

Estudios básicos para el control microbiológico del gusano blanco de la papa (*Premnotrypes vorax*) con *Beauveria* spp. y *Metarhizium* sp.

Basic studies for the microbiological control of the potato andean weevil ("potato white worm") (*Premnotrypes vorax*) with *Beauveria* spp. and *Metarhizium* sp.

Rocío Torres Pérez¹
A. López-Ávila²

Resumen

El gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* es una plaga que afecta aproximadamente el 63.71% de los tubérculos cosechados en el país, lo que ocasiona una disminución de ingresos alrededor de \$215.531 pesos por hectárea de papa cultivada. El objetivo de este trabajo fue el de evaluar y comparar cepas y dosis de *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* y *Metarhizium anisopliae* en el control de adultos del gusano blanco de la papa bajo condiciones de laboratorio y casa de malla; y evaluar la eficiencia del control en la prevención del daño de la plaga, en pruebas bajo condiciones de casa de malla. Inicialmente se evaluaron los niveles de patogenicidad de cuatro cepas de *Beauveria bassiana*, una de *B. brongniartii* y cuatro de *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de último instar de *Premnotrypes vorax*, seleccionando las que causaron los porcentajes más altos de mortalidad. Las cepas seleccionadas se evaluaron sobre adultos de *P. vorax* en las concentraciones de 1×10^5 , 1×10^7 , 1×10^9 propágulos/ml utilizando un diseño completamente al azar, con 16 tratamientos y tres repeticiones. Las cepas Bv3 y Bv6 de *B. bassiana* que mostraron un mejor comportamiento de acuerdo con los análisis estadísticos, fueron seleccionadas para un experimento en casa de malla. Las pruebas se llevaron a cabo en materos con plantas de *Solanum phureja* y adultos de "gusano blanco", apli-

cando inóculo de la cepa en forma líquida y sólida. En estas pruebas se evaluó la mortalidad causada por el hongo a los adultos y la oviposición durante 22 días. Al cosechar los tubérculos, se evaluó el daño causado por la plaga sobre éstos. De las cinco diferentes cepas evaluadas, bajo condiciones de laboratorio, las de *Beauveria bassiana* provenientes de aislamientos de insectos de *P. vorax* que se encontraron infectados en campo, causaron el 100% de mortalidad en los adultos tratados en experimentos de laboratorio. En condiciones de casa de malla la aplicación líquida de la cepa Bv6 alcanzó la mayor mortalidad, con el 68.5% de los adultos tratados. La misma forma de aplicación con la cepa de *B. bassiana* Bv3, brindó la mayor protección sobre los tubérculos con control del 62.29%.

Palabras claves: Hongos Entomopatógenos, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Premnotrypes vorax*, Plaga de la papa.

Summary

The potato andean weevil, *Premnotrypes vorax*, is one of the most important economic insect pest of the potato crop in Colombia. This pest severely damages 63.71% of the crop in the country, which represent losses estimated about US\$ 220 per hectare. This study was developed with the purpose of evaluating and comparing different isolates and doses of *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* and *Metarhizium anisopliae* for the control of the pest under laboratory and mesh house conditions and evaluate the efficiency of the control of the insect in the prevention of the crop damage. The pathogenicity of four isolates of *B. bassiana*, one of *B. brongniartii* and four of *Metarhizium anisopliae*, was evaluated on full grown larvae of *P. vorax*, selecting the ones that showed the most

mortality percentage. The isolates selected were then evaluated against adults of *P. vorax* in the three different concentrations: 1×10^5 , 1×10^7 and 1×10^9 propagules/ml, (colony forming units = conidias and mycelium) in a random experiment with 16 treatments and three repetitions. And finally two isolates of *B. bassiana* (Bv3 and Bv6) were selected from here to be evaluate in an experiment in mesh house. The test were carried out with adults of the pest and plants of *Solanum phureja* applying the fungus in concentration of 3×10^8 propagules/ml in liquid and solid forms. In this experiment the mortality of the insect was evaluated as well as the damage caused to the tubers. From the five isolates evaluated in the laboratory, the two of *Beauveria bassiana* native isolated from specimens of the pest found in field, caused 100% of mortality of the insects. The highest percent of mortality of adult in the mesh house experiment, was obtained with the liquid application form of the Bv6 isolate Bv6 with 68.5%. But the best protection of the tubers was obtained with the isolate Bv3 in the same application form, with a 62.29% of control.

Key words: Fungus entomopathogens, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *Premnotrypes vorax*, Pest of potato crop.

