflaje, normalmente se supone de escasa eficacia, pues causan además problemas de contaminación de agroecosistemas, entonces el uso de insecticidas se ha visto restringido y han surgido nuevas medidas de control

como el uso de enemigos naturales dentro de los cuales destaca la acción de entomopatógenos como *Beauveria spp.* el cual está ampliamente distribuido por el mundo y es considerado inocuo para el ambiente (France *et al.*, 2000).

Aplicar una sola cepa de entomopatógeno *Beauveria bassiana*, seleccionada por su virulencia hacia un insecto puede resultar en una supresión corta y limitada de la plaga, y dos o más cepas diferentes genéticamente pueden ser requeridas para iniciar y mantener una epizootia en una población de insectos heterogénea en el campo. Cárdenas, Villalba, Bustillo, Montoya y Góngora (2007).

El presente trabajo de investigación ha reunido todas las consideraciones obtenidas de la bibliografía respecto de la importancia del cultivo, la principal plaga y la alternativa de control más viable y ambientalmente sostenible, alternando dentro de ella, varias cepas para determinar la mayor patogenicidad y consecuentemente la mejor eficacia dentro de ellas.

## **2.4. Objetivos**

### **2.4.1. Objetivo General**

Determinar la cepa más eficaz de *Beauveria bassiana* sobre las especies de insectos de la familia *Scarabaeidae* que atacan el cultivo de Arándano en Cajamarca, mediante ensayos de patogenicidad del agente entomopatógeno enfrentado con la plaga.

#### **2.4.2. Objetivos Específicos**

- Colectar cepas de *Beauveria bassiana* de centros de producción comercial y asimismo larvas y adultos de *Scarabaeidae* en campos de cultivo de Arándano de Cajamarca.
- Realizar la crianza y recuperar adultos de las diferentes especies de *Scarabaeidae* que atacan al cultivo de Arándano en la provincia de Cajamarca.
- Identificar morfológicamente las diferentes especies de *Scarabaeidae* que atacan al cultivo de Arándano en la provincia de Cajamarca, a nivel de taxón genérico, a partir de los adultos recuperados.
- Enfrentar in vivo las cepas más promisorias de *Beauveria bassiana* con larvas y adultos de la familia *Scarabaeidae*.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Diseño del Estudio.-

##### 3.1.1. Tipo de Investigación:

El presente trabajo de investigación es de tipo **Aplicada** y **Experimental**, de acuerdo al detalle siguiente:

**De acuerdo a la orientación o finalidad:** Se trata de una investigación **Aplicada**, porque consigue un fin aplicativo en el tratamiento biológico de larvas de *Scarabaeidae* que atacan el cultivo de Arándano, mediante el uso de la mejor cepa de *Beauveria bassiana*, determinada en función a su patogenicidad.

**De acuerdo a la técnica de contrastación:** Se trata de una investigación de carácter **Experimental**, pues en base a pruebas y ensayos de enfrentamientos controlados a nivel de laboratorio y bajo condiciones in vivo, entre larvas *Scarabaeidae* y el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. Asimismo, se llevarán a cabo procesos de obtención de insectos adultos e identificación de dichos especímenes para realizar los ensayos con la certeza de lo que se ensaya y obtiene.

##### 3.1.2. Área / Línea de Investigación:

El **Área** de la investigación se ubica dentro del campo de la Agricultura, específicamente dentro de la Sanidad Agraria con un cultivo con aptitud agroexportadora como lo es el arándano; y la **Línea** de Investigación se encuentra dentro de la Entomología General y Aplicada y el Control Biológico de Plagas Agrícolas.

### **3.2. Población.-**

En el presente trabajo de investigación se han determinado los universos poblacionales en tres niveles, cada uno con características particulares para su determinación y toma de muestras, así como ubicación espacio-temporal, en relación a los objetivos que se persiguen.

#### **3.2.1. Productores de Arándano**

La provincia de Cajamarca, la cual se localiza en la sierra norte del Perú y parte meridional del departamento región Cajamarca; está ubicada en las coordenadas 774696 m Este y 9207673 m Sur y a una altitud de 2721 m. (Google earth). Cuenta con alrededor de 15 productores de arándano, ubicados en los distritos de Jesús, Cajamarca, Namora y Baños del Inca, que en conjunto suman un aproximado de 20 hectáreas dentro de las cuales predomina la variedad Biloxi. (Estadística propia, 2020).

#### **3.2.2. Familia *Scarabaeidae***

Como se mencionó anteriormente, Erles y Ates (2015), reportan que la familia *Scarabaeidae* (*Insecta : Coleoptera*) consiste de más de 30,000 especies de escarabajos en todo el mundo.

En la provincia de Cajamarca, los géneros representantes de la familia *Scarabaeidae* que atacan al cultivo de arándano están número de 5 a 7 (Estadística propia, 2020). Existen dentro de la familia *Scarabaeidae*, un total de 459 géneros en todo el mundo (Delgado, *et al.*, 2000) que representan la población total.

### 3.2.3. Entomopatógeno *Beauveria bassiana*

De acuerdo a datos obtenidos del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA (Actualizado al 06/12/2019), en el territorio nacional existen alrededor de 69 Laboratorios formales que producen Agentes Controladores Biológicos (hongos, bacterias, virus, nematodos, insectos, etc.); 68 de los cuales mantienen convenio vigente con esta institución más 01 Laboratorio de Control Biológico del mismo SENASA. De estos, un total de 13 laboratorios, producen hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* con diferentes cepas de cada uno de ellos (Tabla 1).

Tabla 1.

*Número de Laboratorios de Control Biológico en Convenio con SENASA a nivel de regiones*

Región	Nº Laboratorios	Agentes de CB
Piura	1	Insectos, Nemátodos
Cajamarca	1	Insectos, Hongos
Lambayeque	5	Insectos, Nemátodos, Bacterias
La Libertad	17	Hongos, Bacterias, Insectos
Lima	8	Insectos, Hongos, Nemátodos
Junín	1	Hongos, Insectos, Nemátodos
Ica	21	Bacterias
Arequipa	7	Hongos, Insectos, Nemátodos
Moquegua	2	Insectos
Pasco	1	Hongos
Tacna	3	Insectos, Bacterias
San Martín	1	Hongos

Fuente: SENASA

### 3.3. Muestra y Muestreo.-

#### 3.3.1. Productores de Arándano

Para efectos de este trabajo de investigación, se han visitado a los predios mencionados anteriormente y que manifiestan ataque en sus cultivos por *Scarabaeidae* (Tabla 3); a fin de recoger datos sobre incidencia y coleccionar larvas,

pupas y adultos de estos insectos para realizar los ensayos planteados. La muestra consiste como mínimo de 50 larvas de diferentes estadios de desarrollo en cada predio.

### **3.3.2. Familia *Scarabaeidae***

Para el presente trabajo de investigación se han considerado larvas de *Scarabaeidae* de campos de cultivo de cuatro distritos de Cajamarca para los ensayos, pues son los más representativos, destinando cierta cantidad de ellas a los ensayos de patogenicidad y los restantes a la recuperación de adultos e identificación y así poder relacionarlos con los análisis.

### **3.3.3. Entomopatógeno *Beauveria bassiana***

En el presente trabajo de investigación se han utilizado 03 cepas de *Beauveria bassiana*, procedentes de los laboratorios de SOLAGRO SAC y SENASA, conforme se detallará en el ítem referido al material biológico.

## **3.4. Operacionalización de Variables.-**

Las variables a trabajar en la presente investigación fueron de tipo Descriptivo y de tipo Numérico, considerando que dentro de las primeras están la Cepa del entomopatógeno puestas a prueba en cuanto a eficacia por patogenicidad, y al Género del insecto que fue determinada por caracteres morfológicos. Dentro de las Variables Numéricas, están los eventos que pueden acontecer en el insecto en estadio larval, por efecto del hongo *Beauveria bassiana*, a medida que transcurre el tiempo. Estos eventos fueron medidos en número de insectos afectados a partir del cual se calculó el porcentaje, parámetro que fue sometido a los análisis estadísticos respectivos.

Tabla 2.

*Variables a operacionalizar en el análisis de eficacia del entomopatógeno Beauveria bassiana*

Variable	Descripción	Indicadores	Ítems
<b>DESCRIPTIVAS</b>			
Entomopatógeno	Cepa	Análisis	Lista
Insecto	Especie	Análisis	Lista
<b>NUMÉRICAS</b>			
Inanición del insecto	Insecto deja de alimentarse	Número de	%
Inmovilización del insecto	Insecto deja de movilizarse	insectos	
Muerte del insecto	Insecto cesa funciones vitales	afectados	
Esporulación del hongo	Esporas en cuerpo de insecto		

Fuente: Elaboración propia

Los principales eventos que se consideraron variables y serán materia de medición son: Inanición, Inmovilización, Muerte y Esporulación, las cuales se describen a continuación:

**Inanición.-** Consiste en la observación y determinación visual del momento en que el insecto deja de alimentarse del sustrato que se ha colocado para tal fin. En esta fase aún existen movimientos del insecto. Por las características de confinamiento de las larvas de los insectos, que determina mucha dificultad para determinar el hecho de que ha dejado de alimentarse, esta variable no se ha registrado.

**Inmovilización.-** Consiste en la observación y determinación visual del momento en que el insecto deja de moverse y desplazarse dentro del sustrato y envase dispuesto para el experimento. En esta fase tampoco existe alimentación y aún no



sucede la esporulación del hongo en el cuerpo del insecto. Esta variable se midió en % de insectos afectados por el evento.

**Muerte.-** Consiste en la observación y determinación visual del momento en que el insecto cesa sus funciones vitales por completo, las cuales se manifiestan por el cambio de coloración, momificación, inicio de su descomposición y eventual esporulación del hongo en su cuerpo. Esta variable se midió en % de insectos afectados por el evento.

**Esporulación.-** Consiste en la observación y determinación visual del momento en que el hongo entomopatógeno empieza a emerger por las suturas, articulaciones, espiráculos o cualquier parte de la cutícula del cuerpo del insecto y forma un micelio invasivo en toda su extensión. Esta variable se midió en % de insectos que esporularon.

### **3.5. Procedimientos y Técnicas.-**

#### **3.5.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación**

La presente investigación, se desarrolló en varias fases, tanto en campos de cultivo a nivel de los productores de arándano de 04 distritos de la provincia de Cajamarca (Jesús, Cajamarca, Baños del Inca y Namora) para determinación de presencia de *Scarabaeidae* en los cultivos, confirmación de daños y toma de muestras de larvas para recuperación de adultos e identificación (Tabla 3). Así también en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de SENASA Cajamarca en donde se realizaron los ensayos de patogenicidad y, también en el Laboratorio de Proteómica de la

Universidad Privada Antenor Orrego en la región La Libertad para efectos de la identificación taxonómica de los insectos *Scarabaeidae*.

El Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Dirección Ejecutiva SENASA Cajamarca, se encuentra situado en el distrito Baños del Inca, provincia de Cajamarca en las coordenadas de UTM: 779598 E; 9207333 S y a una altitud de 2663 metros. En éste se realizaron los trabajos de crianza de larvas, pasando por el estado de pupas con la finalidad de recuperar adultos que permitan facilitar su identificación a nivel de género o especie. También en este recinto se realizaron los ensayos de patogenicidad de *Beauveria bassiana* frente a las 04 especies recuperadas e identificadas de *Scarabaeidae* recolectadas en campo.

El Laboratorio de Proteómica de la Universidad Privada Antenor Orrego se ubica en la ciudad de Trujillo, región la Libertad, ubicada en las coordenadas UTM: 716851 E, 9100979 S y a una altitud de 20 metros. En este laboratorio se realizaron los trabajos de identificación taxonómica de especies de *Scarabaeidae*.

El material biológico consistente de las diferentes cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, se consiguieron en el laboratorio de producción de controladores biológicos de la empresa SOLAGRO S.A.C y en los laboratorios de Control Biológico del SENASA.

El Laboratorio de producción de controladores biológicos de la empresa SOLAGRO S.A.C., se encuentra en la ciudad de Trujillo, región La Libertad; y el Laboratorio de Control Biológico del SENASA se encuentra en el distrito de Ate – Vitarte en la ciudad de Lima.

Tabla 3.

*Predios de arándano bajo estudio en la provincia de Cajamarca con presencia de Scarabaeidae y realización de colecta de muestras de larvas para recuperación de adultos.*

Predio	Variedad	Caserío	Distrito	Superficie (ha)	Coordenadas UTM (m)		Altitud (m)
					Este	Sur	
Predio 01	Biloxi y otras	El Triunfo	Namora	2.00	801763	9202107	2885
Predio 02	Biloxi	Chuco Bajo	Jesús	0.50	790158	9197647	2564
Predio 03	Biloxi	Casablanca	Namora	2.00	797748	9203508	2893
Predio 04	Biloxi	La Chuquita	Jesús	0.50	787695	9198376	2586
Predio 05	Biloxi	El Aliso	Cajamarca	4.50	774026	9216242	2998
Predio 06	Biloxi	Rumipampa	Baños del Inca	1.00	780129	9213987	3130
Predio 07	Biloxi	Río Grande	Cajamarca	0.25	773436	9218070	3263
Predio 08	Biloxi	Lluscapampa	Cajamarca	2.00	773453	9214114	2818
Predio 09	Biloxi	Tartar Grande	Baños del Inca	0.25	779270	9208043	2670
Predio 010	Biloxi	Marcopampa	Cajamarca	1.00	775722	9208124	2691
Predio 011	Biloxi	Baños del Inca	Baños del Inca	0.15	780407	9207974	2674

Fuente: Elaboración propia

### **3.5.2. Materiales.-**

Los materiales, utilizados en el presente trabajo fueron de diversa naturaleza, los cuales a continuación se presentan clasificados:

#### **3.5.2.1. Material Biológico**

Plantaciones de arándano, plantas de arándano (tallos y raíces), larvas de diferentes estadios larvales de insectos *Scarabaeidae*; 03 cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bb5, Bb3 y CCB-LE-265 : las dos primeras cepas provenientes de SOLAGRO SAC y la tercera cepa proveniente de SENASA); pupas y adultos de *Scarabaeidae*; sustrato orgánico para arándano (pajilla de arroz, corteza de pino y turba – 1:1:1); sustrato de vida saprófita para hongos (arroz, maíz).

#### **3.5.2.2. Materiales de Campo**

Equipo GPS, pala edafológica, bolsas de kraft, bolsas de polietileno, tapers de plástico (1 y 0.5 litros), tablero de campo, libreta de apuntes, tijeras de podar, cajas de tecnopor.

#### **3.5.2.3. Materiales, Reactivos y Equipos de Laboratorio**

Matraces 500 y 1000 ml, beakers 50 ml, probetas x 100 ml, placas Petri, alcohol 70°, agua destilada, papel toalla, balanza analítica, agitador, estereoscopio, microscopio, shaker, incubadoras, láminas portaobjetos, lámina cubre objeto, azul de metileno, bisturí, pH-metro, papel aluminio, kit para análisis de dureza total, guantes quirúrgicos, aspersores, pinzas, mandil, tapers de plástico x 1000 ml, pipetas x 1 ml, micropipetor x 100 µl, micropipetor x 1000 µl, mortero, termómetro,

autoclave, refrigeradora, pipetas Pasteur, alfileres entomológicos, caja entomológica, aceite agrícola, corrector de pH y dureza total de agua.

