



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**PRESENCIA Y PATOGENICIDAD DEL VIRUS DE LA
POLIEDROSIS NUCLEAR EN LARVAS DE LEPIDÓPTEROS DEL
CULTIVO DE QUINUA EN LA REGIÓN PUNO.**

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. JHON ABEL CASTRO HANCCO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2019



DEDICATORIA

*Con profundo amor para mis padres **Alipio** y **Julia**, por su incansable e inagotable trabajo para sacarnos adelante y a quienes les debo todo cuanto he logrado, mi deuda con ustedes es eterna, gracias.*

*A mi hermano **Dennis Saúl**, quien fue el mayor reto de mi vida y la más grande bendición, en ti encontré más humanidad de la que muchas personas poseen.*

*A **Milena Helens**, por darme su apoyo, comprensión, paciencia y por estar ahí en las buenas y en las malas. Gracias por tu apoyo.*

*A mi hijo **Marcelo Emilio**, Gracias hijo mío por iluminarme con la paz de tu sonrisa, por detenerme en mi alocada carrera y por enseñarme a disfrutar la vida minuto a minuto. Es increíble cómo alguien tan pequeño... puede hacer sentir algo tan gigantesco. Te amo mucho y deseo que la vida te haga un hombre sabio y prudente.*



AGRADECIMIENTOS

Mi más grande agradecimiento a mi director de Tesis M.Sc. Alfredo Ludwig Loza del Carpio, quien con su dirección, experiencia, conocimiento y motivación me acompañaron durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Estación Experimental Agraria-Illpa, Puno anexo Salcedo del INIA, por permitirme desarrollar el presente trabajo de investigación en sus instalaciones y campos experimentales, mediante el Programa Nacional de Innovación Agraria, PNIA.

Al Dr. Pedro Ernesto Delgado Mamani coordinador del Laboratorio de Entomología en el área de Protección vegetal de la EEA-Illpa del INIA, por ser mi mentor y darme la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación y por inculcarme ética, honestidad y responsabilidad.

A mis miembros de jurado a D.Sc. Dante Joni Choquehuanca Panclas, D.Sc. Belisario Mantilla Mendoza y al M.Sc. Jesus Miranda Mamani, por sus aportes oportunos en aras de mejorar el presente trabajo de investigación

A mis amigos del trabajo, Michael, Edwin, Franks, Sñr. Luchito, con quienes compartí momentos inolvidables, emocionantes, simplemente incomparables.

A mis amigos Biólogos, Kevin, Sthewar, Nilo, Alfredo, Alex, David, Andres, Guido, Gustavo, con quienes compartí múltiples aventuras, felices, alucinantes, interminables noches toledanas, en fin experiencias tan humanas que viven en el recuerdo.



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 13

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVO GENERAL 16

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES. 17

2.2 MARCO TEÓRICO 19

2.2.1. La quinua. 19

2.2.1.1. Taxonomía. 19

2.3. Insectos plaga de la Quinua. 20

2.3.1. Polilla de la quinua *Eurysacca quinoae*. 21

2.3.1.1. Taxonomía. 21

2.3.2. Biología y comportamiento de *Eurysacca quinoae*. 24

2.3.5. Umbral de daño económico por *Eurysacca quinoae*. 26

2.3.6. Evaluación. 27

2.3.7. *Copitarsia turbata* (Lepidoptera: Noctuidae). 27

2.3.8. Características morfológicas. 28



2.3.9. Biología y comportamiento.....	28
2.3.10. Daño.	29
2.3.11. Control microbiológico.	29
2.4. Virus de la poliedrosis nuclear.	30
2.4.1. Familia Baculoviridae.	30
2.4.2. Los virus como entomopatógenos.....	31
2.4.3. Uso del virus de la poliedrosis nuclear en la agricultura.	31
2.4.4. Modo de acción del virus de la poliedrosis nuclear.	32
2.4.5. Síntomas de infección por el virus de la poliedrosis nuclear.	32
2.4.6. Diseminación del virus.....	33
2.4.7. Ecología y biología de los Baculovirus.....	33
2.4.8. Dosis del patógeno.	34
2.4.9. Radiación solar.....	34
2.4.10. Temperatura.	35
2.4.11. Humedad.	35
2.4.12. Sustrato.....	36
2.4.13. Edad y poblaciones del hospedante.....	36

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. ÁREA DE ESTUDIO	37
3.2. TIPO DE ESTUDIO.	38
3.3. UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA.....	38



3.3.1. UNIVERSO.....	38
3.3.2. POBLACIÓN.....	38
3.3.3. MUESTRA.....	38
3.3.4. TÉCNICA.....	38
3.4. METODOLOGÍA DE CAMPO	38
3.4.1 Frecuencia de muestreo.....	39
3.4.2. Fase de campo.....	39
3.4.3. Individuos capturados.....	39
3.4.4. Diseño Estadístico.....	40
3.5. METODOLOGÍA DE LABORATORIO.....	41
3.5.1. Preparación de solución madre.....	41
3.5.2. Evaluaciones de mortalidad.....	42
3.5.3. Diseño estadístico.....	42
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. Determinación la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno	43
4.2. Determinación de la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i>	55
V. CONCLUSIONES	70
VI. RECOMENDACIONES	71
VII. REFERENCIAS.....	72
ANEXOS.....	79

Fecha de sustentación: 30 de octubre del 2019

ÁREA : Ciencias biomédicas.

TEMA: Recursos naturales y manejo ecológico de plagas.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ala anterior derecha, vista dorsal de <i>Eurysacca quinoae</i>	23
Figura 2. Ala anterior derecha, vista dorsal de <i>Eurysacca melanocampta</i>	24
Figura 3. Incidencia acumulada del VPN en larvas de <i>E. quinoae</i> en diferentes localidades de la región de Puno.	49
Figura 4. Incidencia acumulada del VPN en larvas de <i>Copitarsia</i> spp en diferentes localidades de la región de Puno.	51
Figura 5. Densidad de incidencia del VPN en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> en diferentes localidades de la región de Puno	53
Figura 6. Densidad de Incidencia del VPN en larvas de <i>Copitarsia turbata</i> en diferentes localidades de la región de Puno.	54
Figura 7. Porcentaje general de mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i>	69
Figura 8. Promedio de mortalidad de larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres producida por efecto de cuatro dosis de VPN en los 12 días de evaluación a nivel de laboratorio.	80
Figura 9. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Moya, Distrito de Cabana, en el mes de enero 2019.....	80
Figura 10. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Mañazo, Distrito de Mañazo, en el mes de febrero 2019.....	81
Figura 11. Larva de Noctuido, con presencia del virus de la poliedrosis nuclear, colgadas de sus propatas posteriores en la panoja de quinoa, en la localidad de Chatuma, Distrito de Pomata, Marzo del 2019.....	82
Figura 12. Larvas de Noctuidos sobre panoja de quinoa, Dcha. Larva sin síntomas del virus de la poliedrosis nuclear, Izda, larva colgada de sus propatas posteriores, en la localidad de Chatuma, distrito de Pomata, Marzo del 2019.	82



Figura 13. Traslado de material Biológico recolectado en vehículo oficial del Instituto Nacional del Innovación Agraria INIA-Puno, entre enero y abril 2019.	83
Figura 14. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinua en la localidad de Azangarillo, Distrito de Huancane, en el mes de abril 2019.....	83
Figura 15. . Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinua en la localidad de Yanahocco, Distrito de Huancané, en el mes de abril 2019.....	84
Figura 16.Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinua en la localidad de Cotos, Distrito de Capachica, en el mes de abril 2019.....	84
Figura 17. Evaluación de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	85
Figura 18. Almacenamiento de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	86
Figura 19. Evaluación de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	86
Figura 20. Evaluación de larvas recolectadas con sintomatología de poseer el VPN , procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	87
Figura 21. Evaluación y búsqueda de larvas enfermas con el VPN, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	87
Figura 22. Almacenamiento, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.	88



- Figura 23. Disposición al azar de los Tapers con arena y las panojas de quinua previamente asperjadas con el VPN, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019..... 88
- Figura 24. Acondicionamiento de los Tapers con arena y las panojas de quinua previamente asperjadas con el VPN, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019..... 89
- Figura 25. Recolección de larvas muertas de los taperes donde se inoculo el VPN frente a las larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019..... 89
- Figura 26. Preparación de las larvas muertas para poder identificar la naturaleza de su muerte, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019..... 90
- Figura 27. Búsqueda de cuerpos de Inclusión del VPN u otro microorganismo responsable de la muerte de la larva, con ayuda de microscopio óptico, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019..... 90
- Figura 28. Vista de los cuerpos de inclusión del VPN observadas con ayuda de un microscopio óptico en aumento de 40x, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019. 91



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de larvas (<i>Eurysacca quinoae</i> , <i>Copitarsia turbata</i>) que inciden en el cultivo de quinua en diferentes distritos de la región de Puno.	44
Tabla 2. Número y porcentaje de larvas infectadas por el virus de la poliedrosis nuclear según especie de lepidópteros (<i>Eurysacca quinoae</i> , <i>Copitarsia turbata</i>).	47
Tabla 3. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 4to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	55
Tabla 4. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 5to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	56
Tabla 5. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 6to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	58
Tabla 6. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 7mo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	59
Tabla 7. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 8vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	60
Tabla 8. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres, después del 9no día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	62
Tabla 9. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 10mo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	63
Tabla 10. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 11vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	64
Tabla 11. Mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres después del 12vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.	65
Tabla 12. Evaluación del porcentaje de mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres del 4to, 6to y 9no día de evaluación a nivel de laboratorio.	67



Tabla 13. Porcentaje de mortalidad de larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres con relación a los días evaluados.	68
Tabla 14. Tabla 14. Evaluaciones diarias de mortalidad en larvas de <i>Eurysacca quinoae</i> del instar tres producida por efecto de cuatro dosis de (VPN) a nivel de laboratorio.....	79



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

VPN	: Virus de la Poliedrosis Nuclear
VG	: Virus de la Granulosis
CI	: Cuerpos de Inclusión
FAO	: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
OMS	: Organización Mundial de la Salud
ADN	: Acido Desoxirribonucleico
ARN	: Ácido Ribonucleico
OPS	: Organización Panamericana de la Salud
INIA	: Instituto Nacional de Innovación Agraria
OMS	: Organización Mundial de la Salud
UDE	: Umbral de Daño Económico



RESUMEN

El estudio, fue realizado en la campaña agrícola 2018, entre los meses de diciembre y mayo (2019), desarrollada en las provincias de Yunguyo, Chucuito, Puno, San Román, Carabaya, Azángaro, Lampa, San Antonio de Putina, Huancané y Moho. Los objetivos trazados fueron: determinar la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno y determinar la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de *Eurysacca quinoae*. La investigación fue dividida en dos fases: en la fase de campo, se recolectaron larvas de insectos plaga presentes en los campos de cultivo de quinua y transportadas hacia el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA – Puno, en la fase de laboratorio se realizaron las pruebas de patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas sanas de *Eurysacca quinoae* del instar tres (larvas del tercer estadio, con una longitud de 2.5 a 4mm) con dosis de 2mg/100ml, 3mg/100ml, 4mg/100ml y un testigo, siendo evaluados diariamente. Los resultados indican que de las 24 localidades evaluadas el mayor número de larvas de *Eurysacca quinoae* se encontraron en: Cuinchaca (774), Chatuma (650), Cabana (626). Las tres localidades en donde se encontró mayor incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Eurysacca quinoae* fueron: Azángaro (62.5%), Cotos (48.8%), Coata (46.7%), así mismo las tres localidades donde se encontró la mayor incidencia en larvas de *Copitarsia turbata* fueron: Illpa (10.0%), Cabana (6.7%) y Coata (5.0%). En las pruebas de patogenicidad se pudo comprobar que la dosis más alta (4mg/100ml) obtuvo el 100% de mortalidad a los 9 días siendo la dosis con mayor mortalidad en menor tiempo, seguidamente la concentración media de (3mg/100ml) obtuvo el 100% de mortalidad a los 11 días y por último la concentración más baja (2mg/100ml) obtuvo el 100% de mortalidad a los 12 días. Se concluye que todas las concentraciones son altamente eficaces al alcanzar el 100% de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres.

Palabras clave: *Copitarsia Turbata*, *Eurysacca quinoae*, incidencia, insectos plaga, patogenicidad, quinua, virus de la poliedrosis nuclear.



ABSTRACT

The study was carried out in the 2018 agricultural campaign, between the months of December and May (2019), developed in the provinces of Yunguyo, Chucuito, Puno, San Román, Carabaya, Azángaro, Lampa, San Antonio de Putina, Huancané y Moho. The objectives were: to determine the incidence of nuclear polyhedrosis virus in lepidopteran larvae in quinoa crop fields in the Puno region and to determine the pathogenicity of nuclear polyhedrosis virus in laboratory conditions in *Eurysacca quinoae* larvae. The research was divided into two phases: in the field phase, pest insect larvae were present in the quinoa crop fields and transported to the plant protection laboratory of the National Institute of Agricultural Innovation INIA - Puno, in the phase of laboratory were tested for pathogenicity of nuclear polyhedrosis virus in healthy larvae of *Eurysacca quinoae* of instar three (larvae of the third stage, with a length of 2.5 to 4mm) with doses of 2mg / 100ml, 3mg / 100ml, 4mg / 100ml and a witness, being evaluated daily. The results indicate that of the 24 locations evaluated, the greatest number of larvae of *Eurysacca quinoae* were found in: Cuinchaca (774), Chatuma (650), Cabana (626). The three locations where the highest incidence of nuclear polyhedrosis virus was found in *Eurysacca quinoae* larvae were: Azángaro (62.5%), Cotos (48.8%), Coata (46.7%), as well as the three locations where the highest was found incidence in larvae of *Copitarsia turbata* were: Illpa (10.0%), Cabana (6.7%) and Coata (5.0%). In the pathogenicity tests it was found that the highest dose (4mg / 100ml) obtained 100% mortality at 9 days being the dose with the highest mortality in the shortest time, then the average concentration of (3mg / 100ml) obtained the 100% mortality at 11 days and finally the lowest concentration (2mg / 100ml) obtained 100% mortality at 12 days. It is concluded that all concentrations are highly effective when reaching 100% mortality in larvae of *Eurysacca quinoae* from instar three.

Key words: *Copitarsia Turbata*, *Eurysacca quinoae*, incidence, pest insects, pathogenicity, quinoa, nuclear polyhedrosis virus.



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente el consumo de quinua *Chenopodium quinoa* Willdenow va en incremento, debido a su excepcional valor nutritivo y su alta calidad de proteínas, de la misma manera posee un alto contenido de diferentes vitaminas y minerales, convirtiéndola en uno de las más prometedoras fuentes alimenticias para el alivio de la mala nutrición en América Latina y quizá en el mundo (Consejo Nacional de Investigación, 1989)

Por ello en los últimos años, se ha incrementado considerablemente el área de cultivo de quinua en Sudamérica, Norteamérica y Europa. Paralelamente también se ha incrementado la incidencia de plagas insectiles que afectan principalmente el follaje, tallo, panoja y granos principalmente *E. quinoae* conocida comúnmente como polilla de la quinua y otros lepidópteros se encuentran distribuidas en el área andina y son las plagas más importantes en el cultivo de la quinua, tanto por su intensidad como por su continuidad (Estrada, 2013).

Las pérdidas que producen las larvas de *Eurysacca quinoae* y otros insectos plaga en la obtención de granos de quinua son a partir de 8 larvas por planta en donde se reportan pérdidas considerables de la producción y a medida que se incrementa el número de larvas, obviamente se incrementa las pérdidas. Una pérdida del 100% ocurre cuando la población sobrepasa 120 larvas por planta de quinua (Ochoa & Franco, 2013).

La reducción poblacional de *E. quinoae* larval y otras especies de insectos considerados plagas en las parcelas de cultivos de quinua requiere la integración de varios métodos de control, basado en el manejo armónico de insectos plaga, fundamentado en el control cultural y control biológico natural y no simplemente del abuso de plaguicidas químicos o sintéticos.