Introducción

El "gusano blanco de la papa" *Premnotrypes vorax* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae), se considera como una de las plagas más severas de este cultivo en Colombia. Su importancia se debe al daño causado por las larvas, que penetran y se alimentan de la pulpa de los tubérculos, formando en ellos galerías sinuosas de aspecto desagradable. Además la presencia de excrementos, pudriciones secundarias y suberización de los tejidos, demerita la calidad de los tubérculos, lo que afecta su comercialización.

En Colombia, *P. vorax* se encuentra en todas las zonas productoras de papa desde los 2200 m de altitud; tal es el caso de los departamentos de: Boyacá, Cundinamarca, Nariño, Cauca, Caldas y Antioquia. Se calcula que esta plaga afecta aproximadamente al 63.71% de los tubérculos cosechados en el país; lo que acarrea una disminución de ingresos alrededor de 215.531 pesos por hectárea de papa cultivada (Ruiz y Cerón 1991).

Entre los organismos que ejercen un control natural sobre un amplio rango de artrópodos plaga, en diversos cultivos y muchas partes del mundo, se encuentran los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* y *Metarhizium anisopliae*, (Evans 1986), los cuales han sido registrados afectando diferentes especies de insectos, tanto en regiones tropicales como templadas

¹ Estudiante de Tesis. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 76 No. B-33. Santafé de Bogotá.

² Coordinador Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas. CORPOICA. Apartado Aéreo 240142 Las Palmas, Santafé de Bogotá.

(Ferron 1978). En contraste con otros microorganismos patógenos de artrópodos, los hongos entomopatógenos penetran activamente la cutícula del huésped por medio de la germinación de sus esporas. La penetración a través del exoesqueleto del insecto se debe a una combinación de mecanismos químicos (enzimas extracelulares) y físicos (presión mecánica), que permiten la germinación de las esporas siendo ésta, una fase crítica en el proceso de infección. Los diferentes efectos de las toxinas producidas por estos dos hongos, han sido observadas y reportadas sobre diferentes especies de insectos según Roberts (1966; 1967). En sus experimentos con *Metarhizium*, sobre larvas de *Bombyx mori* (L.), encontró que las "destruxin" pueden causar la muerte al insecto; sin embargo, la toxicosis no fue el único factor. En cuanto a los efectos producidos por las toxinas aisladas de *Beauveria*, se ha reportado, que estas influyen sobre una serie de aspectos fisiológicos del insecto e incitan una progresiva degeneración del tejido, a causa de la deshidratación de sus células. Se ha señalado que tales toxinas, además de producirle la muerte al insecto, pueden alterar procesos vitales en la metamorfosis y en la fecundidad (Ferron 1978; Gillespie y Claydon 1989). Dentro de la integración de hongos entomopatógenos en el control de plagas, el Centro Internacional de la Papa en el Perú, ha obtenido resultados satisfactorios en el control del "gusano blanco de la papa", utilizando *Beauveria brongniartii* bajo condiciones de almacenaje tradicional. La eficiencia de este entomopatógeno para controlar larvas y pupas del gusano blanco radica en que ocasiona un alto porcentaje de mortalidad y se establece en el suelo como consecuencia de su aplicación (Torres et al. 1993).

En el presente trabajo se evaluaron las perspectivas del control microbiológico de la plaga, mediante la utilización de diferentes cepas y dosis, de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *B. brongniartii* (Sacc.) Petch y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin; las cuales se probaron bajo condiciones de laboratorio y casa de malla. Se evaluó el potencial de los hongos, sobre la mortalidad del estado adulto del insecto y otros parámetros biológicos como la oviposición, así como la prevención del daño a los tubérculos.

Materiales y Métodos

Cría del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax*

La colonia de "gusano blanco de la papa" fue mantenida en condiciones de casa de malla y en cuartos de cría en el Centro de Investigación Tibaitatá-CORPOICA ubicado a una altitud de 2.630 msnm en Mosquera (Cundinamarca). Las condiciones de casa

malla fueron una temperatura promedio de 13°C y una humedad relativa del 83%. Mientras que en los cuartos de cría, la temperatura promedio fue de 20°C y una humedad relativa del 80%. Bajo cada una de estas condiciones, previo a los experimentos aquí descritos, se hicieron estudios de la biología y comportamiento del insecto con el propósito de conocer bien estos aspectos, estandarizar las condiciones experimentales y controlar otra variables.