#### **3.5.2.4. Materiales y Equipos de Escritorio**

Plumón marcador, papel bond, lapiceros, cuadernos, ficha de datos, computadora, impresora, calculadora, cinta masking tape.

#### **3.5.3. Metodología.-**

##### **3.5.3.1. Trabajos de Campo**

A nivel de los campos de cultivo de arándano, el trabajo consistió de las siguientes actividades:

- Visita de campos de arándano en la provincia de Cajamarca, que manifestaron la ocurrencia de ataques por larvas de *Scarabaeidae* y que denotaron síntomas aéreos como: clorosis, marchitez, defoliación y/o muerte de plantas.
- Verificación de la presencia de larvas de *Scarabaeidae* en el sustrato de campo y la zona radicular de la planta, determinando una incidencia de 0,8 % de plantas afectadas y una infestación de 1 a 10 larvas por planta afectada.
- Identificación de los daños ocasionados por larvas de *Scarabaeidae* en las raíces de las plantas de arándano.
- Colecta de larvas de diferentes estadios, pupas y adultos; la que se realizó con la ayuda de la pala edafológica a una profundidad de 15 - 25 centímetros dentro del suelo o sustrato. Este material se recolectó en tapers plásticos con sustrato y raíces.

- Traslado de larvas, pupas y adultos al Laboratorio de Sanidad Vegetal del SENASA Cajamarca para su crianza y trabajos posteriores.

### 3.5.3.2. Trabajos de Laboratorio

#### a) Crianza de larvas y pupas de *Scarabaeidae*.-

Con la finalidad de realizar las identificaciones vía caracteres morfológicos, se realizó el trabajo de recuperación de adultos con los que se pueda facilitar el trabajo.

Por lo que se efectuó la crianza de las larvas, agrupadas por distrito, a partir del último estadio larval y de pupas recolectadas en campo.

Para ello, se instalaron frascos de 1 litro con 450 gramos de sustrato esterilizado consistente de corteza de pino, turba y cascarilla de arroz en proporción 1:1:1. La esterilización por vapor se realizó en autoclave por 20 minutos a 120 °C y 1 atmósfera de presión. Además se añadió a cada uno de ellos 50 gramos de raíces de arándano cortadas en segmentos de 1 centímetro para mantener la alimentación y con ello asegurar el crecimiento y desarrollo de las larvas y una exitosa recuperación de adultos.



Figura 1. Larvas de *Scarabaeidae* en crianza colectadas en cultivo de arándano en Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales)



*Figura 2.* Pupas de diferentes especies de *Scarabaeidae* en crianza, colectadas en cultivo de arándano en Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

Al cabo de un tiempo variable, de acuerdo al estado de desarrollo que se colocó a criar, emergieron los adultos, los cuales fueron sometidos a cámara letal y posteriormente montados en cajas entomológicas para los trabajos de identificación posteriores.

**b) Identificación de géneros de *Scarabaeidae*.-**

Una vez recuperados los adultos, se procedió a montarlos mediante alfileres entomológicos en la caja respectiva para su conservación y posterior identificación.



*Figura 3.* Adultos de *Scarabaeidae* recuperados vía crianza en laboratorio en Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

Para tal efecto se utilizaron como guías las claves entomológicas y taxonómicas que la bibliografía ofrece, particularmente el documento denominado “Claves para determinar los taxones genéricos y supragenéricos de *Scarabaeoidea*” de Delgado et al (2000); además se utilizó la “Clave ilustrada para identificación de escarabajos coprófagos (*Coleoptera* : *Scarabaeinae*) en Colombia” de Medina y Toro (2000), y también el “Manual del Orden *Coleoptera*” de Alonso-Zarazaga (2015).

Estos manuales y claves citadas basan su clasificación, en estructuras corporales y morfológicas características en cada género, con lo cual se pudo obtener exactitud en la identificación de los insectos recuperados.

#### **c) Consecución del entomopatógeno.-**

Conforme se mencionó, las tres (03) cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* se obtuvieron de los respectivos laboratorios de producción de controladores biológicos de la empresa SOLAGRO S.A.C. y del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA.

Las características en detalle de cada uno de los productos mencionados se presentan a continuación.



Tabla 4.

*Características de las cepas de entomopatógenos de **Beauveria bassiana** utilizadas en el ensayo.*

Característica	Cepa Bb5	Cepa Bb3	Cepa CCB-LE-265
Procedencia	SOLAGRO SAC	SOLAGRO SAC	SENASA
Nombre Comercial	Beauvesol	Beauvesol	Micosen
Clase	Insecticida biológico	Insecticida biológico	Insecticida biológico
Tipo	PBUA	PBUA	PBUA
Formulación	Polvo Mojable - WP	Polvo Mojable - WP	Polvo Mojable - WP
Concentración	1 x 10 <sup>9</sup> conidias/g	1 x 10 <sup>9</sup> conidias/g	4.6 x 10 <sup>10</sup> conidias/g
Nº aplicaciones rec.	2 - 3	2 - 3	3 - 4
Inerte	Maíz estéril	Maíz estéril	Arroz
Presentación	Bolsa	Bolsa	Bolsa
Registro	PBUA-076-SENASA	PBUA-076-SENASA	PBUA-099-SENASA
Contenido neto	800 gramos	800 gramos	800 gramos
Apariencia	Polvo color blanco-cremoso	Polvo color blanco-cremoso	Polvo color blanco
pH	6	6	6.5
Lote	7B9-19	---	Sin lote
Fecha Producción	Enero 2020	Enero 2020	Octubre 2019

Fuentes: SIGIA – SENASA 2020, Guías de Remisión, Fichas Técnicas, Mail y Etiquetas Oficiales de los Productos.

#### **d) Análisis de la calidad del agua.-**

El agua a utilizar para las pruebas de patogenicidad del presente trabajo procedió del Laboratorio de Sanidad Vegetal del SENASA Dirección Cajamarca, el que se ubica en Baños del Inca, provincia de Cajamarca, región de Cajamarca.

Habida cuenta el hecho de que para el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, a nivel de sus recomendaciones de preparación y uso, se indica que deben existir controles sobre la calidad del agua con la que se realiza la extracción de conidias desde el sustrato comercial (sustancia inerte), se realizó el análisis del agua utilizada mediante la siguiente metodología:

#### **Medición de la Dureza Total:**

El kit para medir la Dureza Total del agua que se utilizó para la preparación del entomopatógeno, presenta las siguientes características técnicas:

Tabla 5.

*Características del Kit de ensayo de Dureza Total del agua*

Kit de prueba	HI 38033 Total Hardness
Marca	HANNA instruments (EE.UU.)
Rango (gpg)	0 – 30 CaCO <sub>3</sub> (grains per gallon)
Rango (ppm)	0 – 513 CaCO <sub>3</sub> (parts per million)
Método de análisis	EDTA titration (ethylene-diamine-tetraacetic acid)
Referencias	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20 <sup>th</sup> edition, 1998.
Reactivos	Buffer solution pH 10.2; Calmagite indicator and EDTA solution

Fuente: Laboratorio MASED Perú.

La concentración de carbonatos ( $\text{CaCO}_3$ ) presentes en el agua, que se conoce como Dureza Total del agua, se ensayó siguiendo la metodología indicada a continuación:

- Se removió la tapa del recipiente de plástico y se enjuagó este recipiente con la misma muestra de agua, luego se llenó con la muestra hasta la marca de 10 ml.
- Se agregaron 5 gotas de Solución Buffer a través del orificio de la tapa y se mezcló cuidadosamente girando el recipiente en pequeños círculos.
- Se agregó 1 gota de indicador de Calmagita a través del orificio de la tapa y se mezcló tal y como se describió anteriormente. La solución se fue convirtiendo en un color rojo-violeta.
- Se llenó la pipeta de plástico con solución de HL 38033-0 EDTA e insertó la punta en el orificio de la tapa del recipiente de plástico. Se vertió la solución gota por gota girando después de cada caída para ir mezclando, manteniendo un recuento exacto de la cantidad de gotas que han sido agregadas a la solución dentro del recipiente.
- Se continuó agregando la solución de titulación hasta que la solución dentro del recipiente se tornó azul.
- Se registró la cantidad de gotas necesarias para obtener el cambio de color final de  $\text{gpg CaCO}_3$  como dureza total de la muestra y se realizó la transformación a ppm, multiplicando por el factor 17. ([www.unitconversion.org](http://www.unitconversion.org)).

#### **Medición de pH:**

El pH se midió mediante la utilización de tiras reactivas colorimétricas, las cuales fueron sumergidas con repeticiones en tres submuestras de agua. La comparación

de las tiras reactivas con la escala que poseen los kits arrojan el pH que mantiene la muestra.

Las características de las tiras reactivas utilizadas se presentan a continuación.

Tabla 6.

*Características de los métodos de medición de pH del agua*

Kit de prueba	pH – FIX MN 92110	pHydrion Vivid	pH paper
Marca	Mancherey – Nagel (Alemania)	Micro Essential Laboratory (USA)	Veb Feinchemie Sebnitz (Alemania)
Rango	0 – 14	1 – 11	0 – 11
Método de análisis	Indicator strips	Indicator paper	Indicator paper
Reactivos	None	None	None

Fuente: Etiquetas de productos

Los valores de pH obtenidos generalmente fueron los mismos con los 3 métodos utilizados.



Figura 4. Proceso de medición de pH y Dureza Total de Agua. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

### **e) Pruebas de patogenicidad del hongo entomopatógeno.-**

Esta tarea, que fue la principal dentro del presente trabajo de investigación, consistió de seis etapas bien definidas, a las cuales inicialmente se las lista a cada una de ellas y posteriormente se describen en detalle a continuación: Corrección de pH y Dureza Total del agua de trabajo, Cálculo de la cantidad de agua de trabajo, Cálculo de la dosis de los tratamientos entomopatógenos, Preparación de entomopatógenos, Instalación del experimento y, Aplicación de tratamientos.

#### **1ra. Etapa: Corrección de pH y Dureza Total del Agua**

De acuerdo a las instrucciones de uso presentes en la etiqueta y fichas técnicas de los productos entomopatógenos, el pH del agua para dilución debe ser de 6.5 como máximo y la Dureza Total debe estar en 150 ppm de  $\text{CaCO}_3$  también como máximo a fin de que con ello, exista un adecuado desprendimiento de conidias a partir del sustrato inerte, así como un correcto crecimiento y desarrollo del hongo y por ende una óptima eficacia (SCB-SENASA, 2020).

Habiendo encontrado valores de pH del agua de 6 el cual es óptimo para el trabajo, sin embargo los valores de Dureza Total en 195.5 ppm, lo que excede lo recomendado, se procedió a realizar la corrección mediante la utilización del producto ablandador de aguas CROPFIELD PH MAX (acidificantes + nonylfenol polioxietilenado tridecílico). Este producto tiene, entre otras, la propiedad de reducir la dureza de las aguas producida por Carbonatos y Bicarbonatos de Calcio y Magnesio evitando que los ingredientes activos reaccionen con las sales disueltas en el agua y pierdan su efectividad (Chemical Processes Industries SAC, 2016).

La dosis recomendada en la etiqueta del producto es de 15 ml de pH Max por cada 20 litros de agua dura. Por lo que haciendo un cálculo simple, para corregir la dureza total del agua, se utilizaron un total de 750  $\mu$ l del producto mencionado por cada litro de agua a utilizar. Este proceso consistió únicamente en añadir lentamente el corrector en el agua, la cual posteriormente se colocó en el agitador a 60 rpm para una mezcla uniforme.

Luego se procedió a realizar nuevamente la confirmación de la Dureza Total del agua con la utilización del kit pertinente y así poder trabajar de manera técnicamente adecuada. El nuevo valor de la Dureza Total del agua luego de la corrección fue de 136 ppm de  $\text{CaCO}_3$ .

Este volumen de agua corregida se almacenó en beakers tapados con papel aluminio en refrigeración para utilizarla en los trabajos posteriores del ensayo.



*Figura 5.* Proceso de corrección de Dureza Total de Agua. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

## **2da. Etapa: Cálculo del Volumen de Agua**

Para tal efecto se hizo la prueba en blanco para determinar la cantidad de producto (agua + hongo) que debería aplicarse a cada envase conteniendo el material a ensayar (10 larvas de varios estadios, en sustrato más raíces de arándano). Este trabajo se realizó asperjando agua y procuró empapar a las larvas presentes y a todo el sustrato de manera que se garantice la distribución total del producto en el cuerpo del insecto y su medio en el que se desarrolla. En total se gastó por cada envase 28 mililitros de agua.

Con este gasto, se hizo el cálculo siguiente:

$$\begin{array}{rcl} \text{i)} & 28 \text{ mililitros de agua} & \text{-----> } 1 \text{ envase} \\ & X & \text{-----> } 4 \text{ envases (por tratamiento)} \end{array}$$

$$\mathbf{X = 112 \text{ mililitros de agua / tratamiento}}$$

Considerando que cada tratamiento tiene 4 repeticiones, se calcula la cantidad de agua por aplicación:

$$\begin{array}{rcl} \text{ii)} & 112 \text{ mililitros de agua} & \text{-----> } 1 \text{ tratamiento} \\ & X & \text{-----> } 4 \text{ tratamientos} \end{array}$$

$$\mathbf{X = 448 \text{ mililitros / aplicación}}$$

Las fichas técnicas recomiendan realizar un promedio de 3 aplicaciones por campaña (SENASA. SOLAGRO SAC), por lo que se realiza el cálculo de la cantidad de agua para tal fin:

$$\begin{array}{rcl} \text{iii)} & 448 \text{ mililitros de agua} & \text{-----> } 1 \text{ aplicación} \\ & X & \text{-----> } 3 \text{ aplicaciones} \end{array}$$

$$\mathbf{X = 1,344 \text{ mililitros de agua}}$$

### **3ra. Etapa: Cálculo de la Dosis de Tratamiento**

Las etiquetas y fichas técnicas de los productos utilizados en el presente experimento, alcanzan cantidades de agua y dosificación del producto para control de *Scarabaeidae* en arándano y otras plagas y cultivos, las que se presentan a continuación:

- Micosen: 2 – 4 bolsas de 800 g en 200 litros de agua.
- Beauvesol: 2 – 5 bolsas de 800 g en 200 litros de agua.

Considerando una dosis promedio 3 bolsas por cada 200 litros de agua, se hizo la determinación siguiente:

$$\begin{array}{rcl} \text{iv)} & 2400 \text{ gramos de hongo} & \text{-----> } 200 \text{ litros de agua} \\ & X & \text{-----> } 1 \text{ litro de agua} \end{array}$$

$$\mathbf{\underline{X = 12 \text{ gramos de hongo / litro de agua}}}$$

Este dato obtenido, trabajado con las ecuaciones (i), (ii) y (iii), resulta en lo siguiente:

$$\begin{array}{rcl} \text{v)} & 12 \text{ gramos de hongo} & \text{-----> } 1000 \text{ mililitros de agua} \\ & X & \text{-----> } 28 \text{ mililitros de agua} \end{array}$$

$$\mathbf{\underline{X = 0.336 \text{ gramos / envase}}}$$

Para calcular la dosis por tratamiento sería:

$$\begin{array}{rcl} \text{vi)} & 0.336 \text{ gramos de hongo} & \text{-----> } 1 \text{ envase} \\ & X & \text{-----> } 4 \text{ envases} \end{array}$$

$$\mathbf{\underline{X = 1.334 \text{ gramos / tratamiento}}}$$

Entonces la dosis década uno de los tratamientos es de 1.334 gramos / 112 ml de agua.