Por ello el presente trabajo pretende generar información científica acerca de los virus entomopatógenos como biocontroladores naturales sobre larvas *E. quinoae*, ya que estos microorganismos (virus de la poliedrosis nuclear) son específicos y no causan daño a la fauna benéfica (polinizadores) y otros insectos de importancia económica en la



agricultura, además de ser un método natural sin repercusiones en el medio ambiente ni perjuicios en la salud de los agricultores.

1.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la presencia y patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en cultivos de quinua en la región Puno 2018.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno
- Determinar la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de *Eurysacca quinoae*



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES.

Se realizaron búsquedas y asilamientos de VPN (virus de la poliedrosis nuclear), en Colombia en los departamentos de Tolima, Meta y Cordoba mediante recolección de larvas en diferentes cultivos encontrando partículas virales de entre 1.93 μm y 2.14 μm mediante el método de shok down (Gomez *et al.*, 2010).

Por otro lado, estudios demuestran que el Virus de la Poliedrosis Nuclear es un excelente controlador de *Phthorimeae operculella* en el Perú reduciendo su presencia desde 71.5 hasta el 100%, a los 8, 30 y 60 días después de la aplicación en concentraciones de 1mg/ml, 5mg/ml y 20mg/ml presentando mortalidades del 85.0%, 93.4% y 100% respectivamente (Alcazar *et al.*, 1991).

En cuanto, a estudios sobre grados de mortalidad y patogenicidad frente a larvas del instar dos, de *Sopodoptera littoralis* y *Spodotera exigua* se reportó mortalidades de 84.42% y 87.84% con una concentración equivalente a 5 lavas en 100 mililitros de agua valores que han sido considerado apropiados para el buen control de las mencionadas especies (Maracaja *et al.*, 1994). Así mismo, en estudios de patogenicidad sobre *Spodoptera eridania* y *Spodoptera ochrea*, en cultivos de camote en Cañete, Lima, se determinó que las larvas de *S. eridania* fueron controladas en tu totalidad aplicando una dosis de 8.4×10^{12} cuerpos de inclusión por hectárea, se reporto un 100% de mortalidad a los 9 días de evaluación, así mismo una dosis de 3.3×10^{12} en un cultivo de tomate logro reducir un 78% de la población en ambas plagas (Luna *et al.*, 2002).

A su vez, se probó la eficacia de un poliedro virus sobre larvas de *Spodoptera exigua* en un cultivo de pimientos a nivel de invernadero el cual fue esparcido en forma de polvo, lo valores obtenidos oscilaron en 58.4% y 74.7% de 6 a 12 días de evaluación obteniendo como máxima tasa de mortalidad a los 6 días de aplicación (Escribano, *et al.*, 2000). De la misma manera, en investigaciones a nivel de invernaderos en el cultivo de pimiento en Almería, España, aplicaron un nucleopoliedrovirus para poder controlar a larvas de *Spodoptera exigua* del instar 3 en una concentración de 5mg/ml revelando hasta un 80%



de infección en el cuarto día y mortalidad del 70% al quinto día y el 100% al noveno día (Lasa *et al.*, 2007). Por otra parte, ante estudios similares ante el "cogollero del maíz" *Spodoptera frugiperda*, aplicando un nucleopoliedrovirus sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* del instar tres, determinaron una dosis letal media de 49, 653 cuerpos de inclusión con un tiempo letal medio de 6.5 ± 0.5 días, determinándose un excelente controlador de esta plaga (Vasquez *et al.*, 2002).

Además, en investigaciones sobre susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* al virus de la poliedrosis nuclear según diferentes estadios con una dosis de 100g/ha revelo una mortalidad del 96.50% en el instar uno, 81.50% en el instar dos, 69.005 en el instar tres, 62.50% en el instar cuatro y 49.00% de mortalidad en el instar cinco (García, 2003). Así mismo en una investigación frente a la misma larva, se aplicó una dosis de 4.71g/100ml a 30 larvas de *Spodoptera frugiperda* en el instar uno, dos y tres mediante inmersión registrando un promedio de mortalidades entre 82%, 79% y 95% respectivamente al noveno día de aplicación (Gonzales *et al.*, 2015).

Con respecto a investigaciones sobre patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Phthorimeae operculella* en el Perú se revelo el potencial del virus como agente promisorio del control integrado de plagas, utilizaron concentraciones de 0 mg/L, 1 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, 30 v, 40 mg/L, y 50 mg/L, obteniendo como resultados mortalidad es de 4.2%, 85.7%, 93.4%, 93.7%, 93.9%, 100%, 100%, 100% y 100% respectivamente a partir del doceavo y veinteavo día de aplicación (Alcazar *et al.*, 1992). En contraste sobre investigaciones sobre la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en *Spodoptera frugiperda* en campos de cultivo de maíz en México, sometiendo a 20 larvas del instar tres a una concentración viral de 1mg/100ml hasta 8mg/100lm, registrando una mortalidad de 30% y 100% respectivamente entre el noveno y doceavo día de aplicación (Rangel *et al.*, 2014).

Así mismo, el uso de un insecticida biológico a base del virus de la poliedrosis nuclear sobre *Spodoptera frugiperda* principal plaga del maíz, fue probada tras asperjar la solución viral en 20 larvas del instar tres obteniendo una mortalidad el 2% el primer día, un 10% para el cuarto y un máximo de 30% para el octavo día con una concentración de 2mg/ml (Leandro *et al.*, 2011). En otras palabras, la mortalidad y la patogenicidad de larvas de lepidópteros aumentará con el incremento de la concentración viral y su susceptibilidad decrecerá con el aumento de la edad del insecto (Yasem *et al.*, 2009).



De la misma manera en un estudio sobre las plagas insectiles de la quinua en periodo invernal se pudo determinar que las larvas de *Copitarsia turbata* tienen una densidad poblacional alta en los cultivos de quinua de la zona altiplánica del Perú (Saravia & García 2009). Así mismo se reportó una población promedio por planta de 20 a 25 larvas de *Eurysacca quinoae* en periodo de cultivo de quinua en las localidades de Cabana (Campos *et al.*, 2012).

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1. La quinua.

2.2.1.1. Taxonomía.

Según Apaza *et al.*, (2013) la quinua presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	: Vegetal
División	: Fanerógamas
Clase	: Dicotiledoneas
Sud clase	: Angiospermas
Orden	: Centropermales
Familia	: Chenopodiaceae
Género	: <i>Chenopodium</i>
Sección	: Chenopodia
Subsección	: Cellulata
Especie	: <i>Chenopodium quinoa</i> Willdenow
Nombre común	: Quinua

La quinua, es un grano de la familia de Quenopodiáceas, es una especie cultivada y domesticada en el Perú desde tiempos prehispánicos, en la cuenca del lago Titicaca donde existe la mayor parte de diversidad biológica de este cultivo. En el altiplano peruano es el centro de origen y domesticación de este producto, el tamaño, color y sabor se diferencia según la variedad. Las variedades más comerciales son de color blanco, el tamaño fluctúa entre los 1.6 a 2.0 mm y sabor dulce. También hay granos de color amarillo, rojo, marrón y negro (Apaza *et al.*, 2013)

2.2.2. Importancia nutricional



Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), así como la Organización Mundial de la Salud (OMS), han calificado a la quinua como un alimento único, por su altísimo valor nutricional que permite sustituir las proteínas de origen animal además por su contenido balanceado en proteínas y nutrientes más cercano al ideal para el ser humano que cualquier otro alimento. Provee proteínas y aminoácidos esenciales como metionina, fenilamina, treonina, triptófano y valina. La concentración de lisina en la proteína de la quinua es casi el doble con relación a otros cereales y gramíneas. Contiene las vitaminas del complejo B, vitaminas C, vitamina E, tiamina, riboflavina y un alto contenido de potasio y fósforo entre otros minerales. El valor calórico es mayor que otros cereales en grano y harina alcanza 350 calorías/100g.

2.2.2. Importancia agroeconómica

La cadena productiva de quinua aportó al año 2012, con el 0.14% del PBI del sector agropecuario y con el 0.23% del subsector agrícola, aportando al mismo con 30.1 millones de nuevos soles existiendo una variación positiva del 7.35% con respecto al año 2011. A enero del año 2013 la quinua generó un valor bruto de la producción agropecuario de 0.11 millones de nuevos soles, con una disminución del -38.3% con respecto a enero del año anterior (MINAGRI, 2013)

2.3. Insectos plaga de la Quinua

En el Perú las especies más comunes son *E. quinoae* y *E. melanocampta* (Rasmussen *et al.*, 2001) se encuentran distribuidas en toda el área altiplánica, tanto por su intensidad como por su continuidad, ocasiona pérdidas entre 20 a 40% de la producción (Estrada, 2013). En esta zona la población de *E. quinoae* es de 98% y *E. melanocampta* en 2% (Apaza, 2013) y de acuerdo con Saravia y García (2009), las especies de *Eurysacca* normalmente no están presentes hasta que la primera inflorescencia de la quinua aparezca, y permanecen presentes en el campo con el incremento de números poblacionales hasta la cosecha. Los gusanos cortadores están presentes en números más altos, temprano durante la ramificación.

Tal como menciona Rasmussen *et al.* (2000), en su estudio, plagas de la quinua en la zona andina, entre las plagas andinas más serias están *E. melanocampta* y *E. quinoae*, encontradas a lo largo de Perú y Bolivia. Estas plagas son abundantes y destructivas en todas las etapas de crecimiento de la planta, particularmente durante la maduración de los



granos. Un monitoreo más detallado de ambas plagas a lo largo del año, nos daría una mejor idea del traslapo de estas dos especies en la quinua.

Por su parte Chacon (1962), menciona que las dos especies de *Eurysacca* pueden ser reconocidas por sus manchas alares. *E. melanocampta* tiene una banda longitudinal oscura en las alas y dos manchas oscuras rodeadas por escamas claras, mientras que *E. quinoae* tiene dos manchas oscuras en las alas, así como algunas manchas oscuras en el ápice de las alas, pero no tiene una banda longitudinal oscura. De igual manera Rasmussen *et al.* (2000), manifiestan que *E. quinoae* fue recientemente descrita como una plaga de distribución limitada, pero los recientes investigaciones han mostrado que está realmente extendido en Perú, en algunas áreas es considerada la principal plaga del cultivo de quinua, en el Perú las especies más comunes son *E. quinoae* y *E. melanocampta*.

2.3.1. Polilla de la quinua *Eurysacca quinoae*.

2.3.1.1. Taxonomía.

Según Ochoa & Franco (2013) y Rasmussen *et al.*, (2001), la polilla de la quinua presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Mandibulata
Clase	: Insecta
Subclase	: Pterigota
Orden	: Lepidóptera
Sub Orden	: Frenatae
Súper Familia	: Gelechoidea
Familia	: Gelechiidae
Tribu	: Gnorimoschemini
Género	: <i>Eurysacca</i>
Especie	: <i>Eurysacca quinoea</i>
Nombre común:	“polilla de la quinua” (español), Kcona kcona

De acuerdo a Ochoa & Franco (2013) el adulto es una polilla pequeña, de aproximadamente 9 mm de longitud y con una expansión alar de 15 a 16 mm, de color



gris parduzco a amarillo pajizo, cabeza de tipo hipognata cubierto con abundantes escamas, ojos compuestos, sin presencia de ocelos; antenas de tipo filiforme de aproximadamente 5 mm de longitud, presencia de 86 segmentos, escamas oscuras en la parte apical de los segmentos, éstos bien implantados por encima de los ojos. Pieza bucal tipo sifón con presencia de 2 palpos labiales largos y grandes bien diferenciados; los palpos con 3 segmentos bien diferenciados, el basal corto, pocas escamas y casi invisible incrustado en la boca, el segundo con bastante presencia de escamas largos sobresalientes de colores claro y oscuro, el tercer segmento apical con cobertura de escamas cortas y pequeñas a diferencia de la anterior, y también de colores claro y oscuro con terminación en punta de alfiler.

Así mismo posee un tórax corto, aproximadamente de 1,5 mm de largo y 1 mm de ancho, no muy bien diferenciable a simple vista, cubierto con escamas de color pajizo al igual que la ala; presenta 3 segmentos bien diferenciados: protórax, mesotórax y metatórax, notorio solo por la parte ventral Rasmussen *et al.*, (2001). El protórax que presenta el primer par de patas, el mesotórax con el 1er par de alas y el 2do par de patas, y el metatórax con el 2do par de alas y el 3er par de patas. Parte ventral cubierto por escamas de color claro, el dorso casi totalmente por las alas sobresaliendo solo una parte lobular del protórax (Ochoa & Franco, 2013). Su ala anterior gris pardusca clara, con presencia de 2 manchas oscuras pequeñas ubicadas hacia el centro de la ala, presencia de puntos oscuros y alargados en el ápice; escamas oscuras en el ápice, formando una raya conspicua; ala posterior hialino sin maculaciones Chacon (1962), Las tres pares de patas muy bien diferenciables, primer par corto, con escamas más oscuras que las otras sin presencia de “espuelas”, el segundo par con presencia de 1 espuela a manera de estilete ubicada en el tarso; la pata posterior relativamente más larga que las otras 2 pares, mide aproximadamente 7 mm de largo con presencia de 2 pares de espuelas una más corta que la otra, ubicados también en el tarso (Costa *et al.*, 2009).

Ochoa & Franco (2013) registraron que el abdomen con 8 segmentos, aproximadamente de 3,5 mm de longitud. El dorso con 3 franjas oscuras en cada segmento formando líneas a lo largo de los 2 lados y una línea central; líneas inter segmentales con escamas de color claro pajizo bien diferenciados. Parte ventral cubierto por escamas de color claro, líneas inter segmentales con escamas de color oscuro bien diferenciados. Primer segmento corto y achatado en la base unida al tórax, y el último segmento alargado y cónico con escamas

largos de color claro pajizo a manera de un penacho y el macho se diferencia de la hembra por ser más pequeño de color más claro y la presencia del edeago en forma notoria.

Así mismo Ochoa & Franco (2013) mencionan que los huevos son pequeños de forma ovoide, superficie lisa, de 0.4 a 0.5 mm de longitud de color blanco cremoso y posteriormente blanco cenizo próximo a la eclosión. Las larvas son de tipo eruciforme y poseen cinco pares de patas abdominales, cuerpo cilíndrico y alargado, color variable, blanco cremoso recién emergida y amarillo verdoso a marrón oscuro con manchas oscuras a rosadas, dando el aspecto de bandas, se encuentran cubiertos de finos pelos en hileras dorsales y laterales, las larvas recién eclosionadas miden 0.85 mm de longitud y en el V estadio larval hasta 11.5 mm de longitud, así mismo las pupas son de tipo obtecta o momificada de forma elíptica, color marrón claro a bruno de 6 a 8 mm de longitud.

Según Rasmussen *et al.* (2001), la diferencia que se presenta entre *E. quinoae* y *E. melanocampta*, no está en los órganos genitales si no expresamente en las manchas alares o maculaciones, *Eurysacca quinoae*, posee el ala anterior gris parduzca clara, dos manchas oscuras pequeñas, hacia el centro del ala: puntos oscuros y alargados en el ápice; escamas oscuras en el ápice, formando una raya conspicua, (figura 1)

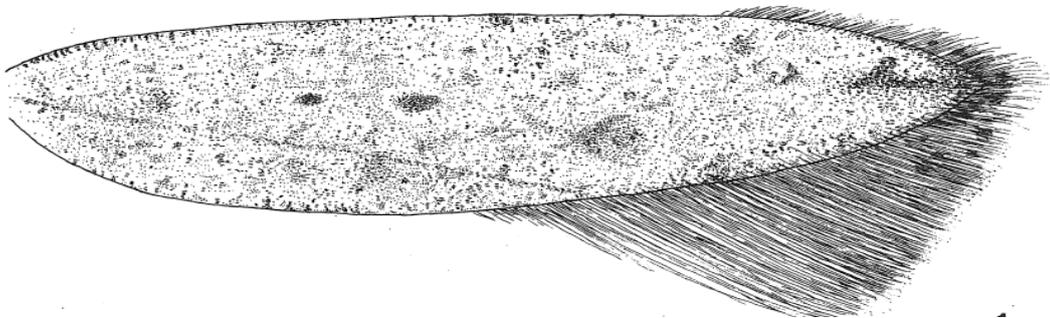


Figura 1. Ala anterior derecha, vista dorsal de *Eurysacca quinoae*.