Obtención e identificación de las cepas de *Beauveria* y *Metarhizium*

Las cepas de los hongos utilizadas en este trabajo fueron obtenidas a partir de aislamientos de insectos infectados en campo y de los bancos de cepas de CORPOICA y CENICAFE. Los adultos que se encontraron muertos sobre el suelo de los campos cultivados con papa, ubicados en Motavita (Boyacá) y Soacha (Cundinamarca), se colectaron y posteriormente se llevaron a cámaras húmedas a una temperatura aproximada de 23°C, durante cinco a ocho días. Al cabo de este tiempo se realizaron aislamientos del hongo y la posterior identificación de éste. Una vez identificado el entomopatógeno como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin se codificaron, la cepa proveniente de Motavita (Boyacá) como Bv6 y la cepa proveniente de Soacha (Cundinamarca) como Bv3, e ingresaron al banco de cepas del programa de Manejo Integrado de Plagas (MIP) de CORPOICA.

Activación y selección de *Beauveria* y *Metarhizium* sobre larvas de *Premnotrypes vorax*

Las cepas de *Beauveria* y de *Metarhizium* (Tabla 1) fueron cultivadas durante 12 días en cajas de Petri, en Agar Sabouraud Dextrosa (SDA). Para remover los propágulos infectivos de los cultivos se les adicionó, por cada caja, un volumen de 10 ml de Tween 80 al 0.05% y se raspó la superficie con la ayuda de un pincel estéril. El producto, del lavado de cada

caja, se recolectó en un vaso de precipitado de 50 ml (solución madre) y, se ajustó a la concentración de 1×10^8 propágulos/ml. La activación de cada una de las cepas se realizó sobre 10 larvas de "gusano blanco de la papa" de último instar, las cuales fueron previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% y lavadas tres veces en agua destilada estéril. La activación se realizó de acuerdo a algunos parámetros enunciados por López (1994).

Una vez obtenida la concentración de la solución madre para cada una de las cepas, las larvas se sumergieron en la solución durante dos minutos y luego se colocaron en cámaras húmedas a una temperatura ambiente a un promedio de 18°C durante 10 días. En este período se registró el número de larvas vivas y el número de larva muertas, y luego se comparó, las nueve cepas ensayadas, el crecimiento del hongo sobre el cuerpo de las larvas. Terminadas las observaciones se seleccionaron las cinco cepas mejores respecto a la mortalidad de las larvas y el tiempo de esporulación de las cepas.

Pruebas de patogenicidad en el laboratorio sobre adultos de *Premnotrypes vorax*

Las pruebas de patogenicidad en laboratorio se llevaron a cabo sobre adultos de "gusano blanco de la papa" utilizando las cepas de *Beauveria* y *Metarhizium* codificadas como: Bv3, Bv6, Bv7 y Mt1 y Mt2, respectivamente. Las cuales fueron seleccionadas de las nueve cepas incluidas en las pruebas de activación sobre larvas de la plaga.

Una vez cultivadas las cepas, se obtuvo el inóculo, el cual se ajustó a las concentraciones de: 1×10^5 , 1×10^7 , y 1×10^9 propágulos/ml para cada cepa, en un volumen de 25 ml, donde se sumergieron los insectos. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 16 tratamientos y tres repeticiones (Tabla 2). Cada repetición tuvo cinco parejas de adultos de *Premnotrypes vorax* mantenidos

Tabla 1. Cepas de *Beauveria* y *Metarhizium* provenientes de aislamientos de insectos infectados en campo y de los bancos de cepas de CORPOICA y CENICAFE

Especie	Nombre de la cepa	Huésped Orden: Familia	Procedencia
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb 9118	Coleoptera: Scolytidae	CENICAFE
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb9209	Coleoptera: Scarabaeidae	CENICAFE
<i>Beauveria bassiana</i>	Bv6	Coleoptera: Curculionidae	CAMPO
<i>Beauveria bassiana</i>	Bv3	Coleoptera: Curculionidae	CAMPO
<i>Beauveria brongniartii</i>	Bv7	Coleoptera: Curculionidae	CORPOICA
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma 9301	Coleoptera: Curculionidae	CENICAFE
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma 9217	Coleoptera: Scarabaeidae	CENICAFE
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Mt1	Orthoptera: Acrididae	CORPOICA
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Mt2	Coleoptera: Chrysomelidae	CORPOICA