Figura 6. Proceso de medición del producto entomopatígeno. Cajamarca, 2020.  
(Fuente: Ronald Llique Morales).



Figura 7. Proceso de preparación del producto entomopatígeno. Cajamarca, 2020.  
(Fuente: Ronald Llique Morales).

#### **4ta. Etapa: Preparación del Entomopatógeno**

La preparación de los entomopatógenos para el ensayo se llevó a cabo conforme a las recomendaciones dadas para los productos en las fichas técnicas y/o etiquetas, lo que se este trabajo se realizó de la siguiente manera:

- Una vez medida la cantidad exacta de producto entomopatógeno (1.334 gramos / tratamiento), se la dispensó en un beaker en donde se aplicó la cantidad calculada de aceite de agrícola de 166  $\mu$ l (aceite vegetal), considerando la recomendación de 100 mililitros / bolsa de 800 gramos de producto.
- Se procedió luego a homogeneizar la mezcla buscando distribuir todo el aceite agrícola dentro del producto entomopatógeno, Para ello se utilizó una pequeña paleta de madera estéril que permitió la mezcla deseada realizando movimientos circulares dentro del beaker durante 1 minuto, procurando también la separación de granos fusionados entre sí.
- Posteriormente se dispensaron los 112 mililitros de agua corregida a cada uno de los envases conteniendo a los respectivos tratamientos y también se realizó la homogeneización, en este caso agitando el frasco con la mezcla en el aparato shaker durante 5 minutos para lograr el desprendimiento total de las conidias del hongo desde el sustrato inerte (maíz o arroz) hacia la matriz aceite/agua.
- Finalmente, también de acuerdo a las recomendaciones técnicas, para lograr la hidratación y activación de las cepas del hongo, el producto preparado se dejó reposar bajo sombra y en envases tapados no herméticamente con papel aluminio durante 13 horas para luego realizar la aplicación respectiva, previa agitación y colado del producto a fin de evitar obstrucción de boquillas de los aspersores que se utilizaron.



Figura 8. Homogeneización de la mezcla hongo - aceite agrícola. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).



Figura 9. Hidratación del hongo entomopatógeno. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

### 5ta. Etapa: Instalación del Experimento

El experimento consistente de la prueba de patogenicidad se realizó siguiendo un diseño estadístico de Bloques Completos al Azar (DBCA), considerando como bloques a los grupos de larvas de *Scarabaeidae* colectadas por distrito, que luego se identificaron a nivel de género y con 03 tratamientos con cepas del entomopatógeno más 01 testigo sin aplicación, salvo agua pura.

El proceso de asignación randomizada de tratamientos se efectuó de la siguiente manera:

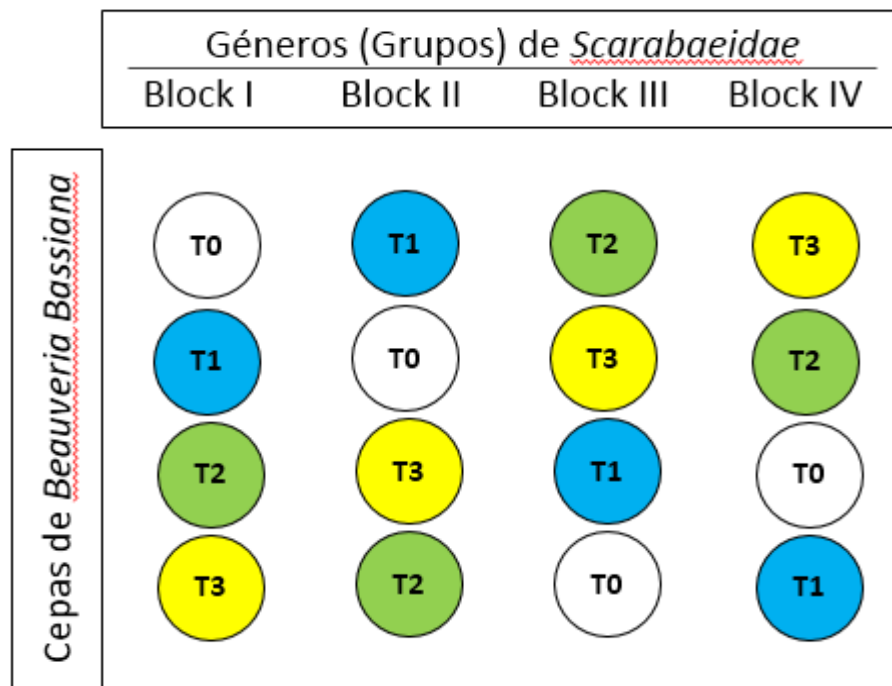


Figura 10. Croquis del ensayo de patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre insectos *Scarabaeidae*. Cajamarca, 2020.

Donde:

**T0** : Testigo sin aplicación

**T1** : Cepa **Bb5** de *Beauveria bassiana*

**T2** : Cepa **CCB-LE-265** de *Beauveria bassiana*

**T3** : Cepa **Bb3** de *Beauveria bassiana*

Cada unidad experimental, consistió de un taper de plástico semitransparente de 500 ml de capacidad conteniendo 10 larvas de *Scarabaeidae* de varios estadios de desarrollo, dispuestas inicialmente en 100 gramos de sustrato esterilizado consistente de una mezcla de cascarilla de arroz, aserrín de pino y turba en proporción 1:1:1, además en cada uno de los envases se colocaron 50 gramos de raíces frescas de arándano para conseguir un desarrollo relativamente continuo de las larvas mediante un proceso de alimentación normal. El sustrato utilizado y las raíces añadidas, se esterilizaron en autoclave a 120 °C, durante 20 minutos a 1 atm de presión, utilizando para ello envases metálicos para el total de sustrato utilizado en el experimento.

Para garantizar la sanidad de las larvas y descartar alguna eventual enfermedad traída desde campo, se las mantuvo durante 7 días luego de su colecta observando su desarrollo normal.

Además para lograr retirar cualquier contaminante que interfiera con el efecto del hongo bajo prueba, antes de inocular las larvas con el hongo, ellas fueron desinfectadas con aspersion de una solución de NaClO al 0.5% y lavadas 3 veces con agua estéril destilada a través de una pizeta para eliminar el exceso de desinfectante. Esta labor está basada en Mafla *et al.* (2004).

Una vez colocado el sustrato con larvas en cada uno de los envases, se realizó la ubicación de las unidades experimentales, bloques y tratamientos, según el croquis anterior, en una cámara en donde se realizó el control de temperatura del ambiente, la cual estuvo alrededor de los 20 °C durante todo el tiempo del experimento. En *B. bassiana* el óptimo de temperatura es de 23 a 28 °C (Zimmermann, 2007).



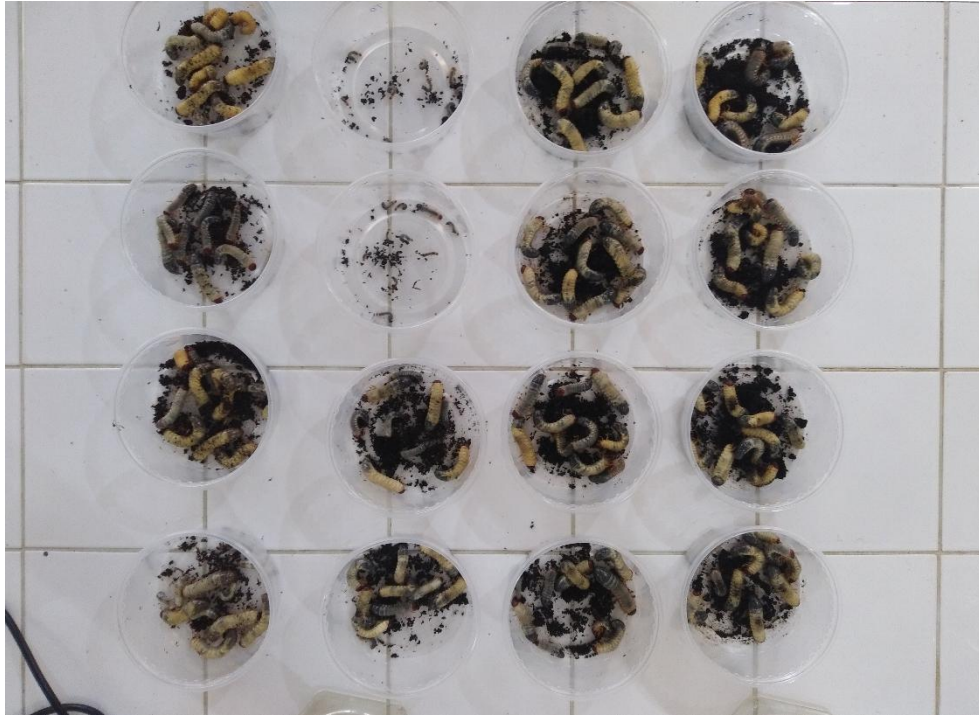


Figura 11. Colocación de larvas en envases para la realización del experimento con las cepas de entomopatógeno. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).



Figura 12. Ordenamiento de unidades experimentales en el ensayo de patogenicidad de cepas de *Beauveria bassiana*. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

## **6ta. Etapa: Aplicación de Tratamientos**

Inmediatamente dispuestas las unidades experimentales, se procedió a realizar la aplicación de los 3 tratamientos con cepas del hongo *Beauveria bassiana*, más 1 tratamiento testigo aplicando únicamente agua, en cada uno de los bloques del ensayo.

A cada uno de los envases se le realizó la aspersion de un volumen de 28 mililitros de caldo entomopatógeno previamente colado y con agitación el cual contenía una dosis de 0.336 gramos de producto, procurando cubrir toda la extensión corporal de las larvas de los insectos (Fernández *et al.*, 2003). Asimismo se buscó el humedecimiento de todo el sustrato en el que se las colocó, a fin de lograr proximidad absoluta y contacto entre el hongo y el insecto.

Lo considerado anteriormente, teniendo que el producto *Beauveria bassiana* actúa como entomopatógeno sobre los insectos por un mecanismo de contacto (Jiménez *et al.*, 1998). Este hecho se buscó colocando las larvas con sustrato orgánico.

Finalmente se realizó la cobertura de las larvas añadiendo el sustrato restante hasta completar 300 gramos de sustrato en cada envase, considerando que la materia orgánica, también puede servir para el desarrollo de *Beauveria bassiana* en tanto es un organismo saprófito facultativo (Villamil y Martínez, 2014).

Se procedió a tapar los envases, practicando varios orificios en las tapas de cada uno de ellos a fin de facilitar el intercambio gaseoso (Mafla *et al.*, 2004). Cada unidad experimental se rotuló a nivel de frasco y también de la tapa con un plumón indeleble para evitar errores en las evaluaciones llevadas a cabo. Se repitió esta operación 2 veces más cada 7 días después de la primera aplicación (F. Técnicas)



Figura 13. Detalle de la unidad experimental en el ensayo de patogenicidad de cepas de *Beauveria bassiana*. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).



Figura 14. Aplicación de las cepas de *Beauveria bassiana* a cada unidad experimental con 10 larvas *Scarabaeidae*. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).



#### **f) Evaluaciones.-**

Las evaluaciones de los eventos que sucedieron con las larvas tratadas se iniciaron al tercer día de la primera inoculación del hongo y se llevó a cabo cada 5 días, completando 5 evaluaciones en total. Se les adicionó alimento estéril cada semana, hasta cumplir 25 días de incubación (Basado en Nájera *et al.*, 2005).

A los 7 días de la primera inoculación y 7 días después se realizaron las aspersiones subsiguientes con un volumen de 28 mililitros de caldo entomopatígeno previamente colado y con agitación el cual contenía una dosis de 0.336 gramos de producto, procurando cubrir toda la extensión corporal de las larvas de los insectos. Para tal efecto se removió el sustrato con paletas estériles de madera, a fin de descubrir el cuerpo de las larvas y procurar mayor contacto con el entomopatígeno.

Los eventos de inmovilización, mortalidad y esporulación de las larvas se determinaron en forma visual. Aquellas larvas que están vivas suelen moverse cuando se exponen a la luz o al agitar los envases plásticos semitransparentes. En caso de sospecha de muerte, ésta se confirmada por la inmovilización absoluta de la larva al ser contactada la parte ventral del tórax con pinzas estériles. Las larvas muertas fueron contabilizadas y puestas en observación hasta detectar la esporulación de *Beauveria bassiana* (Basado en Nájera *et al.*, 2005).

Las larvas con esporulación se colocaron en cámara húmeda, separadas por cepas, en obscuridad y a una T° de 23° C por 5 días al cabo de los cuales se observó el crecimiento micelial sobre su tegumento (Mafla, 2004). Esto se observó al microscopio, para la confirmación de las estructuras de *Beauveria bassiana*.

De los conteos que se realizaron, se fue registrando con la frecuencia planificada, la ocurrencia de los eventos anteriormente descritos, consignando el porcentaje (%) de insectos afectados con cada evento, el cual se calculó mediante la división del número de insectos afectados entre el número de insectos total por envase.

La fórmula es la siguiente (*Fórmula 1*):

$$\% IA = \frac{NA}{NT} * 100$$

Donde:

% IA : % Insectos afectados por el evento

NA : Número de insectos afectados

NT : Número de insectos por tratamiento

Otra opción de cálculo para determinación de la eficiencia de los tratamientos, sustentada en la fórmula de Abbott (como se citó en Gonçalves *et al.*, 2004) es (*Fórmula 2*):

$$\%E = \frac{T - I}{T} * 100$$

Donde:

% E : Porcentaje de eficiencia

T : Número de insectos vivos en el testigo sin aplicación

I : Número de insectos vivos en el tratamiento con aplicación

#### 3.5.4. Plan de Análisis de Datos

En el presente trabajo la eficacia de los tratamientos (porcentaje de mortalidad) se evaluó a través de un análisis de varianza (ANDEVA), con un nivel de significación  $p = 0,05$ , habiendo transformado los datos hacia la raíz cuadrada del arcoseno, para garantizar la homogeneidad de varianzas. Zar (como se citó en Pérez & Iannacone, 2006)

Considerando que los datos recolectados se transformaron hacia porcentajes (%), se procedió a la transformación mediante la raíz cuadrada del arco seno, siguiente (Fórmula 3):

$$A = \text{Arcsin} (\sqrt{y/100}) * 180/3.1415$$

Donde:

y: Valor en porcentaje (%) calculado

Para el ANDEVA y procesamiento completo de datos, se utilizó el paquete estadístico informático IBM-SPSS ver. 25.

Para la determinación de las diferencias estadísticas entre tratamientos se empleó la prueba de categoría múltiple de Duncan al 5% de probabilidad.