Fuente: Rasmussen *et al.* (2001).

Eurysacca melanocampta, posee una ala anterior gris parduzca oscura, con una estrecha banda central aún más oscura a lo largo; dos manchas oscuras, ovoides, en el centro del ala, nítidamente rodeadas por escamas claras (figura 2). Las características indicadas son útiles para distinguir entre ambas especies de polillas. Se hicieron, además, estudios de genitales para confirmar las identificaciones (Rasmussen *et al.*, 2001).

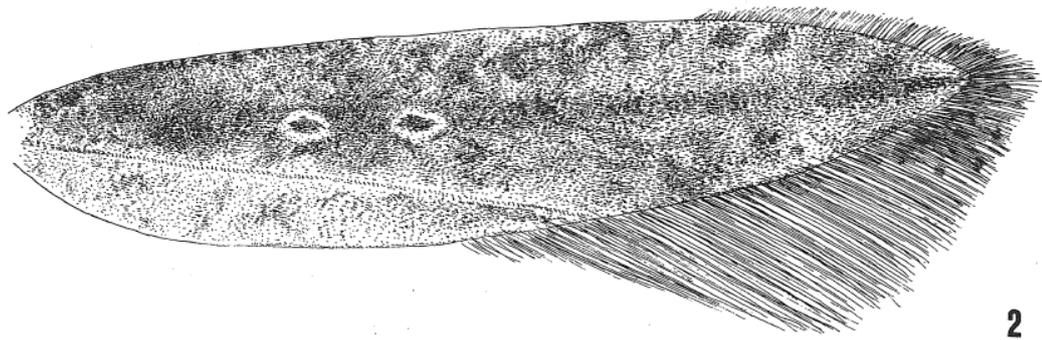


Figura 2. Ala anterior derecha, vista dorsal de *Eurysacca melanocampta*.

Fuente: Rasmussen *et al.* (2001).

2.3.2. Biología y comportamiento de *Eurysacca quinoa*.

Lopez (2012), menciona que entre los 8 a 11 días de la ovoposición, se produce la eclosión de las pequeñas larvitas, las que empiezan a alimentarse ya sea minando el parénquima de las hojas destruyendo el ovario de las flores o los órganos lechosos. Barrionuevo *et al.* (2019) mencionan, que el estado larval es oligófaga y atacan chenopodáceas cultivadas (*C. quinoa* Willd, *C. pallidicaule* Aellen), silvestres o "ayaras" (*Chenopodium* sp.) y Amarantáceas (*Amaranthus caudatus* L.), ocasionalmente, se registra en papa minando y pegando hojas terminales.

La “Kcona Kcona” presenta cinco estadios larvales en su período de crecimiento y desarrollo. Las larvas I y II se comportan por lo general como minadoras, mientras que las larvas III, IV y V son masticadores, anidan en el limbo foliar, en los brotes, botones florales o dentro de los glomérulos de las inflorescencias formando un estuche sedoso blanquecino y pegajoso dentro del cual se alimentan (Lopez, 2012) Así mismo Ochoa & Franco (2013) mencionan que todos los estadios larvales tienen la capacidad de producir un finísimo hilo de seda de color blanquecino, siendo este material utilizado para trasladarse de los órganos apicales a las basales de la planta, así como para construir los escondrijos o estuches de cobijo. Las larvas de “Kcona Kcona” son muy activas, cuando se les molesta mueven la parte caudal del abdomen semejante a la aleta caudal de los peces,

Ochoa & Franco (2013) mencionan que al finalizar su desarrollo las larvas se dirigen al suelo donde buscan pequeñas grietas o si se trata de suelos arenosos se abren paso



desapareciendo rápidamente, a una profundidad promedio de 3 mm, formando un cocón o cámara en cuyo interior empupan, pero pueden hacerlo también adherido a la parte inferior de los tallos, hojarascas, terrones o desperdicios, el período de prepupa y pupa dura un promedio de 3 y 25 días respectivamente. En las condiciones del altiplano peruano, el ciclo biológico dura aproximadamente 80 días pudiendo presentarse 2 a 3 generaciones por año dependiendo de las condiciones ambientales.

2.3.3 Daños causados por *Eurysacca quinoae*.

Según Ochoa & Franco (2013) se pueden distinguir dos tipos de daños ocasionados por *E. quinoae*, durante las diferentes fases del cultivo:

- a) El producido por larvas que minan tallos y se alimentan del parénquima de las hojas, pegan hojas y brotes tiernos, destruyen inflorescencias en formación, disminuyendo la capacidad fotosintética de la planta, consecuentemente disminución del rendimiento. Estos daños generalmente se observan en las primeras fases de desarrollo de la planta y son causadas por la primera generación de la plaga.
- b) El producido por larvas al alimentarse directamente de los granos, que son ocasionados por las larvas de la segunda generación. Este tipo de daño es el más importante ya que representa un perjuicio económico significativo.

Ochoa & Franco (2013), mencionan que el ataque de esta plaga se intensifica con los periodos de escasez de precipitaciones pluviales y temperaturas altas propias de “veranillos”. A partir de 8 larvas por planta ocasionan pérdidas considerables de la producción y a medida que se incrementa el número de larvas, obviamente se incrementan las pérdidas. Una pérdida del 100% ocurre cuando la población sobrepasa 120 larvas por planta de quinua.

2.3.4. Dinámica poblacional de *Eurysacca quinoae*.

De acuerdo a Barrionuevo *et al.* (2019), la dinámica de población, está determinada por la resistencia ambiental biótica (depredadores y parasitoides) y abiótica (clima y suelo). Las fuerzas bióticas y abióticas interactúan en forma compleja, sin embargo, el clima



tiene influencia directa (ciclo de vida, reproducción, desarrollo, fecundidad y longevidad) e indirecta (abundancia y escasez de alimentos) en la tabla de vida de *Eurysacca quinoa*.

Así mismo, Ochoa & Franco (2013), mencionan que las poblaciones de adultos y larvas de *Eurysacca quinoa*, son muy variables, desde la preparación del suelo hasta la cosecha ocurren altas y bajas densidades de poblaciones. Sin embargo, anualmente se evidencia una tendencia marcada, tanto de las poblaciones de adultos como de larvas, las poblaciones de la primera generación (setiembre a diciembre) es inferior a la segunda generación (enero a marzo), aparentemente influenciados por los factores meteorológicos y edáficos.

2.3.5. Umbral de daño económico por *Eurysacca quinoa*.

Según, Ochoa & Franco (2013) mencionan que el manejo integrado de plagas considera el uso de diversas medidas de control, cuando la densidad de la plaga sobrepasa el umbral de daño económico (UDE), el UDE es la máxima población de plagas que puede tolerar un cultivo en un momento y lugar determinado, sin que resulte una pérdida económica de la cosecha, o bien, el momento indicado para iniciar medidas de control y así evitar llegar al nivel de daño económico (NDE), nivel donde la densidad de población produce pérdidas económicas considerables.

Así mismo, Ochoa & Franco (2013) mencionan que estos conceptos, que a simple vista parece de lógica elemental, en la práctica es muy complejo de determinar, debido a los múltiples factores que involucra. Por una parte, requiere la determinación de una correlación entre densidad de la plaga (por ejemplo: número de larvas/planta) y nivel de producción. Por otro lado, la disminución del ingreso por ventas depende del precio del producto, lo que en gran parte depende del mercado de destino.

A pesar de la dificultad para determinar el umbral de daño económico, este concepto debe ser considerado por el agricultor al momento de tomar la decisión de control y no actuar de acuerdo a un calendario de aplicaciones o simplemente cuando se detectan los primeros individuos de la plaga. En la medida que se implementan en la chacra el monitoreo y otros conceptos de MIP, la determinación o el cálculo aproximado de umbrales de daño puede realizarse de manera empírica, llevando registros periódicos de la densidad de plaga, costos de aplicación y volúmenes de producción, para relacionarlos año tras año (Barrionuevo *et al.*, 2019).



Según Blanco (1994), menciona en su investigación que el umbral económico de Kcona Kcona en quinua, el umbral de daño económico (UDE) para *Eurysacca quinoae* en quinua es de cinco a seis larvas por panoja.

2.3.6. Evaluación.

Según Ochoa & Franco (2013) para las evaluaciones de la incidencia del número de larvas por planta, es recomendable utilizar el método de separación por sacudida o golpeo; utilizando un recipiente de color claro, colocado en la base de cada planta tomada, inclinándola ligeramente y sacudiéndola suavemente la planta con el objeto de causar la caída de larvas sobre el recipiente, seguidamente realizar el contaje para la toma de decisiones más correcta, considerando el UDE.

Para evaluar daños directos de los granos en panoja se recomienda tomar 10 panojas por cada punto de evaluación, cortar la panoja en forma vertical y asignar a cada panoja un valor según la siguiente escala visual porcentualizada:

Grado 1 = Sin daño

Grado 2 = De 1 a 25% de panoja dañada

Grado 3 = De 26 a 50% de panoja dañada

Grado 4 = De 51 a 75% de panoja dañada

Grado 5 = de 76 a 100% de panoja dañada

Con los datos numéricos así obtenidos puede aplicarse la fórmula de Kaspers para la determinación del índice de daño.

$$ID = \frac{N^{\circ} \text{ panojas Grado 1 (1)} + N^{\circ} \text{ panojas Grado 2 (2)} + \dots + N^{\circ} \text{ panojas Grado 5 (5)}}{N^{\circ} \text{ Total panojas de la muestra}}$$

Donde:

ID = Índice de daño

2.3.7. *Copitarsia turbata* (Lepidoptera: Noctuidae).

El grupo de Noctuidae incluye a un gran número de especies que son importantes por los daños que ocasionan a cultivos para el consumo humano. Son especies cosmopolitas y polífagas, en el cultivo de quinua, además de *C. turbata*, se puede encontrar a *Pseudaletia unipuncta quechua* Fr., *Feltia spp.* y *Pseudoleucania spp.* Comúnmente a la larva se



conoce como “ticuchi”, “panojero” o “gusano ejército”, relacionado a su hábito alimentario y comportamiento migratorio. Ataca también, a Chenopodaceas (*Chenopodium quinoa*; *C. pallidicaule*), Solanaceas (*Solanum curtilobum*, *S. tuberosum* y *S. juzepczukii*), Leguminosas (*Vicia faba* L. *Lupinus mutabilis* Sweet) y Amarantaceas (*Amarantus caudatus* L.). Al estado adulto se le conoce como “padresito” o “rafaelito” (Ochoa & Franco, 2013).

2.3.8. Características morfológicas.

Adulto: Los adultos de *C. turbata* son mariposas nocturnas de color castaño claro a castaño grisáceo y cuerpo robusto tapizado de escamas. Cabeza relativamente pequeña, aparato bucal con palpos labiales pronunciados, ojos grandes y brillantes en la noche y dos ocelos presentes; antenas fusiformes y no sobrepasan la longitud del cuerpo; alas anteriores castaño claro a oscuro con ligero brillo dorado, mancha orbicular circular castaño claro lleva un pequeño punto central bordeado ligeramente castaño oscuro y la mancha reniforme castaño oscuro con bordes castaño; alas posteriores ventralmente hialinas con borde castaño claro a oscuro; mancha discal pequeña y venas oscuras. Abdomen castaño grisáceo. Expansión alar de 38 a 40 mm (Lacey *et al.*, 2010).

Huevo: Son epífitas o edáficas, pequeñas y de forma esférica algo aplanado con finas estrias longitudinales, miden de 0.5 a 0.6 mm de diámetro, color blanco a blanco perlado (Ochoa & Franco, 2013)

Larva: Son de tipo eruciformes de cuerpo alargado y grueso, color variable de verde claro a verde oscuro, café claro a oscuro, gris claro a oscuro, región pleural y esternal amarillento pálido a amarillo o marrón negruzco, tamaño de larvas en V estadio entre 30 a 40 mm de longitud (Rasmussen *et al.*, 2001)

Pupa: De tipo obtecta o momificada, miden de 20 a 25 mm de longitud, color bruno o marrón rojizo a marrón oscuro (Ochoa & Franco 2013).

2.3.9. Biología y comportamiento.

Son de hábitos nocturnos, las hembras adultas depositan sus huevos en pequeños grupos o aisladamente sobre las hojas, principalmente en el envés, en los tallos y en el suelo. La capacidad de oviposición promedio es entre 450 a 500 huevos por hembra (Ochoa & Franco 2013).



Asi mismo Rasmussen *et al.* (2001) menciona que las larvas eclosionadas son gregarias y sobreviven entre ellos por canibalismo. Los estadios IV, V y VI son migratorias y polífagas voraces. En quinua, son cortadoras de plantas tiernas, defoliadores y destructor de panojas.

En plantas de quinua, las larvas son cortadoras de plantas tiernas, defoliadores, destructor de panojas y barrenadores de tallos. Empupan en el suelo hasta 10 cm de profundidad (Ochoa & Franco 2013).

2.3.10. Daño.

Cuando las características de plaga son intermitentes solo durante ciertas campañas agrícolas, el efecto perjudicial de la larva de *C. turbata* se evidencia sobre la capacidad reproductiva de la planta, los daños que ocasionan son de 32 % del rendimiento (Barrionuevo *et al.*, 2019).

2.3.11. Control microbiológico.

Podría definirse como: la utilización de agentes patógenos que frecuentemente causan epizootias ayudando a mantener el balance de las poblaciones en la naturaleza (Rivera, 2015).

En control microbiológico consiste en la manipulación artificial de entomopatógenos y su aplicación como aspersiones y espolvoreos, tienen como objeto el suprimir irrupciones violentas o amenazadas de plagas (Rivera, 2015).

Generalmente se utilizan agentes entomopatógenos, causantes de enfermedades en los insectos, son las bacterias, hongos y los virus, en segundo lugar las rickettsias y los protozoarios. De estos los virus y las bacterias son menos susceptibles a las condiciones ambientales, pero aun así guardan cierta dependencia medioambiental y fisiológica del insecto hospedero (Ortiz *et al.*, 1997).

Asi mismo Vilca & Carrasco (2013) mencionan que en los últimos años se ha empleado diversos virus para combatir plagas agrícolas y forestales causadas por insectos. La mayoría de los insectos asilados con propiedades para el control de plagas y enfermedades pertenecen al género Baculovirus que producen poliedrosis nucleares y granulosis. Se realizan ensayos de inocuidad y se han comprobado que no tienen efectos nocivos sobre



los ecosistemas y además no es probable que los insectos controladores generen resistencia aun después de haber sido aplicadas sobre varias generaciones.

2.4. Virus de la poliedrosis nuclear.

2.4.1. Familia Baculoviridae.

La familia Baculoviridae contiene solo un género dentro del cual se encuentra el virus de la poliedrosis nuclear y los granulovirus, los que tienen gran potencial como agentes de control biológico (Belda *et al.*, 2000).

Los Baculovirus, subgrupos A (virus de la poliedrosis nuclear, VPN) y B (virus de la granulosis, VG) de la Familia Baculoviridae, son patógenos exclusivos de artrópodos que infectan a numerosas especies de insectos, principalmente lepidópteros. Ambos grupos destacan por cualidades de interés práctico (especificidad, seguridad de empleo, facilidad de aplicación y estabilidad), que hacen posible su utilización como materias activas de insecticidas microbianos (Cory & Myers, 2003).

Por ello esta familia es considerada como la más importante en el control de insectos ya que, ataca a muchas de las plagas de importancia económica en varios cultivos. Las principales características de esta familia son (Carballo & Guharay, 2004):

- El genoma de estos virus está compuesto de una partícula de ADN
- El ácido nucleico se encuentra envuelto por una capa proteica llamada capsídeo
- La Capsídeo y el ácido nucleico forman la unidad infectiva llamada virión.
- Los viriones envueltos en una matriz proteica forman el conjunto conocido como cuerpos poliédricos de inclusión.