Tabla 2. Tratamientos utilizados en las pruebas de patogenicidad en laboratorio

Tratamiento No.	Nombre Cepa	Concentración (propágulos/ml)
1	Bv3	1x10 ⁵
2	Bv3	1x10 ⁷
3	Bv3	1x10 ⁹
4	Bv6	1x10 ⁵
5	Bv6	1x10 ⁷
6	Bv6	1x10 ⁹
7	Bv7	1x10 ⁵
8	Bv7	1x10 ⁷
9	Bv7	1x10 ⁹
10	Mt1	1x10 ⁵
11	Mt1	1x10 ⁷
12	Mt1	1x10 ⁹
13	Mt2	1x10 ⁵
14	Mt2	1x10 ⁷
15	Mt2	1x10 ⁹
16	TESTIGO	

en cajas de Petri las cuales contenían un papel de filtro humedecido con un mililitro de agua estéril, pajillas para la oviposición y follaje de *Solanum tuberosum* para la alimentación de los insectos. Las cajas fueron distribuidas aleatoriamente en bandejas plásticas, mantenidas en el Laboratorio de Control Biológico, a una temperatura ambiente de 18°C en promedio. Una vez sometidos los insectos a cada tratamiento, se hicieron observaciones durante un periodo de 21 días sobre el número de individuos muertos y el número de pajillas con huevos. Dichos datos fueron analizados mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de Duncan.

Pruebas de patogenicidad sobre adultos de gusano blanco de la papa en condiciones de casa malla

Las pruebas de patogenicidad, en casa de malla, se desarrollaron sobre adultos de gusano blanco de la papa confinados en materas con plantas de *Solanum phureja* (Juz et Buk) mantenidas a una temperatura promedio de 13°C y una humedad relativa promedio del 83%. Las pruebas se desarrollaron con un diseño experimental completamente al azar con siete tratamientos y tres repeticiones (Tabla 3). Cada repetición se desarrolló en un matero, de 30 cm de diámetro y 22 cm de alto, que contenía una planta de *Solanum phureja* (en la fase de post-floración), cinco parejas de adultos *Premnotrypes vorax* y pajillas para la oviposición.

La aplicación del inóculo proveniente de las cepas de *Beauveria bassiana* se realizó en dos formas diferentes: "sólida", la cual consistió en granos de arroz donde previa-

Tabla 3. Tratamientos utilizados en las pruebas de patogenicidad en casa de malla

Tratamiento No.	Nombre Cepa	Forma de Aplicación	Concentración (propágulos/ml)*
1	Bv3	Sólida	1 g
2	Bv3	Sólida	2g
3	Bv3	Líquida	3x10 ⁸
4	Bv6	Sólida	1g
5	Bv6	Sólida	2g
6	Bv6	Líquida	3x10 ⁸
7	TESTIGO		

* Propágulos/ml: Medida de concentración del inóculo que incluye tanto conidias, como partes del micelio de los hongos.

mente se desarrolló el hongo y una "líquida". Para la aplicación sólida se calculó la concentración de propágulos infectivos presentes en uno y dos gramos de este sustrato. Para la aplicación líquida del inóculo se removieron los propágulos infectivos de los granos de arroz donde se cultivaron las cepas; una vez obtenida esta solución, se pasó a través de un filtro hasta obtener una solución sin residuos y luego se leyó la concentración de la solución obtenida la cual se ajustó a una concentración de 3X10⁸propágulos/ml, que fue equivalente a la obtenida para dos gramos de arroz. Las dos formas de aplicación de las cepas fueron dirigidas alrededor del cuello de la raíz de las plantas, cubriendo luego el inóculo con un poco de suelo de la misma matera.

Luego de cinco días de aplicados los tratamientos se observó en cada uno de ellos: el número de individuos muertos, el número de pajillas con huevos y el desarrollo de los hongos en el suelo. Las observaciones mencionadas continuaron a los cinco, ocho, 11, 15, 18, 20 y 22 días de aplicados los tratamientos y posteriormente los datos se

sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de Duncan.