#### 3.5.5. Consideraciones Éticas

El presente trabajo de investigación, por tener dos instituciones que han proveído el material biológico (SENASA y SOLAGRO) a través de sus organismos controladores biológicos, hace referencia a las mismas y cuenta con respaldo documentario de procedencia de dicho material. Asimismo, se hace la indicación de que toda información estadística o científica obtenida tuvo la autorización y citación de referencias necesarias.

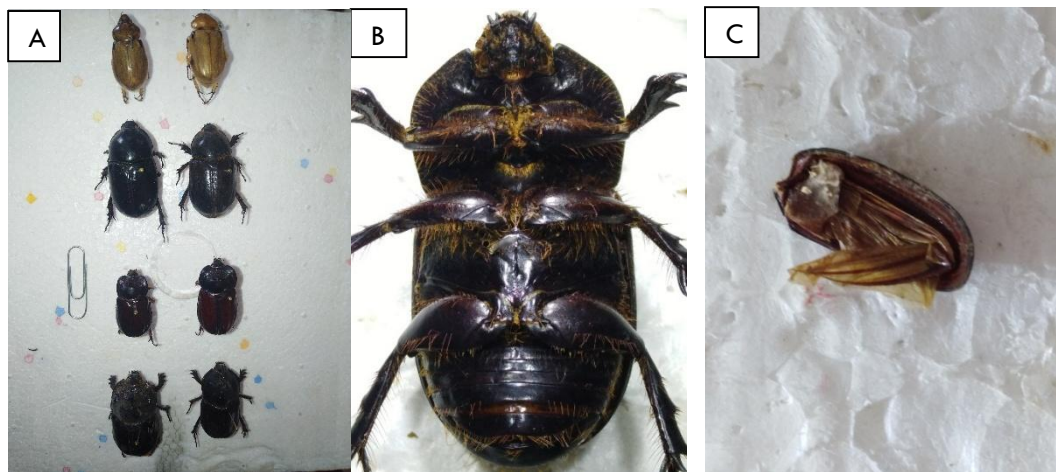
## IV. RESULTADOS

### 4.1. Identificación de Géneros de *Scarabaeidae*.-

La identificación de *Scarabaeidae* se realizó para cada uno de los 4 géneros de adultos recuperados por crianza a partir de larvas y pupas agrupadas por distrito, efectuando la caracterización morfológica y con el apoyo de las claves taxonómicas para tal fin. Este trabajo solamente llegó hasta nivel de taxón genérico, confirmando en principio el orden *Coleoptera* y la familia *Scarabaeidae* con la que se trabajó.

### 4.2. Orden *Coleoptera* – Principales Características Encontradas.-

En el presente trabajo de investigación, se confirmaron los caracteres correspondientes al orden *Coleoptera*, en lo referente a: metamorfosis completa; esclerotización corporal de adultos (A); aparato bucal tipo masticador (B); antenas que constan de máximo once artejos; coxas incrustadas en cavidades (B); élitros endurecidos; alas metatorácicas membranosas con mecanismos de plegamiento longitudinal y transversal (C); y, segmentos abdominales invaginados (B).



*Figura 15.* Características diferenciales confirmatorias de especímenes del Orden *Coleóptera* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

#### 4.2.1. *Familia Scarabaeidae* – Principales Características Encontradas.-

En el presente trabajo de investigación, se confirmaron los caracteres correspondientes a la Familia *Scarabaeidae*. Lamelas de maza antenal aplanadas. Maza antenal con últimos artejos pilosos (A). Espiráculos ubicados en tergitos (B).

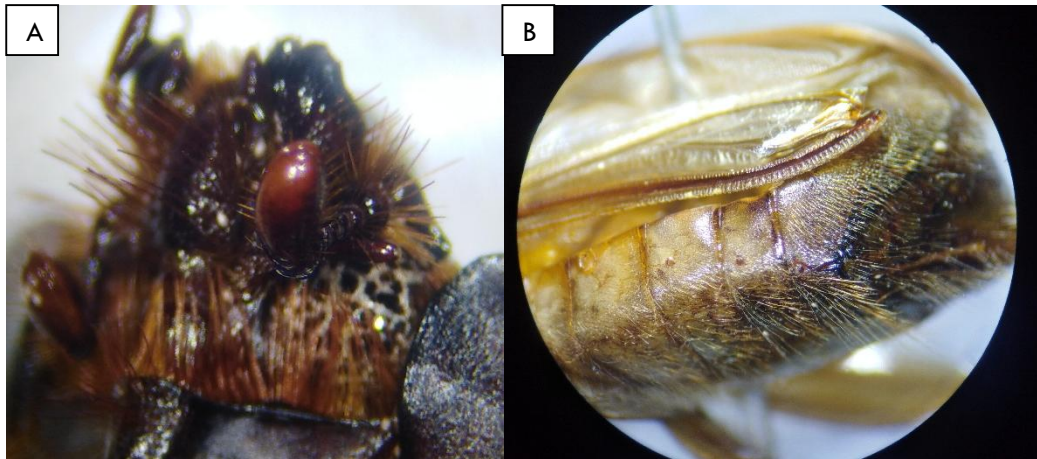


Figura 16. Características diferenciales confirmatorias de especímenes de la Familia *Scarabaeidae* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

#### 4.2.2. *Familia Melolonthidae* – Principales Características Encontradas.-

Lamelas de maza antenal aplanadas. Maza antenal con sedas largas y escasas (A).



Figura 17. Características diferenciales confirmatorias de especímenes de la Familia *Melolonthidae* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique Morales).

#### 4.2.3. Género *Tomarus* (*Ligyris*)

##### Principales características encontradas.-

Observaciones al estereoscopio, permitieron determinar las características diferenciales del Género *Ligyris*, indicadas en las claves taxonómicas. Estas fueron: Artejo basal de los tarsos posteriores dilatados triangularmente o cilíndricos (B). Cabeza y pronoto con impresiones, concavidades, cuernos o tubérculos más o menos conspicuos (A). Élitros brillantes, sin cubierta tomentosa y con filas dobles de puntos o costillas (F). Antenas con diez artejos (G). Tamaño mayor a 15 mm (C). Pronoto usualmente con tubérculos o foveas (D). Ápice del clipeo bidentado, truncado o redondeado (E). Cabeza sin una carina visible transversal preapical (I). Mandíbulas apenas visibles desde arriba o escondidas bajo el clipeo (H).

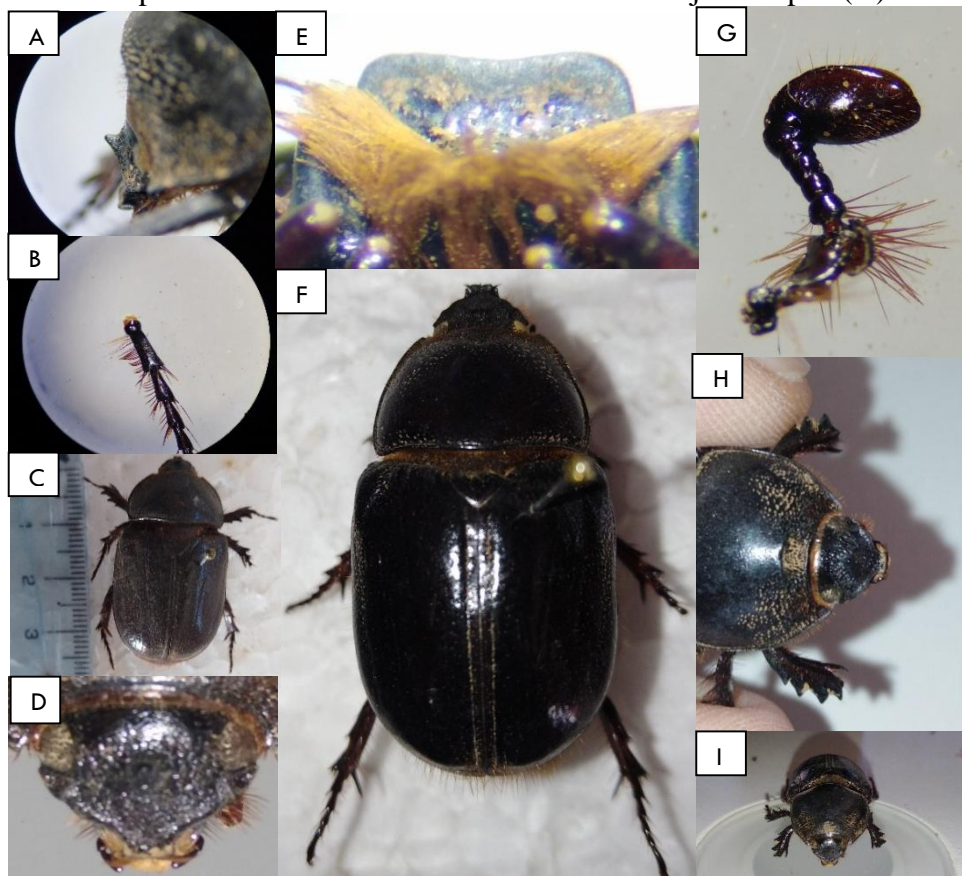


Figura 18. Características diferenciales encontradas en especímenes del Género *Tomarus* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique).



#### 4.2.4. Género *Dichotomius*

##### Principales características encontradas.-

Al estereoscopio, se determinaron las principales características diferenciales del Género *Dichotomius*, referidas en las claves taxonómicas utilizadas. Estas fueron: Meso y metatibias cortas y robustas, fuertemente y en ocasiones abruptamente ensanchadas apicalmente (A). Cabeza y pronoto generalmente con cuernos y protuberancias (E, F). Cada élitro con siete u ocho estrías discales (H). Tercer artejo de los palpos labiales bien desarrollado (B). Protarsos presentes y con uñas (C). Superficie dorsal glabra (E, G, H). Metatarsos con el artejo basal triangular (D). Clípeo usualmente muy rugoso (I). Cabeza con tubérculos o cuernos y pronoto generalmente con quillas, tubérculos o prominencias (E, F).

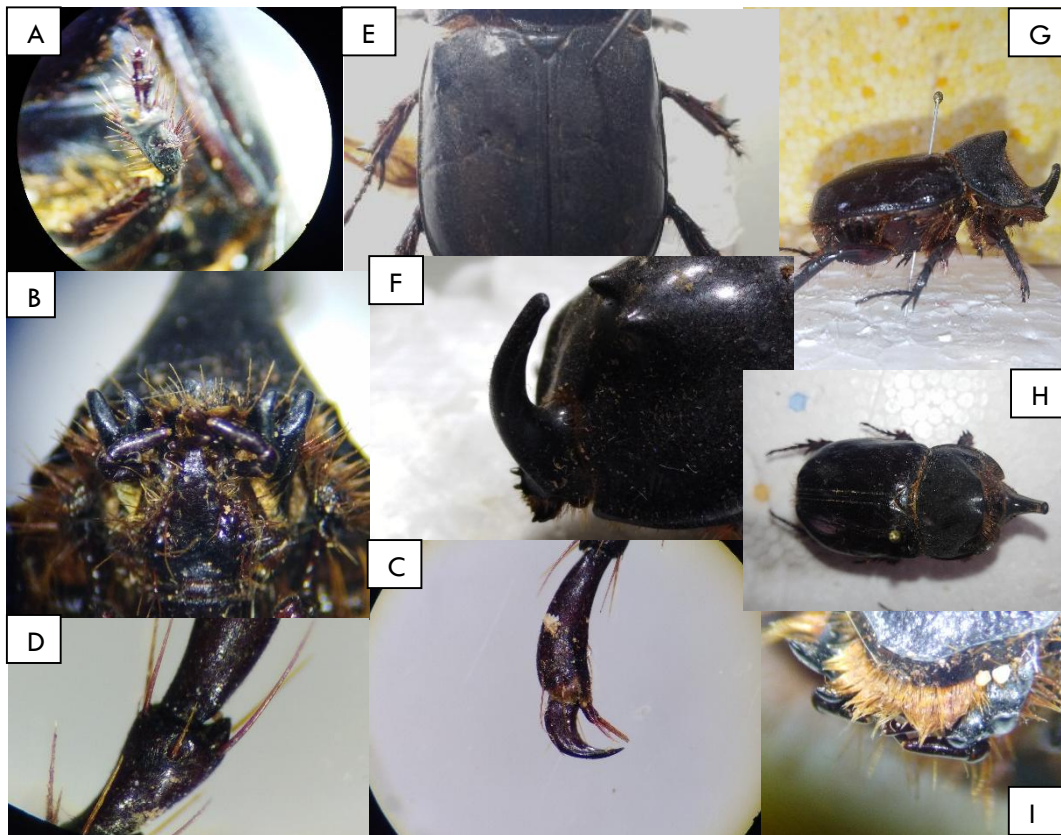


Figura 19. Características diferenciales encontradas en especímenes del Género *Dichotomius* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique).

#### 4.2.5. Género *Anomala*

##### Principales características encontradas.-

Mediante ayuda del estereoscopio, se determinaron las principales características del Género *Anomala*, con guía de las claves taxonómicas. Estas fueron: Margen elitral con borde membranoso (D). Antenas con nueve segmentos (A). Clípeo de forma variable pero no estrechado, extendido y elevado en el ápice (E). Espolón protibial presente (C). Lacinia con más de dos dientes (B). La mayor parte del labro oculto bajo el clípeo (E), Borde anterior del clípeo recto, redondeado, parabólico o proyectado (E). Borde lateral de los élitros no engrosado (G). Clípeo ampliamente redondeado o con el borde anterior casi recto (E). Cuerpo robusto y convexo (D, G, H). Espacio intercoxal del mesosternón estrecho, sin proyección notable (F).

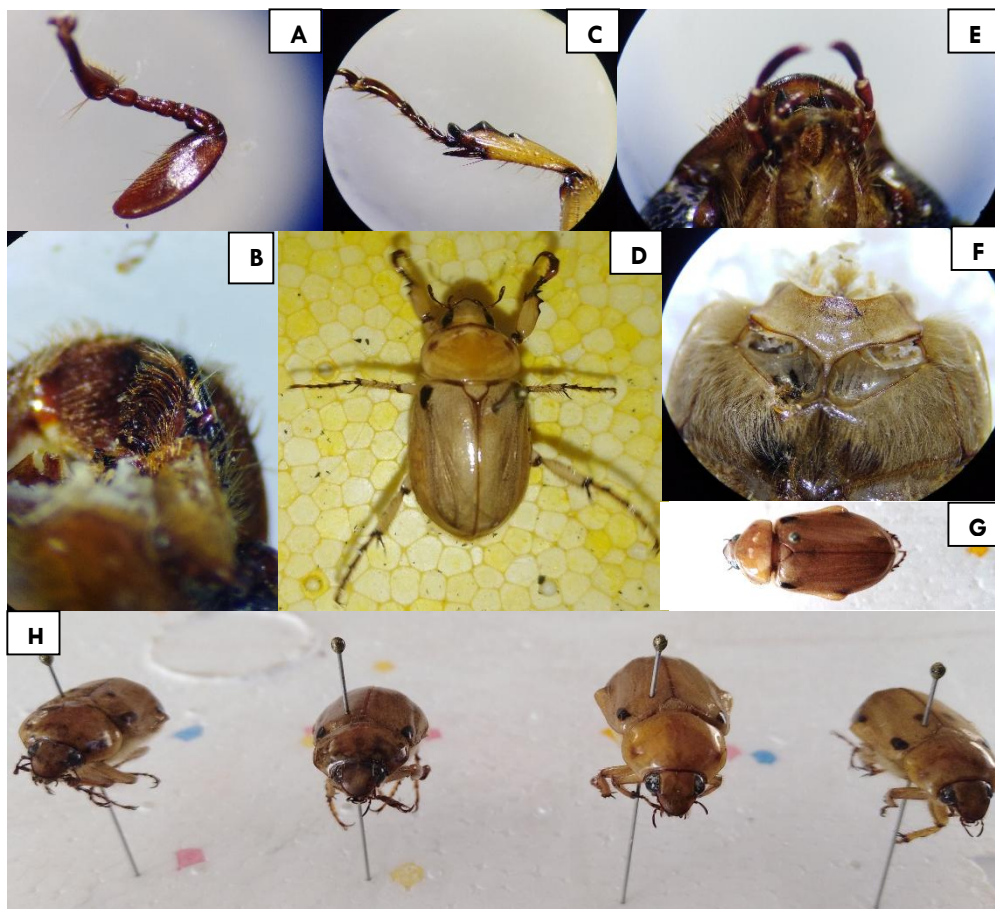


Figura 20. Características diferenciales encontradas en especímenes del Género *Anomala* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique).