La cápsida es de 30-55 nm de diámetro y de 205 a 300 nm de largo contienen una cadena súper embobinada de forma circular con una doble cadena de ADN de 90-160 Kb. Los cuerpos de inclusión son formados en el núcleo de la célula infectada y pueden ser fácilmente detectados en el microscopio en el fase contrastante o campo oscuro, como partículas de alta refracción que pueden ser vistos a 400x (ODEC, 2002)

Los Baculovirus se han utilizado para el control de plagas y porque son específicas y restringidas para los invertebrados, son considerados agentes de control biológicos de seguridad (Martinez *et al.*, 2012).



2.4.2. Los virus como entomopatógenos.

Los virus entomopatógenos son endoparásitos obligados, ya que si están fuera de las células que parasitan no presentan ningún tipo de actividad y por si mismo carecen de metabolismo. Su estructura consta de una cubierta y en su interior unas moléculas de material hereditario (DNA o RNA) que le da su capacidad infectante. (Pelczar *et al.*, 1992).

Los baculovirus son virus patógenos de insectos ampliamente empleados a nivel mundial como bioinsecticidas para el control de diferentes plagas de importancia agrícola y más recientemente como vectores de expresión de proteínas y vectores para terapia génica. Una de sus características principales es su alta especificidad de hospedero que incluye un rango muy estrecho de especies de insectos. (Gomez y Villamizar, 2013).

Los virus entomopatógenos específicos pueden ser agentes de control natural muy efectivos en muchas especies de larvas de lepidópteros. Muchas cepas del virus de la poliedrosis nuclear (VPN) y del virus de la granulosis (VG) se encuentran en bajo nivel en muchas poblaciones de insectos. Pero cuando se desatan epizootias pueden devastar a las poblaciones de algunas plagas, principalmente cuando éstas son alta (Larrea, 2001).

2.4.3. Uso del virus de la poliedrosis nuclear en la agricultura.

Considerando solamente al hemisferio occidental alrededor del 30% de las plagas que afectan a la agricultura son susceptibles al virus, específicamente a los Baculovirus. Por lo tanto, los beneficios económicos potenciales de su desarrollo y su uso son promisorios (Belda *et al.*, 2000).

Se han realizado liberaciones exitosas de estos virus en el Reino Unido y en los EE.UU. Compañías como Dupont, Biosys, American Cyanamid y Agrivirion, entre otras están trabajando en el desarrollo de insecticidas virales recientemente (D'amico, 2000),

Se han descrito infecciones de baculovirus en más de 600 especies, principalmente del orden lepidóptero seguido de *Hymenoptera*, *Diptera*, *Coleoptera* y *Trichoptera* debido a que los baculovirus han demostrado su efectividad en el manejo de insectos plaga se les considera una opción importante como controladores biológicos (Martinez *et al.*, 2012).



2.4.4. Modo de acción del virus de la poliedrosis nuclear.

Los Baculovirus contaminan a los insectos por vía oral, los viriones son ingeridos con el alimento después de la ingestión, los poliedros del virus de la poliedrosis nuclear que contienen los viriones se disuelven en condiciones alcalinas ($\text{pH} > 7.5$) del intestino medio y se liberan los Virus Poliedro derivados (VPD). Los VPD, pasan a través de la membrana peritropica una capa proteica-quitinica que es secretada por las células del intestino medio que protege el epitelio del contacto directo con el material ingerido. (ODEC, 2002).

Después de adherirse a las microvellosidades del epitelio del intestino medio, la núcleo cápside penetra el lumen de las células o por fusión de los viriones envueltos con la membrana epitelial donde el virus normalmente realiza su primera vuelta de replicación. Las microcapsides son transportadas, más comúnmente dentro de las envolturas de las estructuras microtubulares de las células, a los núcleos y llegan a liberarse en los poros nucleares o en los núcleos donde el ADN viral es libreado, la expresión y replicación es iniciada. Las siguientes etapas y las infecciones secundarias inician por el crecimiento de viriones en los tejidos hospederos. En las primeras etapas post-infección 8 horas, los núcleos desarrollan hipertropismo, y un estroma virogénico es formado cuando la replicación del ADN y la liberación de las nucleocápsides suceden. La síntesis de las proteínas de las células hospederas es completada a las 24 horas post infección (ODEC, 2002).

Posteriormente, el virus afecta otros tejidos susceptibles del hospedero, donde continua reproduciéndose y multiplicándose. Otros tejidos atacados son principalmente cuerpo graso, epidermis del intestino, hemocitos, tráqueas y glándulas de seda (Caballero *et al.*, 2009).

2.4.5. Síntomas de infección por el virus de la poliedrosis nuclear.

El primer síntoma es un hinchamiento de los segmentos, seguido por una anorexia y el insecto cesa de alimentarse. Las larvas infestadas por el virus de la poliedrosis nuclear suben a las partes superiores de las hojas y se cuelgan de las propatas permaneciendo con la cabeza hacia abajo. El integumento se vuelve blando y de un color oscuro. Al momento de la muerte ocurre una licuefacción de los tejidos internos por lo que la larva queda con una textura blanda, lo que facilita la diseminación del virus al permitir un fácil



rompimiento de las membranas y la liberación de los viriones (Carballo & Guhatay, 2004).

2.4.6. Diseminación del virus.

Los cadáveres de las larvas muertas representan una fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes en un cultivo. Cuando las membranas corporales de las larvas se rompen liberan una gran cantidad de poliedros (cuerpos de inclusión) al ambiente (Del Rincon *et al.*, 1997).

Tanto en el agua de lluvia, como las larvas caídas al suelo transportan las partículas virales hasta la tierra, donde permanecen y serán el inóculo inicial para las futuras infecciones. La diseminación de estos virus puede darse por factores bióticos y abióticos ya sea verticalmente (de una generación a otra) u horizontalmente (de un hospedero susceptible a otro) (Hoddle & Driesche, 1996).

La transmisión vertical se da principalmente al momento de la ovoposición y por la contaminación de la superficie de los huevos y puede darse de tres formas que son: por la contaminación directa de la superficie de los huevos, la infección de los huevos dentro del sistema reproductivo de la hembra y cuando el patógeno (virus) pasa a través de algunas fases o por todo el ciclo de vida del hospedero. La transmisión horizontal se da principalmente por los adultos del hospedero y por otros organismos como depredadores y parasitoides también puede haber diseminación por factores abióticos como la lluvia, el viento (en forma de viento o aerosoles) y movimientos de cuerpo naturales de agua (Del Rincon *et al.*, 1997).

2.4.7. Ecología y biología de los Baculovirus.

Los cuerpos de inclusión (viriones) de los Baculovirus pueden sobrevivir fuera del huésped, por largo periodos de tiempo, especialmente cuando se encuentran protegidos de la degradación por radiación ultravioleta. La distribución espacial de los cuerpos de inclusión varía en función del tipo de ecosistema y de las diferentes combinaciones Baculovirus-insecto y las distintas plantas sobre las cuales se alimentan los insectos huéspedes (Fuxa, 2004).

Para la mayoría de los Baculovirus el principal reservorio de sus cuerpos de inclusión es el suelo. Aquí pueden persistir por periodos más o menos largos aunque afectados por



valores extremos de Ph y las altas temperaturas, el tipo de suelo y la elevada Humedad (Fuxa, 2004).

2.4.8. Dosis del patógeno.

La definición de dosis eficiente del virus para la aplicación en el campo contribuye un factor importante para el empleo adecuado de este producto biológico. La mejor forma de determinar la dosis de un virus es realizar ensayos en condiciones controladas en laboratorio y/o invernadero, con diferentes densidades de plagas y condiciones de cultivo eligiendo la dosis que presenta un desempeño deseable para casi todas las situaciones además es recomendable que la dosis seleccionada sea ensayada en grandes áreas, en condiciones normales de cultivo en la forma de proyecto piloto antes de su recomendación al agricultor (Lecuona, 1995).

2.4.9. Radiación solar.

La radiación solar ha sido señalada como el principal factor de desactivación en campo. Los virus asociados a cuerpos de inclusión proteicos como los VPN, VG VPC y entomopatopoxvirus, poseen generalmente mayor cantidad capacidad de persistencia en el ambiente que los virus de partícula libre, debido a la protección conferida a estos cuerpos (Villamizar *et al.*, 2012).

De esta manera los virus aplicados a campo sobre la superficie de las plantas pueden ser desactivadas rápidamente, variando para la mayoría de la viriosis de 2 a 5 días. Por otro lado la mayor o menor persistencia de la actividad viral va a depender del tipo de cultivo en consideraciones de la arquitectura de la planta del lugar donde el patógeno fue depositados y de la dosis aplicada (Alvez, 1998).

La adición de adyuvantes que promueven cierta protección al virus ha sido ensayado y evaluado en formulaciones de bioinsecticidas virales con la finalidad de prolongar la actividad de estos agentes y consecutivamente propiciar el control adecuado de la plaga. Debido al efecto de la radiación ultravioleta sobre los virus entomopatógenos ha sido recomendada su aplicación al atardecer. De este modo se garantiza un mayor número de horas de actividad de virus sobre los insectos plaga y en consecuencia aumenta la probabilidad de que los insectos en el cultivo ingieran la dosis letal del patógeno (Lecuona, 1995).



2.4.10. Temperatura.

La temperatura aparentemente no ejerce un efecto directo significativo sobre los virus asociados a cuerpos de inclusión particularmente los Baculovirus en los rangos que son aplicados normalmente en el campo, ya que mantienen su virulencia cuando son sometidos a temperaturas elevadas (40 a 45°C) o bajo cero. En cambio, cuando se considera su asociación con el hospedante, puede ocurrir inhibición del proceso infeccioso tanto en temperaturas bajas como elevadas con grados variables según el sistema virus patógeno considerado (Villamizar *et al.*, 2012)

La inhibición viral a temperaturas bajas 0°C y altas (40°C) pueden estar relacionadas con el efecto sobre la tasa de alimentación del insecto y/o la influencia sobre el mecanismo de invasión del virus en el hospedante bien como a un aumento de las inmunidades celulares y humorales en respuesta a bajas o altas tasas metabólicas del insecto en estas condiciones antes mencionadas (Lecuona, 1995).V

2.4.11. Humedad.

La humedad tiene poco efecto sobre la eficiencia y estabilidad de los virus entomopatógenos al contrario de los que se verifica para otros entomopatógenos como hongos por ejemplo la alta humedad puede facilitar la diseminación del virus presente en larvas muertas resultantes de la aplicación debido a que en estas condiciones el cuerpo del insecto se rompe más fácilmente, permitiendo que el inóculo sea transportado por otros artrópodos o gotas de lluvia como fue verificado para el VPN de *A. gematalis*. En periodos de sequía prolongada después de la aplicación la epizootia de virus a partir de larvas muertas, es perjudicada pues los cadáveres de las larvas tienen a deshacerse y no se rompen con facilidad lo que torna menos rápida la liberación de virus sobre las plantas. La lluvia generalmente no reduce significativamente la cantidad y efectividad del depósito de virus sobre las hojas u otras partes de la planta. Pulverizaciones de VPN *A. gematalis* anteriores a unas precipitaciones o realizados bajo lluvias finas, no representaron pérdida de la actividad del patógeno sobre las hojas de distintos estratos (Alves, 1998).



2.4.12. Sustrato.

La eficiencia de aplicaciones de virus en laboratorio y/o campo y su persistencia están estrechamente relacionadas al sustrato estos son depositados y pueden ser desactivados de manera diferente en función a la arquitectura vegetal, lugar y especie de planta donde el virus fue depositado, sustancias del propio vegetal, entre otros factores inherentes al sustrato (Lecuona, 1995).

Existen también evidencias que algunas sustancias presentes en las hojas pueden contribuir con la pérdida de la actividad de los virus aplicados en los experimentos. Se verificó que las hojas de algodón del VPN de *Heliothis spp.* era desactivada durante la noche debido a que el rocío formado sobre la superficie de las hojas era alcalino (pH 9.6 a 10.11) sustancia con pH superior a 9.0 han sido referida como desactivadores de virus de insectos (Lecuona, 1995).

El suelo como soporte de virus entomopatógenos ofrece protección a estos agentes por prolongados periodos y es principalmente el virus remanente en este sustrato el que da origen a las primeras infecciones y desencadena las epizootias anuales en las poblaciones de insectos (Alves, 1998).

2.4.13. Edad y poblaciones del hospedante.

Los insectos adultos son generalmente resistentes a las infecciones por virus particularmente a los baculovirus aunque aquellas pueden transmitirlo ya sea en forma activa o latente para su progenie (Lecuona, 1995).

En la fase larval los insectos son más susceptibles y tienden a ser más resistentes a la infección a medida que avanzan en su desarrollo. La mayor disminución de su susceptibilidad ocurre a partir del cuarto estadio. De esta forma es importante la definición de los límites máximo de la densidad relativa de indirectas para la aplicación de virus de insectos a campo (Alves, 1998).



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en la región de Puno, en los principales campos de cultivo de quinua en la campaña agrícola 2018.

El estudio se dividió en dos etapas:

- La primera se llevó a cabo en los campos de cultivo de quinua de 24 localidades de la región de Puno en las provincias de Yunguyo, Chucuito, Puno, San Román, Carabaya, Azángaro, Lampa, San Antonio de Putina, Huancané y Moho, donde se realizó el muestreo y la recolección de larvas de lepidópteros.
- La segunda etapa se realizó en el laboratorio de Protección Vegetal de la Estación Experimental INIA-Puno, donde se diferenció a la larvas sanas de las enfermas, así mismo se realizó la pruebas de patogenicidad el virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres.



3.2. TIPO DE ESTUDIO.

Experimental: se realizó pruebas comparativas de la capacidad patogénica que posee el virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Eurysacca quinoa* del instar tres, cuantificándose su mortalidad diaria.

Longitudinal: se estudiaron las variables de respuesta durante el periodo de investigación.

3.3. UNIVERSO, POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.3.1. Universo.

El universo estuvo conformado por los campos de cultivo de quinua ubicados en 24 localidades de la región Puno.

3.3.2. Población.

Fueron los campos de cultivo de quinua de distintas localidades de la región de Puno.

3.3.3. Muestra.

Larvas obtenidas mediante la recolección en los campos de cultivo de quinua de la región Puno.

3.3.4. Técnica.

Se procedió a tomar muestras de larvas presentes en las panojas de quinua evaluando en forma de M o en W denominado también muestreo sistemático, de manera tal que el trayecto se inicie en un extremo del campo y concluya en el extremo opuesto (Bravo, 2010).

Criterios de inclusión. Larvas provenientes de los campos de cultivo de quinua sin tratamiento químico (insecticidas químicos).

Criterios de exclusión. Larvas de los campos de cultivos con tratamiento químico previo.

3.4. METODOLOGÍA DE CAMPO

Determinación de la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno



3.4.1 Frecuencia de muestreo

Se tomaron muestras de larvas de lepidópteros cada siete días entre lunes a viernes, en la zona sur (Yunguyo, Chucuito) como en la zona norte (Puno, San Román, Lampa, Huancané, Carabaya, Azángaro, San Antonio de Putina y Moho) de la región de Puno (Figura 10). El inicio del muestreo fue a finales del mes de diciembre e inicios del mes de enero, donde los cultivos de quinua están en la etapa de germinación y crecimiento con 6 hojas verdaderas y ramificación, para posteriormente continuar en la etapa de panojamiento y floración que comprende entre los meses de febrero, marzo hasta la última semana de abril (Figura 16), en la etapa de maduración (finales del mes de marzo e inicios del mes de abril) mencionadas fechas fueron establecidas conjuntamente con las visitas que la EEA INIA-Anexo Salcedo planifico en su rol de trabajo.