Evaluación del daño sobre tubérculos de *Solanum phureja*

Una vez registrado el número de pajillas con huevos, éstas se aislaron dentro del mismo matero cubiertas con un pequeño vaso plástico, de cuatro centímetros de diámetro por tres centímetros de alto, el cual tenía agujeros en las paredes para permitir flujo de aire dentro de éste. Esto se hizo con el propósito de llevar un registro adecuado de la oviposición y permitir que las larvas, provenientes de dichas posturas, atacaran los tubérculos producidos por la planta dentro de cada matera; para la evaluación posterior del daño sobre los tubérculos de *Solanum phureja*, después de 50 días de aplicados los tratamientos, se cosecharon y contaron los tubérculos producidos en cada matero y se determinó el número de ellos afectados por larvas de la plaga y el número de larvas dentro de cada tubérculo y se calculó el porcentaje de control con base en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ CONTROL} = 100 - \frac{\% \text{ Tubérculos dañados en el tratamiento}}{\% \text{ Tubérculos dañados en el testigo}} \times 100$$

Tabla 4. Porcentaje de mortalidad de larvas de *Premnotrypes vorax* tratadas con las cepas de *beauveria* y *Metarhizium* a una concentración de 1x10⁸ propágulos/ml bajo condiciones de laboratorio (T= 18°C; HR= 90%)

Cepa	% de Mortalidad
Bb 9118	40
Bb 9209	20
Bv 6*	80
Bv 3*	80
Bv 7*	60
Ma 9301	30
Ma 9217	10
Mt 1*	60
Mt 2*	70

* Cepas con los mayores porcentajes de mortalidad.

Resultados y Discusión

Activación y selección de cepas de *Beauveria* y *Metarhizium* sobre larvas de *Premnotrypes vorax*

Los resultados de mortalidad de las larvas de "gusano blanco de la papa" obtenidos después de un periodo de diez días, se muestran en la Tabla 4. Las cepas que presentaron mayor porcentaje de mortalidad fueron: Bv6 y Bv3 con un 80%. Mt2 con un 70%. Bv7 y Mt1 con un 60%. Además, estas cepas fueron las que presentaron mejor esporulación sobre el cuerpo de las larvas infectadas por lo cual, se seleccionaron para las pruebas de patogenicidad sobre los adultos de la plaga.

Pruebas de patogenicidad bajo condiciones de laboratorio con *Beauveria* y *Metarhizium* sobre adultos del "gusano blanco de la papa"

El análisis de varianza, para los registros de mortalidad de los adultos del "gusano blanco de la papa" después de 21 días de aplicados los tratamientos, mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Fig. 5). Los porcentajes más altos de mortalidad alcanzaron el 100% de los adultos de *Premnotrypes vorax* tratados y se obtuvieron con las cepas de *Beauveria bassiana* Bv3 y Bv6, en los tratamientos con las mayores concentraciones, correspondientes a 1×10^7 y 1×10^9 propágulos/ml. Es de anotar que estas cepas provienen de aislamientos de adultos de "gusano blanco de la papa" infectados bajo condiciones naturales. El mayor grado de patogenicidad de las cepas aisladas, de los insectos de la misma especie en que se desarrollaron las pruebas, puede deberse a que estas cepas han sufrido procesos de selección natural y coevolución con el insecto, factores que pueden generar en las cepas una mayor especificidad en la infección del insecto blanco; este aspecto es tratado ampliamente por Evans (1986). Los tratamientos de las cinco cepas aplicadas con la concentración más baja, correspondiente a 1×10^5 propágulos/ml, produjeron el menor promedio de mortalidad de los insectos. Además, no presentaron diferencias significativas respecto al tratamiento testigo, excepto el tratamiento 13 el cual correspondió a la cepa de *Metarhizium anisopliae* Mt2 en una concentración de 1×10^5 propágulos/ml. Esto indica una eficiencia baja de dicha concentración.

De acuerdo con los registros de mortalidad de los insectos sometidos a los 16 tratamientos, se observa una relación directamente proporcional entre la concentración del inóculo y el porcentaje de mortalidad de insectos tratados. Esto puede deberse a que una mayor cantidad de propágulos infectivos aumenta la probabilidad de infección y consecuentemente la muerte de los insectos según Storey y Gardner (1988), quienes previamente han discutido este aspecto y por lo tanto esta tendencia en los resultados es de esperarse.

Los síntomas observados en los insectos sometidos a los diferentes tratamientos con *Beauveria* y *Metarhizium* fueron: disminución en los movimientos de sus apéndices y especialmente de su pico y patas; disminución en el consumo de follaje y finalmente, una respuesta tardía del insecto ante la presencia de calor, técnica comúnmente utilizada en laboratorio para comprobar la vitalidad en esta especie. El desarrollo de estos síntomas se presentó con mayor evidencia sobre un número elevado de insectos

sometidos a los tratamientos con las mayores concentraciones, correspondientes a 1×10^7 y 1×10^9 propágulos/ml, probablemente porque la infección de los insectos en estas concentraciones es mayor y más rápida, en comparación con la infección ocurrida con una concentración menor, en este caso de 1×10^5 propágulos/ml, y por lo tanto los síntomas mencionados, se presentan con mayor severidad en el primer caso.