#### 4.2.6. Género *Heterogomphus*

##### Principales características encontradas.-

Mediante observaciones al estereoscopio, se lograron determinar las principales características diferenciales del Género *Heterogomphus*, referidas en las claves taxonómicas utilizadas. Estas fueron: Artejo basal de los tarsos posteriores dilatados triangularmente o cilíndricos (A). Tamaño corporal pequeño o moderado (E). Cabeza y pronoto con impresiones, concavidades, cuernos o tubérculos más o menos conspicuos (D, E); si igualmente convexos, entonces patas más o menos robustas (G). Tarsos anteriores de los machos raramente engrosados (B). Élitros brillantes, sin cubierta tomentosa y con filas dobles de puntos o costillas (F). Ápice de la tibia posterior con dientes cortos o largos (C). Tibia anterior cuadridentada (H). Cuerpo ovalado (F). Armadura de los machos variable (D, E, F).

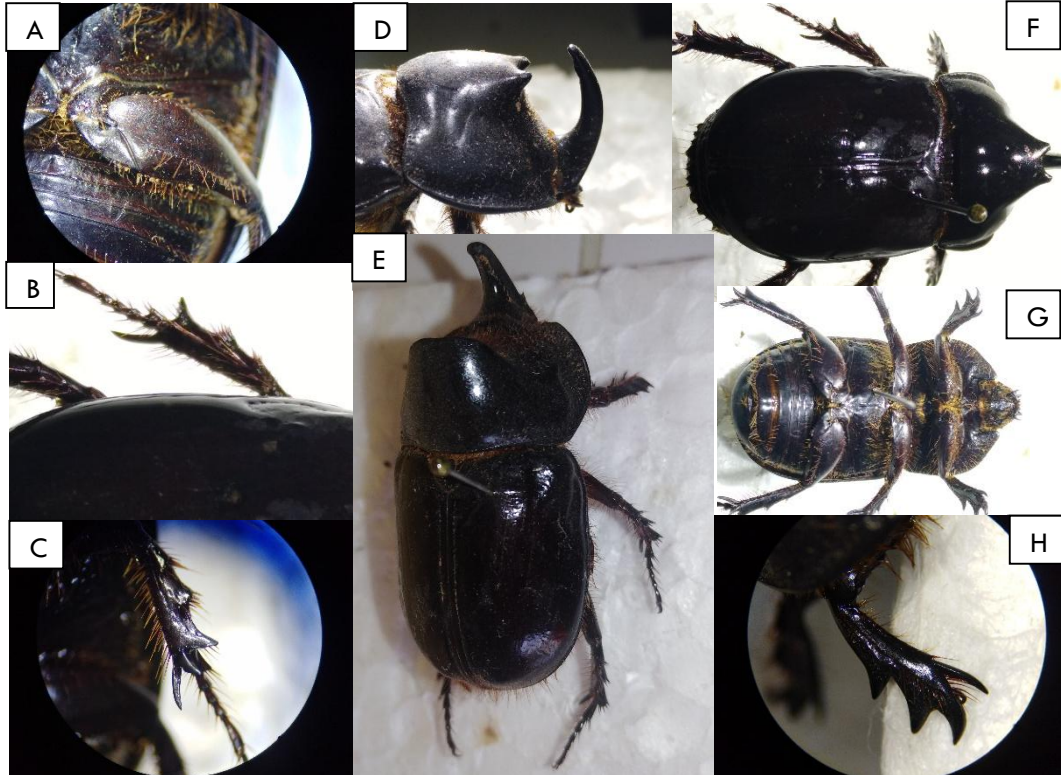


Figura 21. Características diferenciales encontradas en especímenes del Género *Heterogomphus* encontrados en arándano. Cajamarca, 2020. (Fuente: R. Llique).

### 4.3. Mortalidad de larvas

#### 4.3.1. Primera Evaluación (3 días después de la inoculación)

Tabla 7.

*Porcentaje de mortalidad de larvas Scarabaeidae con tratamientos de Beauveria bassiana (Valores Arcoseno), 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento		Bloques ( <i>Scarabaeidae</i> )			
Código	Cepa	I	II	III	IV
T0	Sin aplic.	4.05	4.05	4.05	4.05
T1	Bb5	4.05	4.05	4.05	33.21
T2	CCB-LE-265	4.05	4.05	4.05	4.05
T3	Bb3	4.05	18.43	4.05	4.05

Fuente: Registros del experimento

#### Análisis estadísticos de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos al día 3 después de la inoculación, se ha utilizado el análisis de varianza para un Diseño de Bloque Completamente al Azar, así como la prueba de conjuntos homogéneos con Tukey y Duncan a fin de establecer diferencias entre los tratamientos de ensayo. El procesamiento de datos se realizó en IBMSPPS Versión 25, cuyos resultados se presentan a continuación:

Tabla 8.

*Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	N	Media	Desviación Standard	Intervalo de confianza al 95%	
				Mínimo	Máximo
1: Testigo	4	4.050	4.239	-5.540	13.640
2: Bb5	4	11.340	4.239	1.750	20.930
3: CCB-LE-265	4	4.050	4.239	-5.540	13.640
4: Bb3	4	7.645	4.239	-1.945	17.235
Total	16	6.771	4.239	-2.819	16.362

Fuente: Registros de experimentación

En la Tabla 8, se observa que el tratamiento 2 (cepa Bb5) a los 3 días después de la inoculación, alcanza la mayor mortalidad de larvas (11.34) de *Scarabaeidae*, con una desviación estándar de 4.239. En seguida el tratamiento 4 (cepa Bb3) se muestra con una mortalidad de 7645. Finalmente están los tratamientos testigo y el tratamiento CCB-LE-265, con menores tasas de mortalidad.

Tabla 9.

*Prueba de Normalidad para las cepas de Beauveria bassiana, 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
2	0.441	4		0.630	4	0.001
4	0.441	4		0.630	4	0.001

\*Los tratamientos 1 y 3 se han obviado por mortalidad constante

Fuente: registros de experimento

En la Tabla 9, se observa que por el valor de la significación, los tratamientos no siguen una distribución normal.

Tabla 10.

*Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Sig.
Tratamiento (Cepa)	145.789	3	48.596	.676	.588
Bloque (Género de <i>Scarabaeidae</i> )	145.789	3	48.596	.676	.588
Error	647.028	9	71.892		
Total	1672.204	16			

Fuente: Registros de Experimentación

En la Tabla 10, se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa por los tratamientos, es decir, de las cepas de entomopatógeno *Beauveria bassiana*

para causar la mortalidad de los géneros de *Scarabaeidae* por patogénesis. El valor de p de la prueba del análisis de varianza para los tratamientos es  $p= 0.588$  siendo este valor  $p>0.05$  se acepta la Hipótesis  $H_0$  de igualdad de las medias de los tratamientos (cepas). Se concluye que al tercer día después de la inoculación del hongo todas las cepas determinan similar efecto sobre la mortalidad de los géneros de *Scarabaeidae*.

Tabla 11.

*Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 3 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Prueba	Cepa	N	Subconjunto
			1
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	1	4	4.05
	3	4	4.05
	4	4	7.65
	2	4	11.34
	Sig.		0.633
Duncan <sup>a,b</sup>	1	4	4.05
	3	4	4.05
	4	4	7.65
	2	4	11.34
	Sig.		0.284

Fuente: Registros de Experimentación

En la Tabla 11, de comparaciones de medias, tanto Tukey como Duncan indican que al 3er día después de la inoculación no existen diferencias entre cepas del entomopatógeno con respecto al resultado en mortalidad de larvas de los géneros de *Scarabaeidae*.

#### 4.3.2. Segunda Evaluación (8 días después de la inoculación)

Tabla 12.

*Porcentaje de mortalidad de larvas Scarabaeidae con tratamientos de Beauveria bassiana (Valores Arcoseno), 8 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento		Bloques ( <i>Scarabaeidae</i> )			
Código	Cepa	I	II	III	IV
T0	Sin aplic.	4.05	4.05	4.05	4.05
T1	Bb5	4.05	4.05	50.77	33.21
T2	CCB-LE-265	26.56	26.56	18.43	18.43
T3	Bb3	26.56	18.43	26.56	26.56

Fuente: Registros del experimento

#### **Análisis estadísticos de los resultados**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos al día 8 no se lleva a cabo porque conforme se determinó en la primera evaluación a los 3 días después de la inoculación, no hubieron cambios notables y tampoco significación estadística.

En tal sentido se continúa con la tercera evaluación y el análisis respectivo a partir de ella.

### 4.3.3. Tercera Evaluación (13 días después de la inoculación)

Tabla 13.

*Porcentaje de mortalidad de larvas Scarabaeidae con tratamientos de Beauveria bassiana (Valores Arcoseno), 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento		Bloques ( <i>Scarabaeidae</i> )			
Código	Cepa	I	II	III	IV
T0	Sin aplic.	4.05	4.05	4.05	4.05
T1	Bb5	26.56	4.05	71.56	39.23
T2	CCB-LE-265	39.23	56.79	56.79	26.56
T3	Bb3	33.21	26.56	33.21	33.21

Fuente: Registros del experimento

#### Análisis estadísticos de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos al día 13 después de la inoculación, se ha utilizado el análisis de varianza para un Diseño de Bloque Completamente al Azar, así como la prueba de conjuntos homogéneos con Tukey y Duncan a fin de establecer diferencias entre los tratamientos de ensayo. El procesamiento de datos se realizó en IBMSPSS Versión 25, cuyos resultados se presentan a continuación:

Tabla 14.

*Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
				L. inferior	L. superior		
1: Testigo	4	4.05	0.00	4.05	4.05	4.05	4.05
2: Bb5	4	35.35	28.18	-9.50	80.20	4.05	71.56
3: CCB-LE-265	4	44.84	14.73	21.40	68.29	26.56	56.79
4: Bb3	4	31.55	3.33	26.26	36.84	26.56	33.21
Total	16	28.95	21.21	17.64	40.25	4.05	71.56

Fuente: Registros de Experimento

En la Tabla 14, se observa que los tratamientos (cepas de hongo entomopatógeno) que muestran mayor mortalidad de larvas de los géneros de la familia *Scarabaeidae* son el Tratamiento 2: Bb5 y el Tratamiento 3: CCB-LE-265, los cuales muestran una media de 35.35 y 44.84 respectivamente. En ambos tratamientos se observa una Desviación Standard de 28.12 y 14.73 respectivamente. Por su parte el Tratamiento 1: Testigo sin aplicación, muestra el menor índice de mortalidad (4.05), mientras que el Tratamiento 4: Bb3, arroja una mortalidad menor (31.55) con respecto a los dos tratamientos que destacan en la evaluación. Para este tratamiento la desviación Standard es de 3.33.

Tabla 15.

*Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
1: Testigo	0.271	4		0.902	4	0.440
2: Bb5	0.274	4		0.854	4	0.240
3:CCB-LE-265	0.199	4		0.971	4	0.846
4: Bb3	0.271	4		0.902	4	0.440

Fuente: Registros de experimento.

Ho: La distribución es normal

H1: No es normal

Nivel de significancia =5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza Ho

Según la tabla 15, a los 13 días después de la inoculación, todos los Tratamientos con la prueba de Shapiro-Wilk, arrojan un valor de significancia mayor de 0.05 implica la aceptación de la hipótesis nula Ho, que indica que la distribución de

valores sigue un proceso de normalidad. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 16.

*Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
4.690	3	12	0.022

Fuente: Registros experimentación

La Tabla 16, muestra un nivel de significación mayor a 0,05 lo que indica que se acepta la hipótesis nula que manifiesta la homogeneidad de la varianzas. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 17.

*Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos (cepa)	3681.154	3	1227.051	4.979	0.026
Bloques	849.771	3	283.257	1.149	0.381
Error	2217.804	9	246.423		
Total	20156.053	16			

Fuente: Registros de experimento

Ho: Todos los tratamientos son iguales

H1: Alguno de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia =5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza la Ho



Según la Tabla 17, se muestra los resultados del análisis de varianza para mortalidad con los tratamientos consistentes en diferentes cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, sobre larvas de géneros de *Scarabaeidae*. La prueba es significativa  $p < 0.05$  para tratamientos, rechazando la hipótesis nula, por lo que se puede afirmar que existe diferencia entre los tratamientos del experimento que afectan significativamente la supervivencia de las larvas tratadas.

Tabla 18.

*Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 13 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Prueba	Tratamientos		N	1	2
	(Cepa)				
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	1: Testigo		4	4.05	
	4: Bb3		4	31.55	31.55
	2: Bb5		4	35.35	35.35
	3: CCB-LE-265		4		44.84
	Sig.			0.08	0.64
Duncan <sup>a,b</sup>	1: Testigo		4	4.05	
	4: Bb3		4		31.55
	2: Bb5		4		35.35
	3: CCB-LE-265		4		44.84
	Sig.			1.00	0.28

Fuente: Registros de experimento

La Tabla 18, muestra que para Tukey, los tratamientos con cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bb5 y Bb3, a los 13 días después de la inoculación, muestran una mortalidad de larvas de *Scarabaeidae* estadísticamente similar inclusive a la del testigo sin aplicación; pero a su vez se muestran similares a la mortalidad que manifiesta CCB-LE-265 que se observa con la mayor mortalidad al momento.

Sin embargo la prueba de Duncan hace una diferenciación más ajustada entre ellos, arrojando que los tratamientos con cepa de hongo entomopatógeno (Bb5, Bb3 y CCB-LE-265) se muestran similares en su mortalidad. El tratamiento testigo (sin aplicación), no muestra mortalidad alguna y se encuentra en último lugar.

#### 4.3.4. Cuarta Evaluación (18 días después de la inoculación)

Tabla 19.