3.4.2. Fase de campo

La colección de larvas de lepidópteros y otros insectos presentes en el campo de cultivo de la quinua, se realizó desde las últimas semanas de diciembre. Para ello se ha empleado el método de la sacudida o “shock down” que consiste en sostener con una mano la planta de quinua y sacudirla, golpeteándola cuidadosamente con la otra mano sobre una bandeja de 37cm de largo por 24cm de ancho, este método permite recoger la totalidad de insectos presentes en la panoja para luego ser registrados en los cuadernos de campo con el número de individuos recolectados y la especie (Ochoa & Franco 2013). De acuerdo a la forma y extensión del terreno de cultivo, se determinó con anterioridad un mínimo de cinco puntos de evaluación, donde se muestrearon una planta por punto cada semana en un periodo de 18 semanas, con un total de 90 plantas por cada 500m² de cultivo de quinua. Lo que garantizó que la toma de muestra sea verdaderamente representativa de toda el área de cultivo que correspondió a una zona homogénea de producción (planicie o pampa). El recorrido para ubicar tales puntos de evaluación fueron predeterminados antes de iniciar la evaluación, en forma de M o en W de manera tal que el trayecto se inició en un extremo del campo y concluyo en el extremo opuesto (Bravo, 2010).

3.4.3. Individuos capturados.

Los individuos colectados fueron depositados en frascos y tapers cerrados rotulados consignándose: lugar, fecha y coordenadas UTM (Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator). Luego fueron transportados al laboratorio de Entomología del



Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) (Figura 13). Las larvas sospechosas que manifestaban infección por parte del virus de la poliedrosis nuclear fueron puestas en cuarentena en placas Petri y posteriormente observadas y registradas hasta determinarse la naturaleza de su enfermedad (Figura 21). Las larvas que se encontraron muertas fueron depositadas en tubos pequeños de plástico (Ependorf de 2ml), para luego ser triturados con ayuda de un mortero de porcelana, al triturado se le adiciono agua destilada para luego filtrarse con ayuda de una tela fina de 1mmx1mm, el filtrado fue vertido en tubos Ependorf para ser centrifugados a 15000/rpm por 21 minutos y el pellet o sobrenadante obtenido ha sido estudiado por observación directa en el microscopio óptico con el objetivo de 40x, con el fin de buscar los cuerpos de inclusión propios del virus de la poliedrosis nuclear (Figura 17, 19). Las larvas que no presentaron sintomatología de infección como: baja movilidad, falta de apetito, cambio de color lechoso y pérdida de turgencia, Alves (1989). Fueron criadas en tapers de 24 cm de largo por 16cm de ancho con una capacidad de 1.5L, con una base de arena fina de 2cm de alto, y alimentadas con panojas de quinua sin ningún tipo de tratamiento, las larvas fueron criadas hasta su fase de adultos para ser identificadas por su relieves alares (detalles y machas en las alas) y su genitalia (aparato reproductor).

3.4.4. Diseño Estadístico.

La incidencia acumulada (IA) se calculó como la proporción de individuos sanos que desarrollan una enfermedad a lo largo de un periodo de tiempo (Fernández *et al.*, 2004). Para cada uno de las Provincias muestreadas (Yunguyo, Chucuito, Puno, San Román, Carabaya, Azángaro, Lampa, San Antonio de Putina, Huancané y Moho) y refleja un porcentaje de la población de larvas sanas afectadas con el virus de la poliedrosis nuclear.

$$IA = \frac{\text{Nº de larvas infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear}}{\text{Nº total de larvas recolectadas por localidad}} \times 100$$

La tasa de incidencia o densidad de incidencia (DI) se calculó como el número de casos nuevos ocurridos durante el periodo de tiempo evaluado y la suma de las semanas de observación (Fernandez *et al.*, 2004). Los resultados muestran la probabilidad de que las larvas sanas de las zonas evaluadas desarrollen la enfermedad a causa del virus de la poliedrosis nuclear por semana.

$$DI = \frac{\text{Nº de casos nuevos de la enfermedad durante el periodo de seguimiento}}{\text{suma de semanas en observacion}} \times 100$$



Determinación de la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de *Eurysacca quinoae*

3.5. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

La unidad experimental estuvo constituido por envases tipo tapers, con una altura de 19cm de largo x 14cm de ancho y con una capacidad de 2L, se colocó panojas de quinua de grano lechoso de aproximadamente 200mg, el cuál fue previamente rociada y/o asperjada por la solución viral de 100ml, con las diferentes concentraciones de 2mg, 3mg y 4mg (exceptuando el testigo). Posteriormente se introdujeron 100 larvas de k'ona k'ona del tercer estadio en cada tapers (un tapers para cada tratamiento), las mencionadas larvas previamente fueron sometidas previamente a un ayuno de 24 horas (Figura 23, 24). Las evaluaciones fueron registradas diariamente, anotándose los cambios en el comportamiento (falta de movilidad, cese de alimentación) y sus características morfológicas (cambio de coloración, flacidez) así como el tiempo de mortalidad (Troya, 2011).

3.5.1. Preparación de solución madre.

El material viral utilizado para las pruebas de patogenicidad se extrajeron de larvas enfermas procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región de Puno, las cuales se guardaron refrigeradas en viales y/o Ependorf con 2ml de agua esterilizada (Figura 18). Al momento de la preparación viral, las larvas infectadas se trituraron en un mortero de porcelana para luego ser pesados según los tratamientos especificados (2mg, 3mg y 4mg), posterior a ello se les adiciono 100ml de agua destilada al triturado para luego ayuda de una malla fina con apertura de 1mm x 1mm, se puedan separar los tejidos de la larva muerta del material biológico de interés, el material filtrado se llevó a otro vial para ser centrifugado a 15000 RPM(revoluciones por minuto) por 21 minutos (Figura 19).

3.5.1.1. Preparaciones de las diluciones.

Las larvas trituradas y centrifugadas se depositaron en un vaso de precipitados de 150ml (uno diferente para cada tratamiento), previamente esterilizado, a cada vaso se le adiciono 100ml de agua destilada, para que luego sean asperjadas en las panojas presentes en los tapers de evaluación de patogenicidad



3.5.2. Evaluaciones de mortalidad.

Después de haber transcurrido 24 horas donde las larvas de tercer estadio fueron expuestas a cada tratamiento (panojas infectadas con la solución viral de 2mg, 3gm y 4mg) se registró el porcentaje de mortalidad de cada tratamiento en cada tapers, la causa de muerte se determinó por observación de la sintomatología externa de los cadáveres y por la observación directa al microscopio de los tejidos de larva muerta, la confirmación de que las larvas hayan muerto a causa del virus de la poliedrosis nuclear estuvo sujeta o poder confirmar la presencia de los cuerpo de inclusión del virus, los cuales poseen un forma poliédrica con un rango de medida de 5 a 7 micras (Figura 27).

3.5.3. Diseño estadístico.

Para determinar las diferencias en el grado de patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas infectadas se utilizó el diseño experimental Análisis de Varianza (ANDEVA), en Diseño de bloques completamente al azar (DCA) en arreglo factorial, siendo, los bloques los tratamientos (2mg/100ml, 3mg/100ml, 4mg/100ml y Testigo). Para ello, por considerarse los datos variables discretas (conteo), fueron transformados a la ecuación $\sqrt{x + 1}$, a fin de aproximarlos hacia una distribución normal y proceder el diseño experimental.

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta (% de mortalidad)

U = media general

T_i = efecto del tratamiento (2mg, 3mg y 4mg del VPN)

E_{ij} = efecto de error experimental

i = porcentaje de mortalidad larval en cada tratamiento

j = repeticiones

Para el cálculo de los efectos se utilizó el software InfoStat versión libre 2008.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que a continuación se presentan, se dividieron en dos aspectos principales que responden a los objetivos específicos planteados los cuales fueron: Determinar la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno y determinar la patogenicidad del Virus de la Poliedrosis Nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de *Eurysacca quinoae*.

4.1. Determinación la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros en campos de cultivos de quinua de la región de Puno

Durante el periodo de estudio se muestreo un total de 24 localidades de la región Puno con presencia de cultivos de quinua.

En la Tabla 1, se observa la presencia de las larvas del Orden Lepidóptera, por distintas localidades de la región Puno, destacándose lo siguiente:

- La mayor cantidad de larvas de *Eurysacca quinoae* se encontraron en las localidades de Cuinchaca (J-4) con 774 larvas, Chatuma (CH-0) 650 larvas, Cabana (J-2) 626 larvas.
- La mayor cantidad de larvas de *Copitarsia turbata*, se encontraron en las localidades de Chatuma (CH-0) 15 larvas, Cotos (P-3) 13 larvas y Tahuaco (Y-1) 11 larvas.
- Se evaluaron 90 plantas en cada localidad, muestreándose un total de 2,160 plantas de quinua.
- En algunas localidades solo se registraron larvas de *E. quinoae* sin presencia de larvas de *Copitarsia turbata*, como es el caso de Atuncolla (P-1), Llapuscachi (J-



1), Collana (AS-1), Santiago de Pupuja (AZ-2), Putina (SP-1) y Yanahocco (HU-1).

Tabla 1. Número de larvas (*Eurysacca quinoae*, *Copitarsia turbata*) que inciden en el cultivo de quinua en diferentes distritos de la región de Puno.

N°	CODIGO	PROVINCIA	DISTRITO	LOCALIDAD	ALTITUD msnm	Numero de larvas de <i>E. quinoae</i>	Numero de larvas de <i>Copitarsi a turbata</i>	Total de plantas evaluadas
1	Y-1	Yunguyo	Copani	Tahuaco	3859	524	11	90
2	CH-0	Chucuito	Pomata	Chatuma	3865	650	15	90
3	CH-1	Chucuito	Pomata	Huacani	3842	534	9	90
4	CH-2	Chucuito	Pomata	Chuacasuyo	3895	274	10	90
5	CH-3	Chucuito	Pomata	Llunguta	3850	315	5	90
6	P-1	Puno	Atuncolla	Atuncolla	3884	443	0	90
7	P-2	Puno	Atuncolla	Illpa	3835	482	2	90
8	P-3	Puno	Capachica	Ccotos	3837	512	13	90
9	P-4	Puno	Coata	Coata	3839	321	6	90
10	P-5	Puno	Mañazo	Mañazo	3940	456	4	90
11	J-1	San Roman	Cabana	Llapuscachi	3922	408	0	90
12	J-2	San Roman	Cabana	Cabana	3903	626	6	90
13	J-3	San Roman	Cabana	Moya	3882	418	4	90
14	J-4	San Roman	Cabana	Cuinchaca	3914	774	6	90
15	MC-1	Carabaya	Macusani	Corani	3955	396	2	90
16	AS-1	Azangaro	Asillo	Collana	3905	356	0	90
17	AZ-1	Azángaro	Azángaro	Azangaro	3873	400	6	90
18	AZ-2	Azángaro	Santiago de pupuja	Santiago de Pupuja	3880	438	0	90
19	LP-1	Lampa	Lampa	Lampa	3891	508	4	90
20	SP-1	San Antonio de Putina	Putina	Putina	3880	378	0	90
21	HU-1	Huancané	Huancané	Yanhocco	3832	519	0	90
22	HU-2	Huancané	Huancané	Azangarillo	3858	380	4	90



23	MH-1	Moho	Moho	Lacasani	3831	414	5	90
24	MH-2	Moho	Moho	zona de Lago	3866	453	6	90
TOTAL						10,979	98	2,160

En la Tabla 1 podemos observar el número de especies recolectadas en la campaña agrícola 2018, en las diversas provincias de la región Puno, donde el mayor número de larvas encontradas fueron de la especie *E. quinoae* y en menor cantidad larvas de la especie *Copitarsia turbata*. Ambas especies son consideradas como las principales plagas en los cultivos de quinua principalmente en los granos de estado lechoso y en el periodo de maduración generando pérdidas económicas a los agricultores y productores de quinua.

De acuerdo con lo manifestado por la FAO, (2013), se reconocen más de 20 especies del género *Eurysacca*, de las cuales dos de sus especies, *E. melanocampta*, *E. quinoae*, son reportadas como importantes plagas del cultivo de la quinua, estas especies de polillas se distribuyen a lo largo del altiplano Perú-Boliviano, que se caracteriza por tener hábitats áridos y semiáridos.

Nuestros resultados son corroborados por Chacon (1962), quien menciona que *E. melanocampta* está registrada en todas las zonas agroecológicas de la región andina donde se produce quinua, comprendida entre 1,900 y 4,350 m.s.n.m., desde Argentina y Chile en el sur hasta Colombia *E. quinoae*, tiene aparentemente una distribución más limitada, ya que ha sido reportada sólo en Bolivia y Perú, siendo particularmente la región de Puno uno de los principales productores de quinua la presencia de *E. quinoae* es casi absoluta en los cultivos de quinua considera por los agricultores e investigadores avocadas a la agricultura como la principal plaga insectil de la quinua.

Así mismo Rasmussen *et al.* (2001), Quienes realizaron colecciones en los departamentos de Puno y Junín han demostrado la existencia de dos especies diferentes siendo la más común *E. quinoae* que fue la plaga principal en los campos de cultivo durante la época de campaña agrícola (octubre-abril), estos resultados guardan correlación con los obtenidos en la presente investigación siendo las larvas de *Eurysacca*



quinoae la especie que más se recolectó en los campos de cultivo de quinua en las localidades de la región Puno.

En la Tabla 2, se observa la presencia de las larvas de *Eurysacca quinoae* y *Copitarsia turbata* sanas e infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear las cuales fueron muestreadas en los campos de cultivo de quinua en diversos distritos de la región Puno, destacando lo siguiente:

- La evaluación se realizó por un periodo de 18 semanas durante el desarrollo fenológico de la quinua hasta su cosecha y se muestrearon un total de 90 plantas por 24 localidades pertenecientes a la región de Puno.
- La mayor cantidad de larvas infectadas de *Eurysacca quinoae* se encontraron en las localidades de Azángaro (AZ-1) registrándose 250 larvas infectadas, de igual manera el distrito de Ccotos (P-3) registro 250 larvas infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear y por último el distrito de Mañazo (P-5) registrando 193 larvas infectadas con el virus .
- La mayor cantidad de larvas de *C. turbata*, se encontraron en las localidades de Chatuma (CH-0) se registraron 7 larvas infectadas, así mismo las localidades de Tahuaco (Y-1) y Cabana (J-2) registraron 4 larvas infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear.
- Las localidades de Atuncolla (P-1), Llapuscachi (J-1), Collana (AS-1), Santiago de Pupuja (AS-2), Putina (SP-1) y Yanahocco (HU-1) no se encontró larvas de *Copitarsia turbata* que estuvieran infectadas con el virus de la poliedrosis nuclear o que manifestaran alguna sintomatología propia del virus y descrito anteriormente.

Tabla 2. Número y porcentaje de larvas infectadas por el virus de la poliedrosis nuclear según especie de lepidópteros (*Eurysacca quinoae*, *Copitarsia turbata*).

CODIGO	DISTRITO	LOCALIDAD	LARVAS INFECTADAS				
			<i>E. quinoae</i>	Porcentaje	<i>Copitarsia turbata</i>	Porcentaje	Semanas
Y-1	Copani	Tahuaco	164	31%	4	36%	18
CH-0	Pomata	Chatuma	159	24%	7	47%	18
CH-1	Pomata	Huacani	55	10%	0	0%	18
CH-2	Pomata	Chuacasuyo	0	0%	0	0%	18
CH-3	Pomata	Llunguta	0	0%	0	0%	18
P-1	Atuncolla	Atuncolla	0	0%	0	0%	18
P-2	Atuncolla	Illpa	140	29%	2	100%	18
P-3	Capachica	Ccotos	250	49%	2	15%	18
P-4	Coata	Coata	150	47%	3	50%	18
P-5	Mañazo	Mañazo	193	42%	0	0%	18
J-1	Cabana	Llapuscachi	0	0%	0	0%	18
J-2	Cabana	Cabana	185	30%	4	67%	18
J-3	Cabana	Moya	177	42%	2	50%	18
J-4	Cabana	Cuinchaca	85	11%	2	33%	18
MC-1	Macusani	Corani	150	38%	1	50%	18
AS-1	Asillo	Collana	0	0%	0	0%	18
AZ-1	Azángaro	Azángaro	250	63%	3	50%	18
AZ-2	Santiago de pupuja	Santiago de Pupuja	159	36%	0	0%	18
LP-1	Lampa	Lampa	0	0%	1	25%	18
SP-1	Putina	Putina	0	0%	0	0%	18
HU-1	Huancané	Yanahocco	0	0%	0	0%	18
HU-2	Huancané	Azangarillo	99	26%	1	25%	18
MH-1	Moho	Lacasani	110	27%	2	40%	18



MH -2	Moho	zona de Lago	93	21%	3	50%	18
Tot al			2419		52		432

De acuerdo con lo manifestado por Gomez *et al* (2010) en su estudio sobre la epidemiología de un baculovirus de *P. operculella* en Túnez, los síntomas de infección exhibidos en campo son difíciles y raros de encontrar y algunas larvas infectadas pueden no mostrar síntomas indicativos o característico de la presencia de la enfermedad. Este fenómeno puede deberse a la presencia de bajas concentraciones del virus en el insecto o a un caso de infección latente. Es por esto que el análisis microscópico, molecular y biológico es fundamental para el aislamiento de baculovirus en muestras recolectadas en campo (Alves, 1989).