El período en que se inicia el desarrollo de los síntomas mencionados está entre los cinco y los siete días de sometidos los insectos a los tratamientos y el período comprendido entre la muerte del insecto y la esporulación del hongo está entre los ocho y los 13 días. Los insectos muertos se mantuvieron en cámara húmeda durante 15 días y el crecimiento del hongo sobre el cuerpo del insecto se manifestó inicialmente en las partes intersegmentales como se muestra en la figura 1.

Otro de los parámetros evaluados durante las pruebas de patogenicidad en condiciones de laboratorio fue el efecto de los tratamientos sobre la oviposición, medida con el total de pajillas con huevos. Dichos datos fueron analizados mediante un análisis de varianza, donde no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, el número de huevos en cada postura y el total pudo variar. Por lo tanto sería apresurado el afirmar que los tratamientos con los hongos entomopatógenos de *Beauveria* y *Metarhizium* no tuvieron efecto sobre la oviposición de los adultos de *P. vorax* sometidos a los diferentes tratamientos.



Figura 1. Adulto de *Premnotrypes vorax*, después de 10 días de infectado con *Beauveria bassiana* (Fotografía: A. López-Ávila).

Pruebas de patogenicidad con dos cepas de *Beauveria bassiana* sobre adultos de gusano blanco, en casa de malla

Una vez evaluada la actividad patogénica de los 16 tratamientos en las pruebas de patogenicidad en el laboratorio, se seleccionaron las cepas Bv6 y Bv3, para desarrollar las pruebas de patogenicidad en casa de malla. Para la selección de estas cepas se tuvieron en cuenta principalmente los resultados obtenidos en el experimento de laboratorio, en cuanto a: porcentajes de mortalidad de los adultos de la plaga que fue del 100% para ambas cepas y el período de infección y muerte de los insectos tratados, en comparación con los otros tratamientos donde se utilizaron las cepas de *B. brongniartii* y *M. anisopliae*.

La mortalidad acumulada para cada uno de los diferentes tratamientos fue evaluada estadísticamente con un análisis de varianza; en el que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos a los 22 días de aplicados éstos. Los promedios de mortalidad acumulada fueron sometidos a un análisis de comparación múltiple de Duncan y los resultados se presentan en la Tabla 6. Se observa que el mayor porcentaje de mortalidad, correspondiente al 68.5%, se obtuvo con el tratamiento de la cepa Bv6 en aplicación líquida.

La efectividad mayor de la aplicación líquida con la cepa Bv6 sobre la infección de los adultos de *P. vorax* puede deberse a que esta forma de aplicación permite un cubrimiento más extensivo de la superficie del suelo lo cual

aumenta la probabilidad de contacto con los insectos, reflejándose en el mayor porcentaje de infección de éstos. La relación directa entre el porcentaje de infección de los insectos respecto a la probabilidad de contacto con el entomopatógeno, es corroborado por trabajos realizados por Ferron (1981). Además, la probabilidad de contacto directo entre el inóculo y el insecto, al momento de la aplicación, pudo también ser mayor y, por lo tanto, la infección de los insectos puede ser proporcional.

Además de influir la forma de aplicación del inóculo, algunas características como la producción de metabolitos secundarios y la capacidad de adherencia de los propágulos a la superficie, pudieron diferenciar el grado de patogenicidad de las cepas. Aunque ambas cepas Bv3 y Bv6 pertenecen a la misma especie, *B. bassiana*, presentaron algunas diferencias entre ellas, la adherencia de los propágulos sobre los granos de arroz, donde previamente se cultivaron, y la diferente coloración que tomaron los granos en el cultivo la cual fue amarillo quemado para Bv3 y amarillo crema para Bv6. Dicha coloración puede deberse a una variación en la producción de metabolitos secundarios, los cuales pueden llegar a degradar el sustrato, sobre el cual están creciendo los hongos.