*Porcentaje de mortalidad de larvas Scarabaeidae con tratamientos de Beauveria bassiana (Valores Arcoseno), 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento		Bloques ( <i>Scarabaeidae</i> )			
Código	Cepa	I	II	III	IV
T0	Sin aplic.	4.05	4.05	4.05	4.05
T1	Bb5	90.00	71.56	90.00	90.00
T2	CCB-LE-265	90.00	90.00	90.00	71.56
T3	Bb3	50.77	33.21	39.23	39.23

Fuente: Registros del experimento

#### Análisis estadísticos de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos al día 18 después de la inoculación, se ha utilizado el análisis de varianza para un Diseño de Bloque Completamente al Azar, así como la prueba de conjuntos homogéneos con Tukey y Duncan a fin de establecer diferencias entre los tratamientos de ensayo. El procesamiento de datos se realizó en IBM-SPSS Versión 25:

Tabla 20.

*Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
				Límite inferior	Límite superior		
1: Testigo	4	4.05	0.00	4.05	4.05	4.05	4.05
2: Bb5	4	85.39	9.22	70.71	100.0	71.56	90.00
3: CCB-LE-265	4	85.39	9.22	70.71	100.0	71.56	90.00
4: Bb3	4	40.61	7.34	28.92	52.29	33.21	50.77
Total	16	53.86	35.82	34.77	72.94	4.05	90.00

Fuente: Registros de Experimento

En la Tabla 20, se observa que los tratamientos (cepas de hongo entomopatógeno) que muestran mayor mortalidad de larvas de los géneros de la familia *Scarabaeidae* son el Tratamiento 2: Bb5 y el Tratamiento 3: CCB-LE-265, los cuales muestran una media de 85.39. En ambos tratamientos se observa una Desviación Standard de 9.22. Por su parte el Tratamiento 1: Testigo sin aplicación, muestra el menor índice de mortalidad (4.059), mientras que el Tratamiento 4: Bb3, arroja una mortalidad menor (40.61) con respecto a los dos tratamientos que destacan en la evaluación. Para este tratamiento la desviación Standard es de 7.34.

Tabla 21.

*Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
2: Bb5	0.441	4		0.630	4	0.001
3: CCB-LE-265	0.441	4		0.630	4	0.001
4: Bb3	0.325	4		0.900	4	0.432

Fuente: Registros de experimento.

Ho: La distribución es normal

H1: No es normal

Nivel de significancia = 5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza Ho

Según la tabla 21, a los 18 días después de la inoculación, el tratamiento testigo sin aplicación (tratamiento 1) manifiesta una mortalidad constante, por lo que la prueba lo ha omitido en el análisis. En tanto que el Tratamiento 4 (Cepa Bb3) con la prueba de Shapiro-Wilk, arroja un valor de significancia de 0.432 que por ser claramente mayor que 0,05 se acepta la hipótesis nula Ho, que indica que la distribución de

valores sigue un proceso de normalidad. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 22.

*Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2.755	3	12	0.088

Fuente: Registros experimentación

La Tabla 22, muestra un nivel de significación mayor a 0,05 lo que indica que se acepta la hipótesis nula que manifiesta la homogeneidad de la varianzas. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 23.

*Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamiento (cepas)	18579.522	3	6193.174	119.756	0.000
Bloques	206.409	3	68.803	1.330	0.324
Error	465.436	9	51.715		
Total	65665.760	16			

Fuente: Registros de experimento

Ho: Todos los tratamientos son iguales

H1: Alguno de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia =5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza la Ho

Según la Tabla 23, se muestra los resultados del análisis de varianza para mortalidad con los tratamientos consistentes en diferentes cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, sobre larvas de géneros de *Scarabaeidae*. La prueba es significativa  $p < 0.05$  para tratamientos, rechazando la hipótesis nula, por lo que se puede afirmar que existe diferencia entre los tratamientos del experimento que afectan significativamente la supervivencia de las larvas tratadas.

Tabla 24.

*Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 18 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Prueba	Tratamiento (cepa)	N	Subconjunto		
			1	2	3
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	1: Testigo	4	4.0500		
	4: Bb3	4		40.6100	
	2: Bb5	4			85.3900
	3: CCB-LE-265	4			85.3900
	Sig.		1.000	1.000	1.000
Duncan <sup>a,b</sup>	1: Testigo	4	4.0500		
	4: Bb3	4		40.6100	
	2: Bb5	4			85.3900
	3: CCB-LE-265	4			85.3900
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Fuente: Registros de experimento

La Tabla 24, muestra que para Tukey, los tres tratamientos con cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, muestran una mortalidad de larvas de

*Scarabaeidae* similar, no existiendo diferencias entre el efecto de las mismas, salvo con el tratamiento testigo sin aplicación que muestra una mortalidad nula.

Sin embargo la prueba de Duncan hace una diferenciación más ajustada entre ellos, arrojando que los dos mejores tratamientos de hongo entomopatógeno (Bb5 y CCB-LE-265) son los que destacan en cuanto a mortalidad de larvas de *Scarabaeidae*, y son los más eficaces en cuanto a patogenicidad a los 18 días después de la inoculación. En seguida, con una menor mortalidad de larvas se encuentra el tratamiento 4, con la cepa Bb3, que sería menos eficaz para el control con respecto a los dos anteriores. El tratamiento testigo (sin aplicación), no muestra mortalidad alguna y se encuentra en último lugar.

#### 4.3.5. Quinta Evaluación (23 días después de la inoculación)

Tabla 25.

*Porcentaje de mortalidad de larvas Scarabaeidae con tratamientos de Beauveria bassiana (Valores Arcoseno), 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento		Bloques ( <i>Scarabaeidae</i> )			
Código	Cepa	I	II	III	IV
T0	Sin aplic.	4.05	4.05	4.05	4.05
T1	Bb5	90.00	90.00	90.00	90.00
T2	CCB-LE-265	90.00	90.00	90.00	90.00
T3	Bb3	90.00	90.00	63.43	71.56

Fuente: Registros del experimento

#### Análisis estadísticos de los resultados

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos al día 23 después de la inoculación se ha utilizado el análisis de varianza para un Diseño de Bloque Completamente al Azar, así como la prueba de conjuntos homogéneos con Tukey y Duncan a fin de establecer diferencias entre los tratamientos de ensayo. El procesamiento de datos se realizó en IBMSPPS Versión 25, cuyos resultados se presentan a continuación:

Tabla 26.

*Estadísticos descriptivos para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
				L. inferior	L. superior		
1: Testigo	4	4.05	0.00	4.05	4.05	4.05	4.05
2: Bb5	4	90.00	0.00	90.00	90.00	90.00	90.00
3: CCB-LE-265	4	90.00	0.00	90.00	90.00	90.00	90.00
4: Bb3	4	78.74	13.41	57.40	100.0	63.43	90.00
Total	16	65.69	37.54	45.69	85.70	4.05	90.00

Fuente: Registros de Experimento



En la Tabla 26, se observa que los tratamientos (cepas de hongo entomopatógeno) que muestran mayor mortalidad de larvas de los géneros de la familia *Scarabaeidae* son el Tratamiento 2: Bb5 y el Tratamiento 3: CCB-LE-265, los cuales muestran una media de 90 (100% de mortalidad en los datos porcentuales sin transformación al arco seno). En ambos tratamientos no se observa desviación Standard. Por su parte el Tratamiento 1: Testigo sin aplicación, muestra el menor índice de mortalidad (4.059), mientras que el Tratamiento 4: Bb3, arroja una mortalidad menor (78.77) con respecto a los dos tratamientos que destacan en la evaluación. Para este tratamiento la desviación Standard es de 13.41.

Tabla 27.

*Prueba de Normalidad para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Tratamiento (cepa)	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
4: Bb3	0.299	4	-	0.843	4	0.205

Fuente: Registros de experimento.

Ho: La distribución es normal

H1: No es normal

Nivel de significancia =5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza Ho

Según la tabla 27, los tratamientos 1, 2 y 3 manifiestan una mortalidad constante, por lo que la prueba los ha omitido en el análisis. En tanto que el Tratamiento 4 (Cepa Bb3) con la prueba de Shapiro-Wilk, arroja un valor de significancia de 0.205 que es claramente mayor que 0,05 se acepta la hipótesis nula Ho, que indica que la distribución de valores sigue un proceso de normalidad. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 28.

*Prueba de Homogeneidad de Varianzas para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
0.023	3	12	0.995

Fuente: Registros experimentación

La Tabla 28, muestra un nivel de significación mayor a 0,05 lo que indica que se acepta la hipótesis nula que manifiesta la homogeneidad de la varianzas. Esto habilita para realizar el análisis de varianza para determinar la significación dentro de los tratamientos.

Tabla 29.

*Análisis de Varianza para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamiento (Cepa)	20607.759	3	6869.253	152.785	0.000
Bloques	134.881	3	44.960	1.000	0.436
Error	404.643	9	44.960		
Total	90209.809	16			

Fuente: Registros de experimento

Ho: Todos los tratamientos son iguales

H1: Alguno de los tratamientos es diferente

Nivel de significancia =5% = 0,05

Si  $p < 0.05$  se rechaza la Ho

Según la Tabla 29, se muestra los resultados del análisis de varianza para mortalidad con los tratamientos consistentes en diferentes cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, sobre larvas de géneros de *Scarabaeidae*. La prueba es significativa  $p < 0.05$ , rechazando la hipótesis nula, por lo que se puede afirmar que existe diferencia entre los tratamientos del experimento que afectan significativamente la supervivencia de las larvas tratadas.

Tabla 30.

*Sub conjuntos homogéneos para las pruebas de comparaciones de medias para mortalidad de larvas de Scarabaeidae por Beauveria bassiana, 23 días después de la inoculación. Cajamarca. 2020.*

Prueba	Tratamientos (Cepa)	N	Subconjunto para alfa= 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey <sup>a,b</sup>	1: Testigo	4	4.05		
	4: Bb3	4		78.75	
	2: Bb5	4		90.00	
	3: CCB-LE-265	4		90.00	
	Sig.		1.00	0.15	
Duncan <sup>a,b</sup>	1: Testigo	4	4.05		
	4: Bb3	4		78.75	
	2: Bb5	4			90.00
	3: CCB-LE-265	4			90.00
	Sig.		1.00	1.00	1.00

Fuente: Registros de experimento

La Tabla 30, muestra que para Tukey, los tres tratamientos con cepas de hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, muestran una mortalidad de larvas de *Scarabaeidae* similar, no existiendo diferencias entre el efecto de las mismas, salvo con el tratamiento testigo sin aplicación que muestra una mortalidad nula.

Sin embargo la prueba de Duncan hace una diferenciación más ajustada entre ellos, arrojando que los dos mejores tratamientos de hongo entomopatógeno (Bb5 y CCB-LE-265) son los que destacan en cuanto a mortalidad de larvas de *Scarabaeidae*, y son los más eficaces en cuanto a patogenicidad a los 23 días después de la inoculación. En seguida, con una menor mortalidad de larvas se encuentra el tratamiento 4, con la cepa Bb3, que sería menos eficaz para el control con respecto a los dos anteriores. El tratamiento testigo (sin aplicación), no muestra mortalidad alguna y se encuentra en último lugar.

#### 4.3.6. Evolución de la mortalidad en el ensayo

En general de manera gráfica se muestra la evolución de la mortalidad de las larvas de *Scarabaeidae* con los diferentes tratamientos, que muestran un ascenso con diferencias entre ellos, los que se presenta en las figuras siguientes.

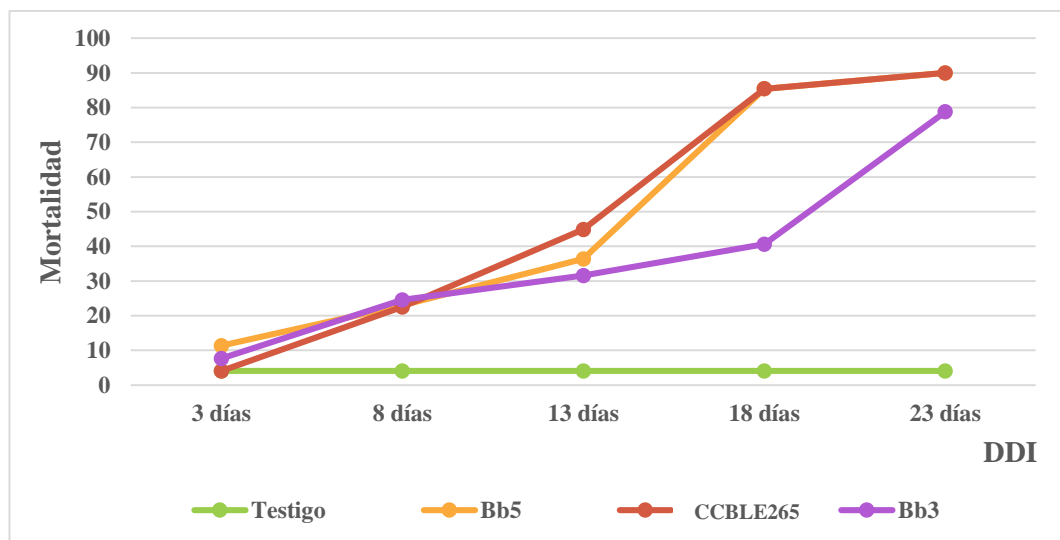


Figura 22. Evolución de la mortalidad promedio de larvas de *Scarabaeidae* con cada una de las cepas de *Beauveria bassiana*. Cajamarca. 2020.

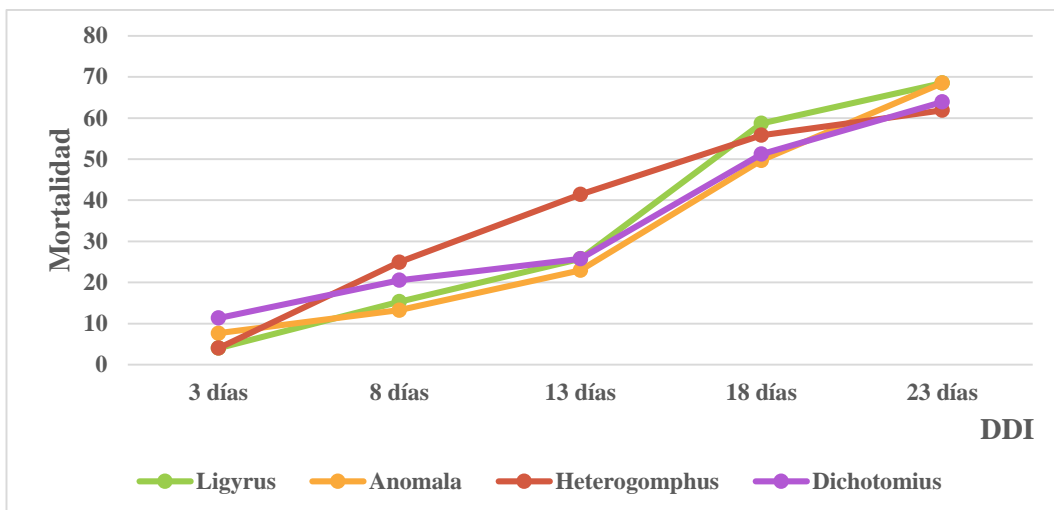


Figura 23. Evolución de la mortalidad promedio de cada uno de los géneros de *Scarabaeidae* con todas las cepas de *Beauveria bassiana*. Cajamarca, 2020.