Asi mismo Gonzales *et al* (2015) mencionan que las larvas de *S. frugiperda* afectadas por baculovirus se encontraron en áreas con cultivo de pastos, y otros cultivos de sorgo y maíz esto podría deberse ya que para que ocurra la transmisión del virus, es necesario que haya un transporte de cuerpos de inclusión desde el suelo hasta la superficie foliar de la planta donde son ingeridos por insectos susceptibles, lo cual puede ocurrir por acción de la lluvia y otros agentes físicos.

A si mismo Fuxa (2004), aclara que en los cultivo de pastos, las partículas virales pueden movilizarse más fácilmente desde sus reservorios (el suelo y la superficie foliar) a la vegetación cercana, así como las larvas pueden pasar más fácilmente de una planta a otra. Igualmente, el rápido crecimiento del maíz o el sorgo comparado con el pasto, hace que se produzca mayor superficie foliar que no se encuentra contaminada por el virus, reduciendo la posibilidad de diseminación de la infección en las larvas presentes.

En la Figura 3, se puede observar la incidencia acumulada del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *E. quinoae* presentes en el cultivo de quinua de diferentes distritos de la región de Puno. Las tres localidades con mayor incidencia acumuladas fueron: Azángaro, Ccotos y Coata, obteniendo 62.5, 48.8 y 46.7 respectivamente.

Los resultados obtenidos nos muestran que por cada 100 larvas para el caso de Azángaro existió una probabilidad del 62.5% de que una larva sana se infecte con el virus de la

poliedrosis nuclear, de la misma manera para las localidades de Coata y Cuinchaca, se muestra que por cada 100 larvas existió una probabilidad del 48.8% y 46.7% respectivamente, de que una larva sana se infecte por el virus de la poliedrosis nuclear.

Muy por el contrario las localidades de Chuacasuyo, Llunguta, Atuncolla, Llapuscachi, Collana, Lampa, Putina y Yanahocco no reportaron incidencia acumulada del virus de la poliedrosis nuclear. Siendo lugares ideales donde se podría inocular el virus para poder controlar a las larvas de *E. quinoae* y *C. turbata* y otros lepidópteros con importancia agroeconómica y evaluar su prevalencia e incidencia (figura 3).

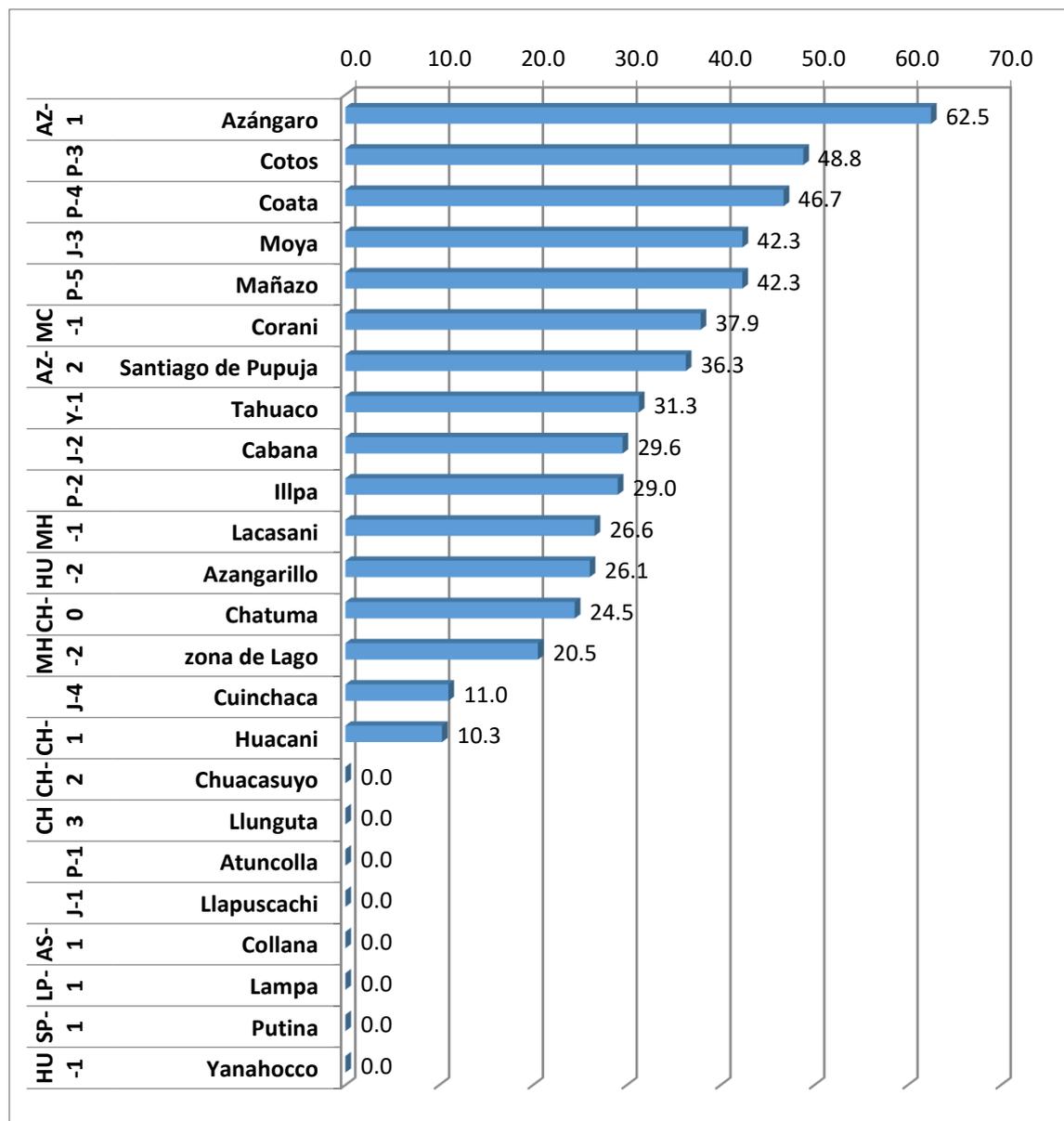


Figura 3. Incidencia acumulada del VPN en larvas de *E. quinoae* en diferentes localidades de la región de Puno.



Considerando nuestro resultado con la investigación de Gomez *et al.* (2010) quienes mencionan que de un total de 2140 larvas muestreadas en Córdoba, Meta y Tolima (Colombia) encontraron una incidencia del 0.14% en larvas de *S. frugiperda* y de 14000 larvas muestreadas encontraron una incidencia del 0.15%, cabe recalcar que la diferencia climática es un factor que determina la incidencia y la prevalencia del virus.

Tal como los manifiestan Valicente & Barreto, (1999) quienes mencionan, que probablemente en poblaciones (larvas) de campo en Colombia, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y demás países donde se manifieste el virus de la poliedrosis nuclear su incidencia y persistencia se puede ver afectada por diferentes factores climatológicos, así como la densidad de la población del hospedero, las condiciones físicas y químicas del suelo.

En la Figura 4, se puede observar la incidencia acumulada del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Copitarsia turbata*, presentes en el cultivo de quinua. Las localidades con mayor incidencia acumuladas fueron: Illpa, Cabana y Coata obteniendo 10.0%, 6.7% y 5.0% respectivamente. Los resultados obtenidos nos muestran que por cada 10 larvas para el caso de Illpa existió una probabilidad del 10.0% de que una larva sana se infectaron con el virus de la poliedrosis nuclear, de la misma manera para las localidades de Cabana y Coata, las cuales reportan que de cada 10 larvas sanas existió una probabilidad del 6.7% y 5.0% que se hayan podido infectar con el virus de la poliedrosis nuclear.

Las localidades de Huacani, Chuacasuyo, Llunguta, Atuncolla, Mañazo, Llapuscachi, Collana, Santiago de Pupuja, Putina, Yanahocco, no mostraron una incidencia del virus de la poliedrosis nuclear probablemente por no existir una cepa o simplemente porque su presencia sea nula, siendo estas zonas ideales para la inserción del virus en el manejo y control de plagas insectiles (Figura 4).

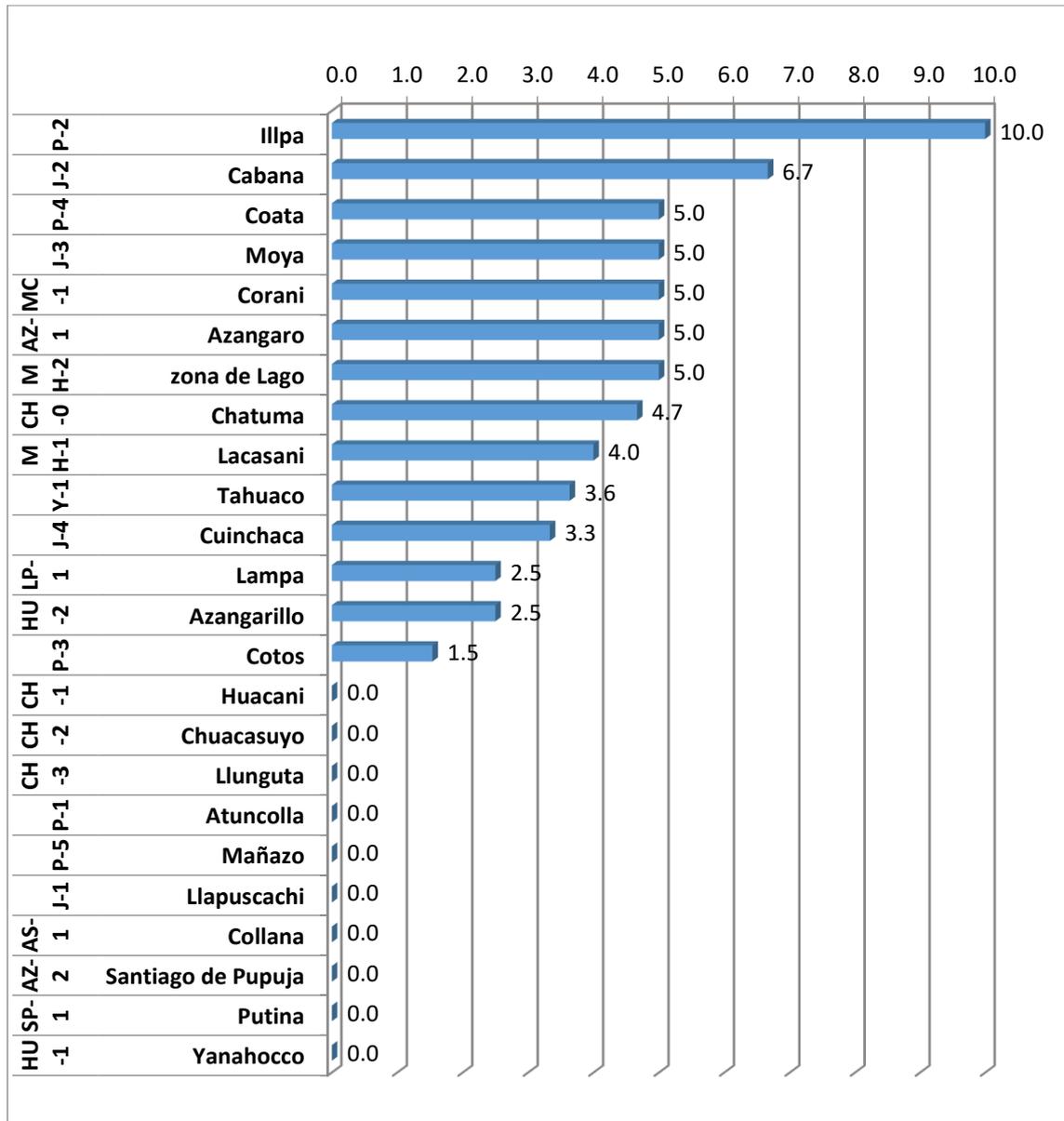


Figura 4. Incidencia acumulada del VPN en larvas de *Copitarsia* spp en diferentes localidades de la región de Puno.

Los resultados son similares a lo reportado por Saravia & Garcia (2009) quienes afirman que las larvas y los adultos de *Copitarsia turbata*, son más frecuentes en los meses de diciembre y febrero, meses donde las panojas de quinua se encuentran en maduración o en grano lechoso, afirmaciones que fueron contrastadas en la presente investigación siendo febrero y marzo los meses donde se pudo recolectar el mayor número de larvas enfermas, ya que en el mes de abril la mayoría de la localidades realizaba la actividad de la cosecha y en ese periodo las larvas de los diferentes lepidópteros se encontraban en pupas como lo mencionan Villamizar *et al* (2009), quienes afirman que las larvas de *Copitarsia* spp. Entre los meses de abril y agosto se encuentran en estado de pupas,



eclosionando en el mes de setiembre, sincronizándose con la siembra de la quinua en la región andina del Perú.

Así mismo nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Campos *et al.* (2012) quienes mencionan, que las localidades de Cabana, Cabanillas y Vilque-Mañazo ubicadas en las provincias de San Roman, Puno y Lampa, durante la campaña agrícola 2010 evaluaron 27 parcelas nueve en cada zona, encontrándose una alta incidencia de larvas de Lepidópteros principalmente *Eurysacca quinoae* y Noctuidos como: *Copitarsia turbata* encontrándose un máximos de 23 larvas por planta lo cual supera el umbral de daño económico, el mayor número de larvas fueron encontradas en aquellas parcelas sin un sistema de rotación o donde se practica el monocultivo.

En la Figura 5, se puede observar la densidad de incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *E. quinoae* en diversas localidades de la región de Puno, muestras que fueron obtenidas de cultivos de quinua, las tres localidades pertenecientes a la región de Puno que obtuvieron la mayor porcentaje de densidad de incidencia del virus de la poliedrosis nuclear fueron: Cotos, Azángaro y Mañazo con resultados de; 58%, 58% y 45%, respectivamente.

Las localidades de Chuacasuyo, Llunguta, Atuncolla, Llapuscachi, Collana, Lampa, Putina y Yanahocco, no mostraron incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Eurysacca quinoae*, probablemente por no existir una cepa o simplemente porque su presencia sea nula en las localidades antes mencionadas, siendo estas zonas ideales para la inserción del virus en el manejo y control de plagas insectiles y poder evaluar así su efectividad como biocontrolador (Figura 5).