Tabla 5. Prueba de comparación múltiple de Duncan del promedio de mortalidad acumulada de adultos de *Premnotrypes vorax*, hasta los 21 días después de aplicados los tratamientos de pruebas de patogenicidad en laboratorio

No.	Tratamiento	% Promedios de Mortalidad
1	Bv3 10 ⁵	32.5 de
2	Bv3 10 ⁷	100 a
3	Bv3 10 ⁹	97.5 a
4	Bv6 10 ⁵	35 de
5	Bv6 10 ⁷	72.5 bc
6	Bv6 10 ⁹	100 a
7	Bv7 10 ⁵	30 de
8	Bv7 10 ⁷	45 de
9	Bv7 10 ⁹	62.4 c
10	Mt1 10 ⁵	30 de
11	Mt1 10 ⁷	85 ab
12	Mt1 10 ⁹	95 a
13	Mt2 10 ⁵	40 d
14	Mt2 10 ⁷	80 abc
15	Mt2 10 ⁹	82.5 ab
16	TESTIGO	17.5 e

Promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencia significativa a nivel de P=0.05.

Por otra parte, el análisis estadístico muestra que no hay diferencias significativas entre los tratamientos testigo y el tratamiento 6, que corresponde a la cepa Bv6 en aplicación sólida de un gramo. Lo que demuestra la eficiencia baja de este tratamiento en la infección y control de la plaga que se explica por la baja concentración del inóculo.

Otro de los parámetros evaluados durante las pruebas de patogenicidad en condiciones de casa de malla fue la oviposición. Dicho parámetro fue evaluado sobre la cantidad de pajillas en las cuales ocurrió oviposición. Los datos, para cada uno de los siete registros, fueron evaluados mediante un análisis de varianza, donde no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Aunque no se presentaron diferencias significativas en la cantidad de pajillas con huevos, el número de éstos pudo variar entre los tratamientos, durante el período de observación. Sin embargo dicha variable no se registró. La alteración de procesos como la fecundidad, en insectos tratados con cepas de *Beauveria*, ha sido demostrada en trabajos como los de Ferron (1978) y Mac Leod (1954). Por lo tanto, sería apresurado el afirmar la inefectividad de dichos tratamientos sobre la oviposición.

Evaluación del efecto de los tratamientos sobre el daño causado por larvas de *Premnotrypes vorax*

La evaluación del daño producido por las larvas de *P. vorax* a los tubérculos de *S. phureja* se realizó después de 50 días de aplicados los siete tratamientos mencionados en las pruebas de patogenicidad en casa de malla. Dicho período permitió la eclosión de la mayoría de huevos colectados en las pajillas durante los 22 días en que se desarrollaron las pruebas. Para evaluar la eficacia de los tratamientos, se calculó el porcentaje de tubérculos dañados y luego se aplicó la fórmula del porcentaje de control, mencionada en materiales y métodos.

La aplicación líquida de las dos cepas de *B. bassiana* fue la que mostró más protección al daño de las larvas. Los porcentajes de control de estos tratamientos fueron del 62.29% para la cepa Bv3 y del 61.43 para la cepa Bv6 (Tabla 7). En cuanto a los tratamientos en aplicación sólida la cepa Bv6 en la dosis de dos gramos mostró el mayor control, con un 55.49%.

Tabla 6. Pruebas de comparación múltiple de Duncan para el promedio de mortalidad del "gusano blanco de la papa" después de 22 días de aplicados los tratamientos en pruebas de patogenicidad en casa malla

No.	Tratamiento	Forma de aplicación	% promedio de Mortalidad
1	Bv3 (1 g)	Sólida	52,8 ab
2	Bv3 (2 g)	Sólida	33, 1 bc
3	Bv3 10 ⁸	Líquida	31,5 bc
4	Bv6 (1g)	Sólida	14,2 cd
5	Bv6 (2 g)	Sólida	43, 2 ab
6	Bv6 10 ⁸	Líquida	68,5 a
7	TESTIGO		6,1 d

Promedios seguidos por la misma letra no presentan diferencia significativa a nivel de P=0.05

Tabla 7. Efecto de dos cepas de *Beauveria bassiana* evaluado sobre la protección a tubérculos de *Solanum phureja*

Tratamiento	No. Tubérculos Totales	No. Tubérculos dañados	% Tubérculos dañados	% de control
3. Bv3 10 ⁸	48	16	33.33	62.29*
6. Bv6 10 ⁸	44	15	34.09	61.43*
5. Bv6 (2g)	61	24	39.34	55.49
4. Bv6 (1g)	57	42	73.68	16.63
2. Bv3 (2g)	62	48	77.41	12.41
1. Bv3 (1g)	26	21	80.76	8.62
7. TESTIGO	43	38	88.37	0

* Tratamientos con mayor porcentaje de control.