#### 4.4. Confirmación de la presencia del entomopatógeno

De las larvas con esporulación incubadas en cámara húmeda y a una T° de 23° C por 5 días, se realizó la extracción de estructuras fungosas presentes en su organismo con las cuales se confirmó visualmente, basado en las estructuras características del hongo en el caso de las 03 cepas, la presencia de *Beauveria bassiana*. Trabajo que se realizó visualmente, al estereoscopio y al microscopio.

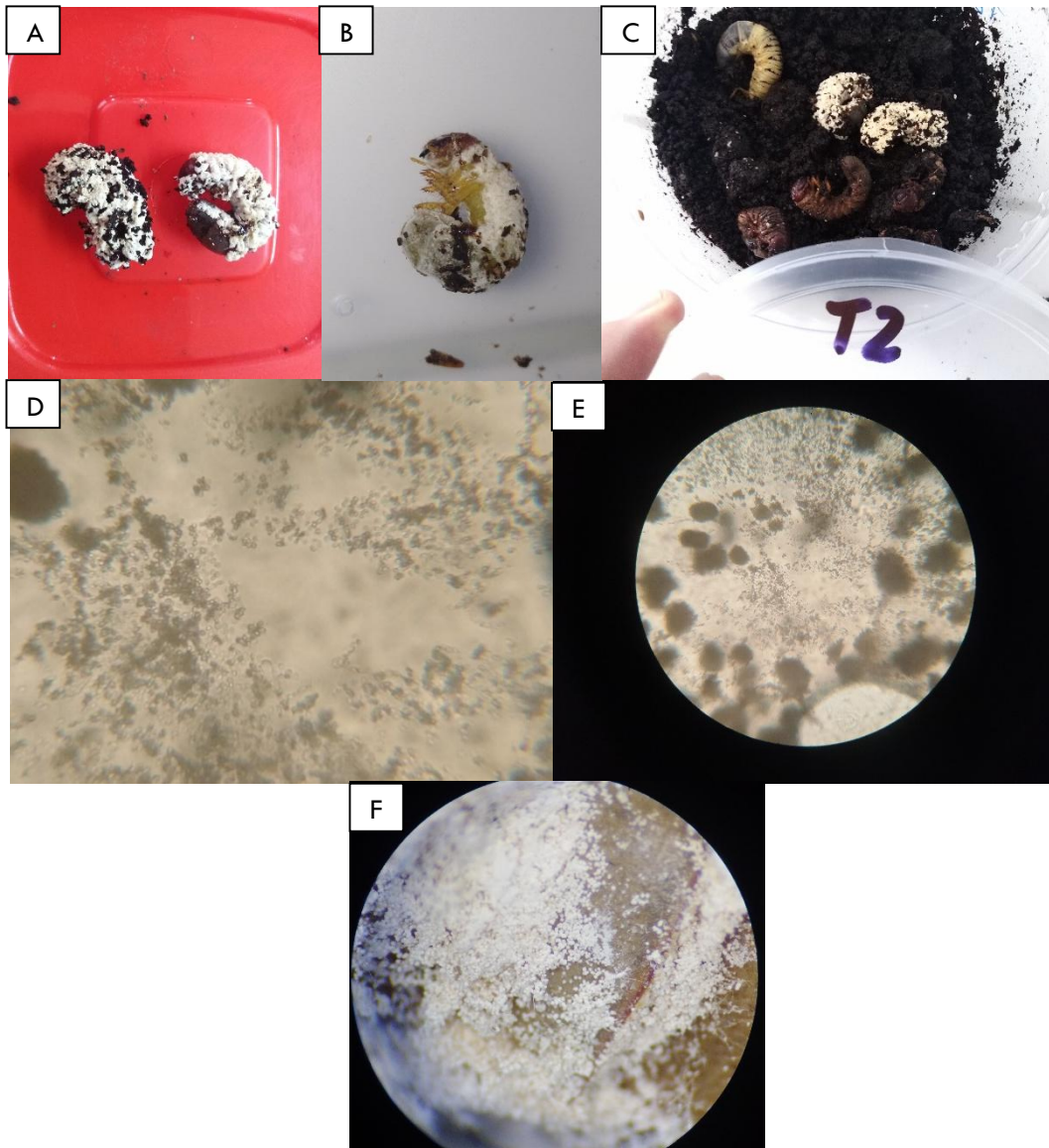


Figura 24. *Beauveria bassiana* esporulando en larvas de *Scarabaeidae* (A-C), Vista microscópica (40X) (D-E), Vista estereoscópica de *B. bassiana* esporulado (25X) (F). Cajamarca, 2020. (Fuente: Ronald Llique).

## V. DISCUSIÓN

Las cepas Bb5 y CCB-LE-265 de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, son las que muestran mayor patogenicidad calculada, lo que en términos numéricos se entiende como virulencia; iniciándose este proceso a los 3 días después de la inoculación (ddi), por lo que puede afirmarse que estas probablemente poseen mejor condición genética respecto de la codificación de las proteínas hidrofobinas, las cuales le confieren una mejor y más rápida adhesión a las estructuras cuticulares del cuerpo del insecto; hecho que es determinante en el proceso infeccioso.

De igual manera los aspectos genéticos sobre expresados en estas dos cepas con seguridad son los que determinan la degradación de compuestos cuticulares por quitinasas y; una mejor y mayor patogénesis en los insectos tratados, mediante la producción de sustancias tóxicas para tal fin.

En cada uno de los frascos del ensayo, conteniendo las unidades experimentales, se mostraron: larvas vivas, larvas muertas sin esporulación, larvas muertas con esporulación y larvas en descomposición; hecho que indica que no necesariamente en este tipo de trabajos de investigación la esporulación debe ser el parámetro indicador de eficacia del hongo, sino substancialmente la mortalidad del insecto tratado.

La cepa de *Beauveria bassiana* Bb3, también manifiesta una patogenicidad aceptable pero en un mayor tiempo desde la inoculación pues al concluir el ensayo no logró una mortalidad de 100%. En tal sentido este aspecto traducido en términos de ataque en el campo de cultivo, puede posibilitar mayores daños de la plaga en el arándano.

### **5.1. Evolución de la mortalidad promedio de larvas de *Scarabaeidae* con cada una de las cepas de *Beauveria bassiana***

En la Figura 22, podemos observar que las cepas Bb5 y Bb3 del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, son las que más rápidamente empiezan la patogénesis en las larvas de *Scarabaeidae*, iniciándose el proceso a los 3 días después de la inoculación aunque con un porcentaje de mortalidad bastante incipiente, mientras que la que mostró menos rapidez en el inicio de la mortalidad es la cepa CCB-LE-265, tratamiento que al tercer día no muestra inicio de patogénesis. En tanto el testigo se mantiene inocuo a las larvas por el hecho de no contener tratamiento entomopatógeno alguno.

Al 8vo. día después de la inoculación, las tres cepas bajo estudio de *Beauveria bassiana*, manifiestan patogenicidad con tasas de mortalidad similares y en ascenso, destacando ligeramente la cepa Bb3, respecto de las otras dos. El testigo no manifiesta infección alguna.

En la tercera evaluación, coincidente con el día 13 después de la inoculación, empiezan a marcarse las diferencias en tasas de mortalidad entre las 3 cepas bajo estudio. Destaca ligeramente la cepa CCB-LE-265, respecto de las otras dos. En seguida se muestra la cepa Bb5 y finalmente por debajo de las dos indicadas, la cepa Bb3. El testigo no manifiesta infección alguna.

Para el día 18 después de la inoculación, las cepas Bb5 y CCB-LE-265 se muestran con mayor tasa de mortalidad, siendo exactamente igual en ambas y manifestando un ascenso fuertemente marcado, mientras que la cepa Bb3 si bien manifiesta continuar en ascenso, ha quedado rezagada en términos de causa de mortalidad de



las larvas de *Scarabaeidae*. Respecto al tratamiento testigo, en la medida de que no posee tratamiento entomopatógeno, no manifiesta mortalidad absoluta en ninguna de las unidades experimentales.

Finalmente en el día 23 después de la inoculación, que es cuando se realizó la última evaluación, los tratamientos correspondientes a las cepas Bb5 y CCB-LE-265, muestran una tasa de mortalidad del 100%. Respecto de la cepa Bb3, terminó el ensayo con una tasa de mortalidad menor al 100%, pues existieron larvas sobrevivientes a este tratamiento por lo que se muestra con menor patogenicidad con respecto a las dos cepas anteriormente mencionadas. El testigo para esta fecha tampoco mostró ninguna actividad de infección o patogénesis en ninguna de las especies de *Scarabaeidae* del ensayo, lo cual resulta lógico en razón a no contener algún tratamiento entomopatógeno.

## **5.2. Evolución de la mortalidad promedio de cada uno de los géneros de *Scarabaeidae* con todas las cepas de *Beauveria bassiana***

En la Figura 23, podemos notar que la tendencia de todos los géneros a lo largo del proceso de enfrentamiento con el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* es a un ascenso bastante marcado y paulatino en la mortalidad, provocada por las cepas en general de dicho hongo. Sin embargo se nota una mortalidad ligeramente más marcada en los géneros *Dichotomius sp.* y *Anomala sp.* y ligeramente menor en los géneros *Heterogomphus sp.* y *Ligyris sp.* con una mortalidad casi nula de 4.05 (que representan un 0 % sin transformación de datos) con respecto a los dos géneros anteriores. Sin embargo al día 23 de enfrentamiento, que representa la culminación

del experimento, los géneros que mostraron mortalidad completa con un valor de 68.51 (es decir el 100% sin transformación de datos) son los géneros *Ligyris sp.* y *Anomala sp.*, de los cuales murieron la totalidad de sus larvas en todos los tratamientos, por lo que se podría afirmar que estos dos géneros se comportan como más susceptibles al efecto del hongo *Beauveria bassiana*.

En lo que respecta a los géneros *Dichotomius sp.* y *Heterogomphus sp.* al finalizar el experimento muestra un cierto porcentaje de larvas que sobrevivieron al ataque de las cepas de *Beauveria bassiana*, destacando dentro de los dos el género *Heterogomphus sp.* quien manifestó una mortalidad de 61.87 (que representa un 80% con datos no transformados). Esto podría hacernos afirmar que *Heterogomphus sp.* es más resistente al efecto de *Beauveria bassiana* como controlador biológico.

### **5.3. Patogenicidad de las cepas de *Beauveria bassiana* en larvas de *Scarabaeidae***

Mediante las pruebas de subconjuntos homogéneos de Duncan (Tabla 30) se ha determinado que al cabo del ensayo (23 días después de la inoculación), las cepas que mostraron una mayor mortalidad son las cepas del hongo entomopatógeno Bb5 y CCB-LE-265, pues muestran una mayor tasa de mortalidad y destacan respecto al tratamiento con la cepa Bb3 y por supuesto el testigo sin aplicación. Esto, en términos de eficacia indica que los dos tratamientos indicados son los más eficaces en cuanto a control de las larvas de *Scarabaeidae*.

Asimismo, mediante las pruebas de subconjuntos homogéneos de Duncan (Tabla 24) se ha determinado que al cabo del ensayo (18 días después de la inoculación), las cepas que también mostraron una mayor mortalidad son las cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, Bb5 y CCB-LE-265, pues muestran una mayor tasa de mortalidad y destacan respecto al tratamiento con la cepa Bb3 y por supuesto el testigo sin aplicación. Esto igualmente, en términos de eficacia indica que los dos tratamientos indicados son los más eficaces en cuanto a control de las larvas de *Scarabaeidae*. En tal sentido, habiéndose iniciado las diferencias estadísticas para este momento (día 18), ya se pueden establecer conclusiones sobre el inicio de la patogenicidad de aquí en adelante.

A los 13 días después de la inoculación, las pruebas estadísticas (Tabla 18) arrojan resultados de mortalidad similares entre todos los tratamientos, inclusive el testigo, por lo que no sería recomendable, realizar un análisis de diferencias en patogenicidad en ese momento.

Respecto a los análisis estadísticos realizados para los datos de las evaluaciones correspondientes a los días 3 y 8 después de la inoculación de las cepas del hongo *Beauveria bassiana*, no manifiestan mayor diferencia en cuanto a mortalidad de larvas de *Scarabaeidae*, posiblemente porque en esos plazos, el hongo está recién ejerciendo su proceso infeccioso, que como se mencionó en páginas anteriores toma varias etapas para lograr ocasionar la muerte de los insectos (fijación, germinación, penetración, superación de respuesta inmune, proliferación y crecimiento en el huésped).

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1. En el presente estudio se determinó que las cepas más patogénicas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, causando la infección y muerte de larvas de *Scarabaeidae* bajo condiciones in vivo, son las cepas Bb5 y CCB-LE-265 a dosis comerciales, las cuales mostraron mayor porcentaje de mortalidad y en un menor tiempo de acción, respecto a las otras cepas del ensayo. Se obtuvo una mortalidad del 100% a los 23 días después de la inoculación.
- 6.2. Los géneros de *Scarabaeidae* que atacan al arándano en la provincia de Cajamarca y que se lograron coleccionar en campo, criar en laboratorio y determinar como resultado del proceso de identificación morfológica por características diferenciales macro y microscópicas, son: *Tomarus sp.* (*Ligyris sp.*), *Anomala sp.*, *Heterogomphus sp.*, y *Dichotomius sp.* (*Coleoptera : Scarabaeidae*).
- 6.3. Según este ensayo las evaluaciones que permiten evidenciar diferencias en el inicio de la patogenicidad de las cepas de *Beauveria bassiana* estudiadas sobre larvas de *Scarabaeidae*, deben iniciarse a partir de los 18 días después de la inoculación, puesto que antes no se establecerán resultados comparables entre tratamientos.

## VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Ensayar las cepas del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bb5 y CCB-LE-265, a nivel de campos de cultivo para evaluar su patogenicidad in situ frente a los *Scarabaeidae* determinados en el presente estudio y otros de la misma familia que atacan al arándano en las zonas de cultivo.
- 7.2. Realizar la caracterización molecular de las cepas más promisorias de *Beauveria bassiana* determinadas en el presente estudio para establecer las características genéticas que determinan una mayor patogenicidad del hongo y por ende trabajar en forma direccionada estos aspectos, con la finalidad de lograr mayor eficacia.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO-ZARAGAZA, M. (2015). Orden Coleoptera. *Revista IDE@-SEA*, 55, 1-18.
- Arias, E., Vela, A. & Llique, R. (2018). Efecto de cuatro entomopatógenos en el control in vitro del escarabajo defoliador (*Disonycha sp.*) en el cultivo de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú.
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. *Illustrated genera of imperfect fungi*. (3rd ed).
- Bustillo Alvarez, A. (2018). El cultivo del arándano (*Vaccinium corymbosum*) y su proyección en Colombia.
- Caballero Carvajal, J. D. J. (2015). Crecimiento y desarrollo vegetativo de dos cultivares de arándanos (Biloxi y Sharpblue) en la Sabana de Bogotá.
- Calla, Gómez, L. d. C., & Escobar Torres, L. I. (2018). Influencia de la cadena productiva de arándanos en la provincia de Cajamarca en su comercio internacional hacia el mercado Estadounidense, ciudad de Boston, para el año 2018.
- Cárdenas, A. B., Villalba, D. A., Bustillo, A. E., Montoya, E. C., & Góngora, C. E. (2008). Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café.
- Dávila, M., Zambrano, K., & Castillo, M. A. (2001). Uso de la técnica RAPD para la Identificación de fragmentos de ADN posiblemente relacionados con virulencia en hongos entomopatógenos. *Bioagro*, 13(3).
- Chemical Processes Industries S.A.C. (2016). Ficha Técnica CropField pH Max. CPICF – FT042. Revisión 03. Aprobado JR. Recuperado de <http://cropfield.pe/ingl/wp-content/uploads/2017/02/FT-CROPFIELD-pH-MAX.pdf>
- Cisternas, E., Undurraga, P., & Vargas, S. (2013). Insectos plaga de importancia económica asociados al arándano. *Manual de arándano Boletín INIA*, (263), 91-106.
- De Faria, M. R., Wraight, S.P., (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control* 43, 237 - 256.
- Delgado, L., Pérez, A., & Blackaller, J. (2000). Claves para determinar a los taxones genéricos y supragenéricos de Scarabaeoidea Latreille, 1802 (Coleoptera) de México. *Folia Entomológica Mexicana*, 110, 33-87.