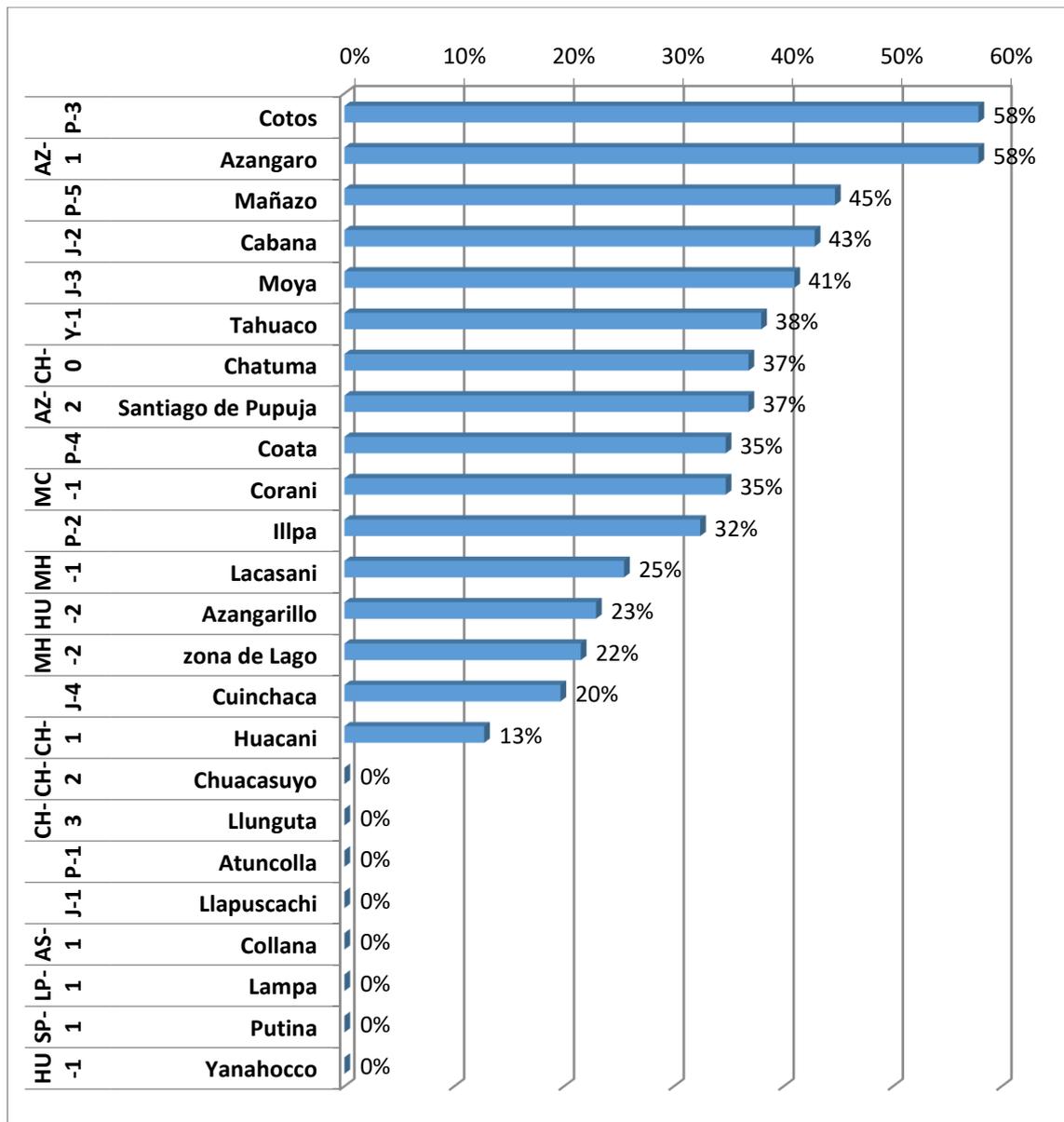


Figura 5. Densidad de incidencia del VPN en larvas de *Eurysacca quinoae* en diferentes localidades de la región de Puno

Los resultados obtenidos nos muestran que existió una tasa del 58% por semana, para el caso del distrito de Cotos, de que una larva sana de *E. quinoae*, haya podido contraer el virus de la poliedrosis nuclear, de la misma manera para el distrito de Azángaro el cual muestra una tasa similar (58%) y para el caso de Mañazo se reporta una tasa del 45% por semana, de que las larvas sanas de esa localidad hayan podido adquirir el virus de la poliedrosis nuclear.

En la Figura 6, se puede observar la densidad de incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Copitarsia turbata* en diversas localidades de la región de Puno,

muestras que fueron obtenidas de cultivos de quinua, las tres localidades pertenecientes a la región de Puno que obtuvieron la mayor porcentaje de densidad de incidencia del virus de la poliedrosis nuclear fueron: Chatuma, Coata y Azangaro, reportándose densidades de 1.6%, 1.4% y 1.4% respectivamente.

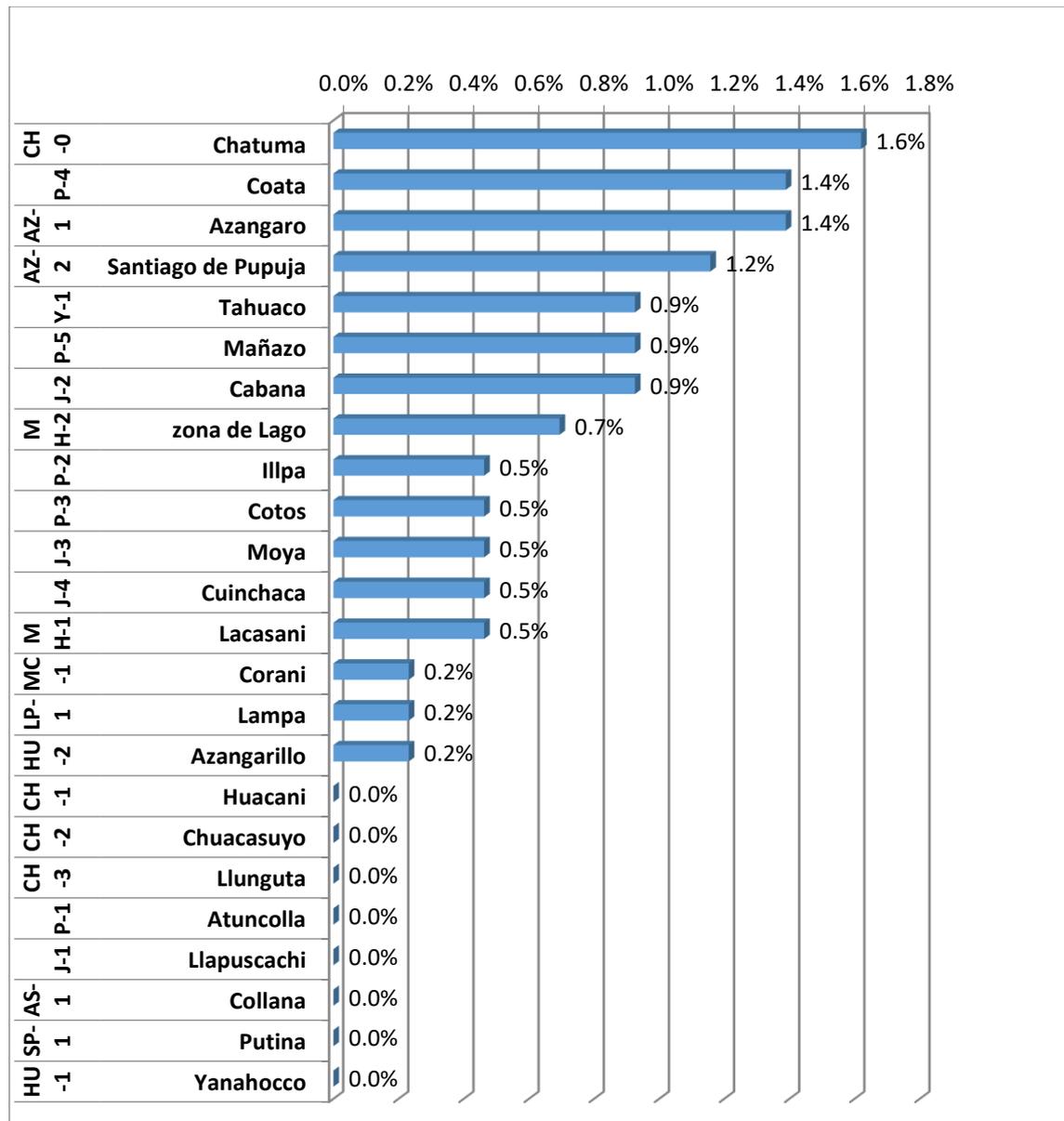


Figura 6. Densidad de Incidencia del VPN en larvas de *Copitarsia turbata* en diferentes localidades de la región de Puno.

Los resultados obtenidos nos muestran que existió una tasa del 1.6% por semana, para el caso de Chatuma de que una larva sana de *Copitarsia turbata* haya podido contraer el virus de la poliedrosis nuclear, de la misma manera para Coata y Azángaro se muestra

una tasa del 1.4% por semana de que las larvas sanas de esa localidad hayan podido adquirir el virus de la poliedrosis nuclear.

4.2. Determinación de la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en condiciones de laboratorio en larvas de *Eurysacca quinoae*.

4.2.1. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 4to día de evaluación.

Se observa que el tratamiento de 4mg/100ml ha logrado causar la mayor mortalidad alcanzando el 12.3% de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* siendo el tratamiento con mayor mortalidad frente a los demás tratamientos, seguido del tratamiento 3mg/100ml el cual alcanzó una mortalidad de 9.3%.y por último el tratamiento 2mg/100ml alcanzo una mortalidad de 7.3% (Tabla 3)

Tabla 3. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 4to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Promedio de Mortalidad (%)	Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$)
4mg/100ml	12.3%	A
3mg/100ml	9.3%	B
2mg/100ml	7.3%	C
Testigo	0%	D

De acuerdo con el análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre tratamientos, además de un coeficiente de variabilidad de 4.19% y un p valor de ($p < 0.001$). Al realizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que los tratamientos 4mg/100ml, 2mg/100ml y la de 3mg/100ml han resultado altamente significativos entre sí. El tratamiento testigo mostro un 0% de mortalidad al cuarto día de evaluación resultando significativamente diferente de los demás tratamientos.



El mayor porcentaje de mortalidad producido por el virus de la poliedrosis nuclear fue con el tratamiento de 4mg/100ml el cual alcanzo el 12.3% de mortalidad en larvas de *E. quinoae* del instar tres, frente a los demás tratamientos observándose que a medida que las concentraciones disminuyen también disminuye el porcentaje de mortalidad en las larvas de *E. quinoae*.

Los resultados obtenidos son similares a lo reportado por Lopez (2012), quien reporto que a las 84 horas las larvas infectadas presentaban los primeros síntomas de la infección viral, principalmente letargia y algunos cesaron de alimentarse. A las 96 horas el investigador reporta mortalidades de 20 a 30 larvas de *Spodoptera frugiperda*. Así mismo Troya (2011), registro un mortalidades de 3.75%, 47.3% y 100% las dosis aplicados fueron: 1mg/100ml, 1.75mg/100ml y 2.5mg/100ml respectivamente para el cuarto día de evaluación en larvas de *Eurysacca quinoae*.

Contrario con lo referido a Alves (1989), quien menciona que para poder obtener porcentajes de mortalidad en las larvas a partir del cuarto día de inoculación del VPN se debe de superar las dosis de 10^4 poliedros por larva, o su equivalente larval mayor a cuatro larvas, nuestra investigación genero mortalidades a partir de 2 larvas en el cuarto día de evaluación.

4.2.2. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 5to día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 4mg/100 ha logrado causar una alta mortalidad, obteniendo un 29.7% de larvas muertas de *Eurysacca quinoae* del instar III, seguida de la concentración de 3mg/100ml que obtuvo 26.7% de larvas muertas y por último el tratamiento de 2mg/100ml logro una mortalidad de 20.3%. El testigo al quinto día de evaluación no registra mortalidad (Tabla 4).

Tabla 4. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 5to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.



tratamientos	Porcentaje de Mortalidad%	Prueba de Tukey
4mg/100ml	29.7%	A
3mg/100ml	26.0%	A B
2mg/100ml	20.3%	B
Testigo	0%	C

De acuerdo con el análisis de varianza, se ha logrado detectar diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, además de un coeficiente de variabilidad de 5.58% y un p-valor de ($p < 0.001$). Al analizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 4mg/100ml y el tratamiento de 3mg/100ml poseen similares mortalidades siendo ambos estadísticamente similares, así mismo la dosis de 2mg/100ml muestra similar mortalidad que el tratamiento de 3mg/100ml, por lo tanto se concluye que ambos tratamientos son similares significativamente, el testigo sin embargo mostro diferencia significativa frente a los tratamientos aplicados.

El tratamiento de 4mg/100ml continuó presentando la mayor mortalidad en relación a los otros tratamientos (3mg/100ml 2mg/100ml), la mayoría de los tratamientos al quinto día sobrepasan el 20% de mortalidad. Estos resultados mantienen relación con lo afirmado con Vasquez *et al.*,(2002), quien menciona, que las larvas expuestas al virus de la poliedrosis nuclear tardan en morir después de ingerir el virus y se puede apreciar indicios de mortalidad a partir del cuarto y quinto día de la infección.

Asi mismo Moscardi, (1997), menciona que a partir del 4to y 5to día la mayoría de las larvas infectadas cesan su alimentación y presentan poca movilidad, dirigiéndose generalmente a las partes altas de las plantas para morir, lo que es contrastado por nuestro estudio y similar a lo manifestado por Carballo & Guhatay (2004) quien menciona, que las larvas infestadas por el virus de la poliedrosis nuclear suben a las partes superiores de las hojas y se cuelgan de las propatas permaneciendo con la cabeza hacia abajo.

4.2.3. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoa* del instar tres al 6to día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 4mg/100ml continua siendo el tratamiento con un alto porcentaje de mortalidad obteniendo un 50.7%, seguida de la concentración de 3mg/ml que alcanzo un 44.3% de mortalidad y la dosis menor de 2mg/100ml alcanzo 38% de mortalidad el larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, así mismo observamos que el tratamientos testigo continúa mostrando una mortalidad del 0% (Tabla 5).

Tabla 5. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 6to día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

Tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	50.7%	A
3mg/100ml	44.3%	B
2mg/100ml	38%	B
Testigo	0%	C

De acuerdo al análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre los tratamientos con un coeficiente de variabilidad del 1.42% y un p-valor de $p < 0.001$, al realizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 4mg/100ml resulta más significativa que la dosis de 2mg/100ml y la de 3mg/100ml de la misma manera con el testigo. Sin embargo la dosis de 2mg/100ml y la de 3mg/100ml muestran similar mortalidad considerándose a ambos similares estadísticamente. El testigo mostro un resultado significativamente diferente frente a los tratamientos. Al sexto día de evaluación el tratamiento con mayor concentración (4mg/100ml) alcanzo el 50.7% de mortalidad, resultado muy similar con lo reportado por Escribano *et al.*, (2000) quienes mencionan que al sexto de evaluación a nivel de invernadero obtuvieron un mortalidad de 58.4% en larvas de *Spodoptera exigua* del instar tres. Muy por el contrario Mamani (2018) reporta mortalidades de 96.75% (8mg/100) y 66.25% (4mg/100) al sexto día de evaluación en larvas de *E. quinoae*.

Al respecto podemos citar a Alves, (1989), quien menciona, que el porcentaje de mortalidad puede ser influenciado por la edad y tamaño de la larva, especie momento de aplicación, lugar de aplicación y evaluación. Por lo antes mencionado podemos concluir

que las mortalidades producidas por el virus de la poliedrosis nuclear están fuertemente influenciadas por los factores medioambientales, valores extremos de Ph, las altas temperaturas, el tipo de suelo y la humedad.

4.2.4. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 7mo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 4mg/100ml ha logrado un alto porcentaje de mortalidad obteniendo un 74.3%, seguida de la concentración de 3mg/ml que alcanzo un 65.3% de mortalidad y la dosis menor de 2mg/100ml alcanzo 57.7% de mortalidad al séptimo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio, así mismo podemos observamos que el testigo aun no registra mortalidad 0% (Tabla 6).

Tabla 6. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 7mo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	74.3%	A
3mg/100ml	65.3%	B
2mg/100ml	57.7%	B
Testigo	0%	C

De acuerdo al análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre los tratamientos y un coeficiente de variabilidad del 1.94% y un p-valor de $p < 0.001$. Al realizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 4mg/100ml resulto más significativa que el tratamiento de 3mg/100ml y la de 2mg/100ml de la misma manera con el testigo. Sin embargo, la dosis de 3mg/100ml y la de 2mg/100ml muestran similar mortalidad considerándose a ambos similares estadísticamente, el testigo resulto significativo frente a los tres tratamientos.