La eficacia mayor de las aplicaciones líquidas, en comparación con los tratamientos en aplicación sólida, se puede atribuir al mayor cubrimiento de la superficie y a que la solución de agua-Tween 80, en que fue aplicado el inóculo, pudo proveer mejores condiciones de humedad a las esporas, favoreciendo su perdurabilidad, y por lo tanto aumentando la probabilidad de infección de las larvas que se desplazan hacia los tubérculos. Además, el estadio de larva de los insectos es uno de los más susceptibles a la infección por hongos entomopatógenos como *Beauveria*, según Torres et al. (1993) y Quintela et al. (1990).

Sin embargo, no se registró evidencia de la infección producida por el inóculo de las cepas de *Beauveria* sobre las larvas recién emergidas; debido probablemente a que éstas tienen un tamaño aproximado de dos milímetros de largo y, una vez penetran el tubérculo, la posibilidad de infección con los propágulos infectivos es muy difícil. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que las larvas emergidas del tubérculo se infecten cuando van a empupar, lo cual podría ser un factor adicional de mortalidad en una población tratada. En la evaluación del número de larvas por tubérculos no se observaron diferencias significativas entre los siete tratamientos de acuerdo con el análisis de varianza con rangos no paramétricos y la prueba de comparación t.

Conclusiones

- De las diferentes cepas de las especies de entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* y *Metarhizium anisopliae* evaluadas para el control del "gusano blanco de la papa", las de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, mostraron la mayor efectividad sobre los adultos tratados.
- Las cepas de *B. bassiana* provenientes de aislamientos de insectos de *Premnotrypes vorax* infectados en campo, presentaron mayor infección de adultos en las pruebas de patogenicidad de laboratorio y casa de malla, frente a las cepas provenientes de los bancos de CENICAFE, CORPOICA, y aisladas de insectos de otras especies.
- De acuerdo con los resultados de este trabajo, las cepas de *B. bassiana* codificadas en el banco de cepas del MIP, CORPOICA como: Bv3 y Bv6, brindan amplias perspectivas para el control microbiológico del "gusano blanco de la papa", en condiciones de campo.
- La aplicación de las cepas seleccionadas en forma líquida, presenta mejores posibilidades para el control de la plaga que, en la forma sólida.

Bibliografía

- EVANS, H. C. 1986. Uso actual y potencial de los hongos entomopatógenos para el control biológico de artrópodos plagas. Miscelánea Sociedad Colombiana de Entomología. v. 21, p 9-14.
- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology v. 23, p. 409-442.
- _____. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In H.D. Burges (Ed.) Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press. New York. p.165-182
- GILLESPIE, T.A.; CLAYDON, N. 1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxin in pathogenesis. Pesticide Science v. 27, p. 203-215.
- LOPEZ, J. C. 1994. Efecto patogénico de cuatro aislamientos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyphomycetes) sobre larvas de *Bombyx mori* (L.) en laboratorio. Revista Colombiana de Entomología. v. 20, no. 1, p. 52-59.
- MACLEOD, D. M. 1954. Investigations of the genom *Beauveria* and *Tritiachion* Limber. Canadian J. Botany. (Canada). v. 32, p. 818-890.
- QUINTELA E.; LORD, J.C.; RAIGHT, S.P.; ALVES, S.; ROBERTS, D.W. 1990. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) to larval and adult *Chalcodermus bimaculatus* (Col: Curculionidae) Journal of Economic Entomology v. 83, p. 1276-1279.
- ROBERTS, D. W. 1966. Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. II Symptoms and detection in moribund host. Journal of Invertebrate Pathology v. 8, p. 222-227.
- _____. 1967. Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*: Isolation of destruxin from submerged cultures. Journal of Invertebrate Pathology v. 14, p. 82-88.
- RUIZ, B. N.; CERON G. S. 1991. Uso de cultivos trampa para el control del gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* (Hustache). Organo Informativo de la Federación Colombiana de Productores de papa. FEDEPAPA. (Colombia). v. 2, p. 14-22.
- STOREY, K. G.; GARDNER, A. W. 1988. Movement of and aqueous spray of *Beauveria bassiana* into the profile of four Georgia soil. Environmental Entomology v. 17, p. 135-139.
- TORRES, H.; ORTEGA, A.; ALCAZAR, J.; AMES, T.; PALOMINO, L. 1993. Control biológico del gorgojo de los Andes (*Premnotrypes vorax*) con *Beauveria brongniartii*. CIP Guía de Investigación no. 8.