- Erlar, F., & Ates, A. O. (2015). Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle. *Journal of Insect Science*, 15(1), 44.
- Escalona, H. E., & Joly, L. J. (2006). El género *Ligyris* Burmeister, 1847 en Venezuela (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae: Pentodontini). *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 39, 111-137.
- FAO, (2018). Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias. NIMF 5. Glosario de términos fitosanitarios. Recuperado de [https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2018/07/ISPM\\_05\\_2018\\_Es\\_2018-07-10\\_PostCPM13.pdf](https://www.ippc.int/static/media/files/publication/es/2018/07/ISPM_05_2018_Es_2018-07-10_PostCPM13.pdf)
- FERNÁNDEZ H, C. L. A. U. D. I. O. (2003). Susceptibilidad de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Iponomeutidae) a diferentes aislamientos nativos de *Beauveria bassiana* y su efecto adicional sobre otros lepidópteros asociados a la coliflor. *Revista Colombiana de Entomología*, 29(2), 211-219.
- France, I., Gerding, G., Gerding, M., & Sandoval, A. (2000). Patogenicidad de una colección de cepas nativas de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. en *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. *Agricultura Técnica*, 60(3), 205-215.
- Gan, H., Churchill, A. C., & Wickings, K. (2017). Invisible but consequential: root endophytic fungi have variable effects on belowground plant–insect interactions. *Ecosphere*, 8(3).
- García-Atencia, S., & Martínez-Hernández, N. (2015). Escarabajos fitófagos (Coleoptera: Scarabaeidae) del departamento del Atlántico, Colombia. *Acta zoológica mexicana*, 31(1), 89-96.
- Gasca-Álvarez, H. J. (2014). Sobre la taxonomía y biología de *Cyclocephala mannheimsi* Endrödi, 1964 (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae), nuevo registro para Colombia. *Acta zoológica mexicana*, 30(1), 174-187.
- Gonçalves, P. A., Werner, H., & Debarba, J. F. (2004). Avaliação de biofertilizantes, extratos vegetais e diferentes substâncias alternativas no manejo de tripses em cebola em sistema orgânico. *Horticultura Brasileira*, 22(3), 659-622.
- González Contreras, C. A. (2016). *Estudio y mejoramiento en los procesos productivos en el cultivo de arándanos de la empresa Millaranda* (Doctoral dissertation, Universidad Andrés Bello).
- González, R. H. (1989). *Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile* (pp. 400-400). Santiago: Universidad de Chile.
- Gordó, M. (2008). Guía práctica para el cultivo de Arándanos en la zona norte de la provincia de Buenos Aires. *San Pedro: INTA*.

- Huarte Bonnet, C. (2017). *Caracterización molecular de genes del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana involucrados en la captación y degradación de hidrocarburos de insecto* (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas).
- Jiménez-Medina, J., Aldebis, H. K., & Santiago-Alvarez, C. (1997). Valoración insecticida de diversos aislados de hongos hifomicetos para el control de la langosta mediterránea, *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg). *Resúmenes VI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada. Lleida*, 17.
- Kohlmann, B., & Solís, A. (1997). El género *Dichotomius* (Coleoptera: Scarabaeidae) en Costa Rica. *Giornale italiano di Entomologia*, 8(47), 343-382.
- Koo, W (1 de marzo de 2020). Arándanos: ¿por qué si el Perú es el primer exportador en el mundo aún no conquista nuestra mesa? *El Comercio*. Recuperado de <https://www.agrodataperu.com/2020/03/arandanos-peru-primer-exportador-mundial.html>.
- López-García, M. M., & Deloya, C. (2018). Description of the female of *Tomarus rostratus* Dupuis and new synonyms and records for the genus *Tomarus* Erichson (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). *The Coleopterists Bulletin*, 72(2), 331-338.
- Mafla, A. M. L., Villamil, L. A. P., & Ibarra, T. B. (2004). Evaluación de la actividad biocontroladora de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Ancognatha scarabaeiodes* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 5(1), 43-48.
- Medina Campos, L. R. (2016). El mercado de Países Bajos como una oportunidad de negocios para la exportación de arándanos peruanos en el periodo 2017–2021.
- Medina, C. A., & Toro, A. L. (2000). Clave ilustrada para la identificación de géneros de escarabajos coprófagos (Coleoptera: Scarabaeinae) de Colombia. *Caldasia*, 22(2), 209-315.
- Ministerio de Agricultura y Riego (2019). Boletín estadístico mensual: “El Agro en cifras”. Mes: Marzo 2019.
- Ministerio de Agricultura y Riego (2016). Manual Técnico: “El arándano en el Perú y el mundo: Producción, Comercio y Perspectivas 2016”. Dirección General de Políticas Agrarias. Dirección de Estudios Económicos e información Agraria.
- Molina, J. M. (2001). Incidencia de *Tropinota squalida* (Scopoli, 1783) (Coleoptera: Scarabaeidae) en el cultivo del arándano en Huelva (España). Problemática asociada a su control. *Zapateri Rvta. Aragon. Ent*, 9, 93-98.
- Morelli, E. (1996). Descripción de la larva y de la pupa de *Homonyx chalcea* Blanchard, 1850 (Coleoptera, Scarabaeidae, Rutelinae). *Acta Zoológica Mexicana (ns)*, 68(68), 53-60.



- Motta-Delgado, P. A., & Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua-An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 6(2), 77-90.
- Nájera-Rincón, M. B., Martínez, M. G., Crocker, R. L., Hernández-Velázquez, V., & del Bosque, L. R. (2005). Virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, nativos del occidente de México, contra larvas de tercer estadio de *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae) bajo condiciones de laboratorio. *Fitosanidad*, 9(1), 33-36.
- Paita Ponce, M. S. (2017). Situación actual del cultivo del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en Huarney.
- Pérez, D., & Iannacone, J. (2006). Efectividad de extractos botánicos de diez plantas sobre la mortalidad y repelencia de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., insecto plaga del Pijuayo *Bactris gasipaes* Kunth en la Amazonía del Perú. *Agricultura Técnica*, 66(1), 21-30.
- Rocca, M. (2010). *Diversidad de los artrópodos fitófagos del cultivo de arándano (Vaccinium corymbosum) en la Argentina* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Salbiah, D., & Laoh, J. H. Uji Beberapa Dosis *Beauveria bassiana* vuillemin terhadap Larva Hama Kumbang Tanduk *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera; Scarabaeidae) pada Kelapa Sawit. *Jurnal Teknobiologi*, 4(2), 137-142.
- Samson, R. A., Evans, H. C., & Latgé, J. P. (2013). *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer Science & Business Media.
- Sender Uribe, J. D., Chuchón, G., & Rolfi, S. (2017). Impacto del uso de drones para fumigación de cultivos de arándanos en el departamento de La Libertad-Perú (tesis de pregrado). Lima – Perú.
- SCB-SENASA (2020). Ficha Técnica - 1. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Cepa CCB – LE 265.
- Sistema Integrado de Gestión en Centros de Diagnóstico – Servicio Nacional de Sanidad Agraria (2020). Dirección Ejecutiva Cajamarca. Consulta.
- Sierra Exportadora (2016). Perspectivas del cultivo de arándano en el Perú. (en línea) Recuperado de <https://www.gestion.pe/economia/produccion-arandano-peruano-duplicara-ano-sierra-exportadora-147151>.
- Soluciones Agrosostenibles S.A.C. (2018). Ficha Técnica Beauvesol. I.A. *Beauveria bassiana*. Recuperado de <https://solagro.com.pe/wp-content/uploads/2018/04/3.-FT.-BEAUVESOL.pdf>
- Téllez-Jurado, A., Cruz Ramírez, M. G., Mercado Flores, Y., Asaff Torres, A., & Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*, 30, 73-80.

Tolosa, W., Henao, H., Salazar, C., & Peña, L. (2004). EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* PARA EL CONTROL DE CHISAS *Astaena* sp (Coleoptera: Scarabaeidae) EN NARIÑO. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 21(1 y 2).

Vidal, I. (2015). Fertirriego en berries.

Villamil, J. E., & Martínez, J. W. (2014). Evaluación de aislamientos nativos de *Beauveria* Spp. sobre *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in vitro. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(1), 92-105.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596.

## IX. Anexos

### Anexo 01. Cartillas de Recolección de Datos en Prueba de Patogénesis

#### A) 03 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN

Tratamiento (Cepa de hongo)	Unidad experimental (Especie de insecto)	Evento (H, I, M, E)	Días a la ocurrencia (N° DDI)	Afectación (afectados/ total) (%)	Valor Transformado
1	1	M	3	0	4.05
1	2	M	3	0	4.05
1	3	M	3	0	4.05
1	4	M	3	0	4.05
2	1	M	3	0	4.05
2	2	M	3	0	4.05
2	3	M	3	0	4.05
2	4	M	3	30	33.21
3	1	M	3	0	4.05
3	2	M	3	0	4.05
3	3	M	3	0	4.05
3	4	M	3	0	4.05
4	1	M	3	0	4.05
4	2	M	3	10	18.43
4	3	M	3	0	4.05
4	4	M	3	0	4.05

#### **Cepa del hongo:**

- 1: Testigo (T0)
- 2: Bb5 (T1)
- 3: CCB-LE-265 (T2)
- 4: Bb3 (T3)

#### **Especies:**

1. *Tomarus sp.*
2. *Anomala sp.*
3. *Heterogomphus sp.*
4. *Dichotomius sp.*

## B) 08 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN

<b>Tratamiento</b> (Cepa de hongo)	<b>Unidad experimental</b> (Especie de insecto)	<b>Evento</b> (H, I, M, E)	<b>Días a la ocurrencia</b> (N° DDI)	<b>Afectación</b> (afectados/total) (%)	<b>Valor Transformado</b>
1	1	M	8	0	4.05
1	2	M	8	0	4.05
1	3	M	8	0	4.05
1	4	M	8	0	4.05
2	1	M	8	0	4.05
2	2	M	8	0	4.05
2	3	M	8	60	50.77
2	4	M	8	30	33.21
3	1	M	8	20	26.56
3	2	M	8	20	26.56
3	3	M	8	10	18.43
3	4	M	8	10	18.43
4	1	M	8	20	26.56
4	2	M	8	10	18.43
4	3	M	8	20	26.56
4	4	M	8	20	26.56

**Cepa del hongo:**

- 1: Testigo (T0)
- 2: Bb5 (T1)
- 3: CCB-LE-265 (T2)
- 4: Bb3 (T3)

**Especies:**

- 1. *Tomarus sp.*
- 2. *Anomala sp.*
- 3. *Heterogomphus sp.*
- 4. *Dichotomius sp.*

### C) 13 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN

Tratamiento (Cepa de hongo)	Unidad experimental (Especie de insecto)	Evento (H, I, M, E)	Días a la ocurrencia (N° DDI)	Afectación (afectados/total) (%)	Valor Transformado
1	1	M	13	0	4.05
1	2	M	13	0	4.05
1	3	M	13	0	4.05
1	4	M	13	0	4.05
2	1	M	13	20	26.56
2	2	M	13	0	4.05
2	3	M	13	90	71.56
2	4	M	13	40	39.23
3	1	M	13	40	39.23
3	2	M	13	70	56.79
3	3	M	13	70	56.79
3	4	M	13	20	26.56
4	1	M	13	30	33.21
4	2	M	13	20	26.56
4	3	M	13	30	33.21
4	4	M	13	30	33.21

**Cepa del hongo:**

- 1: Testigo (T0)
- 2: Bb5 (T1)
- 3: CCB-LE-265 (T2)
- 4: Bb3 (T3)

**Especies:**

- 1. *Tomarus sp.*
- 2. *Anomala sp.*
- 3. *Heterogomphus sp.*
- 4. *Dichotomius sp.*

## D) 18 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN

Tratamiento (Cepa de hongo)	Unidad experimental (Especie de insecto)	Evento (H, I, M, E)	Días a la ocurrencia (N° DDI)	Afectación (afectados/ total) (%)	Valor Transformado
1	1	M	18	0	4.05
1	2	M	18	0	4.05
1	3	M	18	0	4.05
1	4	M	18	0	4.05
2	1	M	18	100	90.00
2	2	M	18	90	71.56
2	3	M	18	100	90.00
2	4	M	18	100	90.00
3	1	M	18	100	90.00
3	2	M	18	100	90.00
3	3	M	18	100	90.00
3	4	M	18	90	71.56
4	1	M	18	60	50.77
4	2	M	18	30	33.21
4	3	M	18	40	39.23
4	4	M	18	40	39.23

### **Cepa del hongo:**

- 1: Testigo (T0)
- 2: Bb5 (T1)
- 3: CCB-LE-265 (T2)
- 4: Bb3 (T3)

### **Especies:**

- 1. *Tomarus sp.*
- 2. *Anomala sp.*
- 3. *Heterogomphus sp.*
- 4. *Dichotomius sp.*

### E) 23 DÍAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN

<b>Tratamiento</b> <b>(Cepa de hongo)</b>	<b>Unidad experimental</b> <b>(Especie de insecto)</b>	<b>Evento</b> <b>(H, I, M, E)</b>	<b>Días a la</b> <b>ocurrencia</b> <b>(N° DDI)</b>	<b>Afectación</b> <b>(afectados/</b> <b>total)</b> <b>(%)</b>	<b>Valor</b> <b>Transformado</b>
1	1	M	23	0	4.05
1	2	M	23	0	4.05
1	3	M	23	0	4.05
1	4	M	23	0	4.05
2	1	M	23	100	90.00
2	2	M	23	100	90.00
2	3	M	23	100	90.00
2	4	M	23	100	90.00
3	1	M	23	100	90.00
3	2	M	23	100	90.00
3	3	M	23	100	90.00
3	4	M	23	100	90.00
4	1	M	23	100	90.00
4	2	M	23	100	90.00
4	3	M	23	80	63.43
4	4	M	23	90	71.56

**Cepa del hongo:**

- 1: Testigo (T0)
- 2: Bb5 (T1)
- 3: CCB-LE-265 (T2)
- 4: Bb3 (T3)

**Especies:**

- 1. *Tomarus sp.*
- 2. *Anomala sp.*
- 3. *Heterogomphus sp.*
- 4. *Dichotomius sp.*