El tratamiento con el más alto grado de mortalidad producido por el virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *E. quinoae* continua siendo el tratamiento de 4mg/100ml hasta el

séptimo día de evaluación, se puede observar que los tratamientos (4mg/100ml, 3mg/100ml y 2mg/100ml) sobrepasan el 50% de mortalidad. De acuerdo con Vasquez *et al.*, (2002) quienes mencionan que en los días 6 y 7 se registró la mayor mortalidad en larvas expuestas a el virus de la poliedrosis nuclear. Así mismo podemos afirmar que al séptimo día de evaluación ocurrido la más alta mortalidad de larvas de *E. quinoae* entre el 19.7% y 23.7%.

Respecto a los resultados obtenidos podemos contrastarlo con lo mencionado por (Del Rincon *et al.*, (1997) quienes mencionan: Los cadáveres de la larvas muertas representan una fuente de inóculo para otras larvas susceptibles presentes. Cuando las membranas corporales de las larvas se rompen liberan una gran cantidad de poliedros (cuerpos de inclusión) al ambiente, por ello podemos concluir que a mayor mortalidad de larvas en un mismo lugar, mayor es el riesgo de contagio o transmisión horizontal de la enfermedad entre los especímenes presentes.

4.2.5. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 8vo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 4mg/100 ha continua logrando una alta mortalidad al octavo día de evaluación, obteniendo un 90.7% de larvas muertas de *E. quinoae* del instar III en laboratorio, seguida de la concentración de 3mg/100ml que obtuvo 80.3% de larvas muertas y un 71.3% de larvas muertas de parte del tratamiento con la concentración de 2mg/100ml. El testigo continúa mostrando una mortalidad del 0% (Tabla 7).

Tabla 7. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 8vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	90.7%	A
3mg/100ml	80.3%	A B
2mg/100ml	71.3%	B
Testigo	0%	C



De acuerdo con el análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre tratamientos además de un coeficiente de variabilidad de 3.18% y un p-valor de $p < 0.001$. Al analizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 4mg/100ml y el tratamiento de 3mg/100ml muestran similar mortalidad, considerándose ambos similares estadísticamente. Así mismo el tratamiento de 2mg/100ml muestra similar mortalidad mostrado por el tratamiento de 3mg/100ml considerándose también similares estadísticamente. El testigo mostro diferencia significativa frente a los tres tratamientos.

Para el octavo día de evaluación de mortalidad producida por el virus de la poliedrosis nuclear podemos observar (tabla 06) que el tratamiento de 4mg/100ml continúa siendo la más efectiva en el menor tiempo, consiguiendo una mortalidad total de 90.7% frente al tratamiento de 3mg/100ml el cual consiguió un 80.3% de mortalidad y el tratamiento de 2mg/100ml el cual reporta el menor porcentaje de mortalidad 71.3%

Cory (2010) menciona que para poder alcanzar un 90% de mortalidad para el mismo periodo de tiempo sería necesario incrementar la dosis hasta 7.33×10^{14} o su equivalente larval de 10 larvas de *Spodoptera spp.* Contrario a lo mencionado la presente investigación logro llegar al 90.7% de mortalidad con menos de la mitad de la dosis recomendada, por ello mismo podemos afirmar la alta eficacia para controlar mayor número de larvas en una menor dosis.

4.2.6. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 9no día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 4mg/100ml ha logrado un 100% de mortalidad en larvas de *E. quinoae* del tercer instar a nivel de laboratorio al noveno día de evaluación, seguida de la concentración de 3mg/100ml que logro una mortalidad de 88%, así mismo la concentración de 2mg/100ml manifestó una mortalidad del 78.3%, el testigo continuo manifestando el 0% de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del tercer instar (Tabla 8).

Al noveno día de evaluación después de la aplicación de virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio, el tratamiento de 4mg/100ml alcanzó el 100% de mortalidad, superando a los demás tratamientos aplicados, esta diferencia de mortalidad probablemente de deba a que la mayor concentración (4mg/100ml) posea mayor material

vírico o cuerpos de inclusión desencadenando de manera más rápida la aparición de sintomatología propia del virus en las larvas de *E. quinoae* del tercer estadio, reduciendo así el tiempo de muerte en estas larvas.

Tabla 8. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, después del 9no día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	100%	A
3mg/100ml	88.0%	A
2mg/100ml	78.3%	A
Testigo	0%	B

De acuerdo con el análisis de varianza se ha logrado detectar diferencias significativas entre tratamientos además de un coeficiente de variabilidad de 8.46% y un p-valor de p 0.001. Al realizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que los tratamientos de, 3mg/100l, 2mg/100ml muestran similar mortalidad considerándose a los tres tratamientos similares estadísticamente, el testigo manifestó diferencia significativa con los tratamientos aplicados en las larvas de *E. quinoae*.

Coincidiendo con lo que manifiesta Mamani (2018) quien reporta un 100% de mortalidad al 9no día, en larvas de *E. quinoae*, podemos afirmar que el tratamiento empleado (4mg/100ml) se encuentra en un rango de tiempo de mortalidad más que aceptable, así mismo Alvez (1986) menciona, el tiempo para poder eliminar larvas de lepidópteros del Instar tres varía desde cuatro a veinte días dependiendo de las condiciones ambientales y la concentración viral. Por lo mencionado las condiciones del laboratorio, así como la concentración viral fueron óptimas, producto de ello es el reporte del 100% de mortalidad a nueve días de evaluación siendo un tiempo mucho menor a lo expresado anteriormente.

4.2.7. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 10mo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La mortalidad producida por los tratamientos de 3mg/100ml fue de 95.7%, así mismo la concentración de 2mg/100ml manifestó una mortalidad del 86.3%. ya no se tomó en cuenta la mortalidad del tratamiento 4mg/100ml ya que alcanzo el 100% de mortalidad al noveno día, el testigo hasta la mencionada fecha de evaluación continuó manifestando el 0% de mortalidad en larvas de *E. quinoa* (Tabla 9).

Tabla 9. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoa* del instar tres después del 10mo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	100%	A
3mg/100ml	95.7%	B
2mg/100ml	86.3%	B
Testigo	0%	A

De acuerdo con el análisis de varianza, se ha logrado detectar diferencias significativas entre tratamientos además de un coeficiente de variabilidad de 7.19% y un p-valor de $p < 0.001$.

Al realizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que los tratamiento de 3mg/100ml y 2mg/100ml muestran similar mortalidad considerándose a los dos tratamientos similares estadísticamente, el testigo resulta estadísticamente significativo frente a los tratamientos de 3mg/100ml y 2mg/100ml.

Al décimo día de evaluación después de aplicarse el VPN, se puede observar que cuanto mayor sea la concentración del virus el porcentaje de mortalidad es mayor. Considerando nuestro resultado con lo mencionado por Jacas *et al.*, (2005) quienes manifiestan que la muerte de las larvas varia con diferentes hospederos, el número de poliedros ingeridos, el estadio larval (instar) y la temperatura ambiental. Así mismo Alcazar *et al.*, (1993) menciona, para poder alcanzar un 100% de mortalidad en un rango de 12 a 21 días, la dosis mínima empleada es de 20mg/L o su equivalente larval de 20Larvas/L.



Con lo antes mencionado podemos afirmar que el tratamiento 4mg/100ml en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres posee una mortalidad alta en un tiempo corto, específicamente 9 días para un resultados del 100% de mortalidad a nivel de laboratorio siendo un resultados favorable.

4.2.8. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 11vo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 3mg/100ml ha alcanzado un 100% de mortalidad al onceavo día de evaluación después de la aplicación del VPN en larvas de *E. quinoae* del instar III a nivel de laboratorio, seguida de la concentración de 2mg/100ml que logro una mortalidad de 93.7% y el testigo el cual manifestó el 1.7% de mortalidad (Tabla 10).

Tabla 10. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 11vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	100%	A
3mg/100ml	100%	B C
2mg/100ml	93.7%	C
Testigo	1.7%	A B

De acuerdo con el análisis de varianza, se ha logrado detectar diferencias significativas entre los tratamientos 2mg/100ml y el testigo además de un coeficiente de variabilidad de 21.14% y un p-valor de $p < 0.0048$.

Al analizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 2mg/100ml, 3mg/100ml muestran similar mortalidad por ende se puede decir que ambos tratamientos similares estadísticamente, así mismo el tratamiento de 3mg/100ml muestra también similar mortalidad que el tratamiento testigo por ello ambos también los clasificamos como similares estadísticamente.



Según la tabla 10 podemos observar que el tratamiento 3mg/100ml ha alcanzado el 100% de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, siendo el segundo tratamiento más efectivo en cuanto a mortalidad y tiempo. Estos resultados son similares a los reportado por Mamani (2018), quien señala que al onceavo día de evaluación obtuvo una mortalidad de 88.75% con una dosis de 5.2×10^9 del virus de la granulosis nuclear, en una población de 100 larvas del instar tres de la especie *Phthorimaea operculella*,

Con los resultados obtenidos se afirmar que el tratamiento propuesto de 3mg/100ml, para el desarrollo de la investigación presentan una mortalidad del 100% al onceavo día de evaluación

4.2.9. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres al 12vo día de evaluación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

La concentración de 2mg/100ml ha alcanzado un 100% de mortalidad al doceavo día de evaluación después de la aplicación del VPN, en larvas de *E. quinoae* del instar III a nivel de laboratorio, el testigo reporto 3.3% de mortalidad (Tabla 11).

Tabla 11. Mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres después del 12vo día de aplicación del virus de la poliedrosis nuclear a nivel de laboratorio.

tratamientos	Porcentaje de Mortalidad	Prueba de Tukey
4mg/100ml	100%	A
3mg/100ml	100%	A
2mg/100ml	100%	B
Testigo	3.3%	A

De acuerdo con el análisis de varianza, se ha logrados detectar diferencias significativas entre los tratamientos 2mg/100ml y el testigo además de un coeficiente de variabilidad de 18.99% y un p-valor de p 0.0013.



Al analizar la prueba de significancia de tukey ($\alpha=0.05$) se ha observado que el tratamiento de 2mg/100ml, resulta ser significativamente diferente, al tratamiento testigo el cual reporto 3.3% de mortalidad al 12vo día de evaluación

Nuestro resultado es similar a los reportado por lopez (2012), quien menciona que la 12avo día de evaluación después de haber infectados larvas de *Diones juno miraculosa* del instar tres, en maracuyá se obtuvo el 100% de mortalidad en todos sus tratamientos, a nivel de laboratorio.

Considerando nuestra investigación con lo manifestado por Troya (2009), quien menciona que al doceavo día de evaluación solo obtuvo un mortalidad de 5% , 3.75% y 8.75% de un total de 80 larvas de *E. quinoae* del instar tres, sin embargo, nuestra investigación alcanzó niveles de mortalidad del 100% a los mismos días de evaluación, no obstante podemos recalcar que puede existir diferencia genotípica entre Baculovirus silvestres procedentes de diferentes lugares variando su patogenicidad, virulencia así como su tiempo de mortalidad (Murillo *et al.*, 2006)

4.2.10. Evaluación del porcentaje de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres del 4to, 6to y 9no día de evaluación a nivel de laboratorio

La evolución del porcentaje de mortalidad al cuarto, sexto y noveno día de evaluación en el laboratorio después de la aplicación de VPN (virus de la poliedrosis nuclear). Al cuarto día de evaluación el mayor porcentaje de mortalidad corresponde al tratamiento de 4mg/100ml con 12.3% y la menor concentración manifestó una mortalidad de 7.3%. al sexto día de evaluación la más alta mortalidad continúa siendo por parte de la concentración de 4mg/100ml con un 50.7% de mortalidad de larvas y la menos a la concentración de 2mg/100ml manifestando una mortalidad de 38.0%. En el noveno día de evaluación en el laboratorio la concentración de 4mg/100ml alcanzo el 100% de mortalidad en larvas de *E. quinoae* del instar III, a diferencia de la concentración de 3mg/100ml y 2mg/100ml que alcanzaron hasta el noveno día mortalidades de 88.7% y 78.3% respectivamente. El testigo no manifestó muertes hasta el noveno día de evaluación (Tabla 12)

Tabla 12. Evaluación del porcentaje de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoa* del instar tres del 4to, 6to y 9no día de evaluación a nivel de laboratorio.

Días	4to día		6to día		9no día	
	Mortalidad	Significancia	Mortalidad	Significancia	Mortalidad	Significancia
4mg/100ml	12.3%	A	50.7%	A	100%	A
3mg/100ml	10%	B	45%	B	88.7%	A
2mg/100ml	7.3%	C	38%	B	78.3%	A
Testigo	0%	D	0%	C	0%	B

La concentración de 4mg/100ml presenta en todas la evaluaciones el mayor porcentaje de mortalidad, probablemente porque tuvo mayor material vírico o cuerpos de inclusión, acelerando de esta manera la aparición de síntomas en las larvas de *E. quinoa* del instar III y por consiguiente la muerte de las mismas, como lo demuestra un trabajo realizado por Martinez & Gomez (2007) que probaron concentraciones de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , y 1×10^7 obtuvieron el 56.2% de mortalidad de larvas de *Anticarsia gemmatalis* a mayor concentración del virus. si bien los tratamiento de 3mg/100ml y 2mg/100ml no igualaron el porcentaje de mortalidad provocada por el tratamiento de 4mg/100ml lograron un resultado progresivo, el porcentaje de mortalidad demostrando que el VPN(virus de la poliedrosis nuclear) resulta efectivo para el control de *E. quinoa* en cultivos de quinua.

En contraste con los resultados obtenidos con la investigación de Lopez (2012) quien reporta una alta efectividad y mortalidad del virus de la poliedrosis nuclear sobre larvas de *Dione juno miraculosa* menciona que el tiempo letal medio oscila entre los 5.0 días con la concentración más alta hasta los 7.16 con la concentración más baja en donde se reportaron mortalidades de hasta un 50%, resultados que contrastan con los obtenidos por



la presente investigación obteniendo un 50% de mortalidad a partir del 6to día de evaluación en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres a nivel de laboratorio.

4.2.11. Mortalidad de larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres con relación a los días evaluados.

La concentración 4mg/100ml alcanzo al cuarto día de evaluación un 12.3% de mortalidad y obtiene el 100% de larvas muertas al noveno día de evaluación, seguido de la concentración de 3mg/100ml el cual obtuvo al cuarto día de evaluación un tasa del 10% de mortalidad y obtuvo un 100% de eficacia al décimo día de evaluación, por otro lado la concentración de 2mg/100ml al cuarto de evaluación obtuvo una tasa de mortandad del 7.3% y alcanzó el 100% de mortalidad en larva al doceavo día (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentaje de mortalidad de larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres con relación a los días evaluados.

Tratamientos	4to	5to	6to	7mo	8vo	9no	10mo	11vo	12vo
4mg/100ml	12.3%	29.7%	50.7%	74.3%	90.7%	100%	-	-	-
3mg/100ml	10%	26.7%	45%	66%	81%	88.7%	95.7%	100%	-
2mg/100ml	7.3%	20.3%	38%	57.7%	71.3%	78.3%	86.3%	96.7%	100%
Testigo	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	1.7%	3.3%

Considerando nuestro resultados por lo manifestado por Alves (1989), quien menciona que, desde la infección hasta la muerte de la larva, dura un promedio de seis a siete días, que alrededor del tercer y cuarto día el virus se propaga por todo el cuerpo y a partir del cuarto día la larva infectada presenta poca movilidad y prácticamente cesa de alimentarse, sintomatología que fue corroborada a partir del cuarto día de mortalidad con todos los tratamientos, exceptuando el tratamiento testigo.

Como podemos observar (Tabla 13) al sexto día de evaluación el tratamiento con mayor concentración alcanzo el 50% de mortalidad y a partir del cuarto día de evaluación ya se podía observar la sintomatología típica del virus y tal como lo describe, Alves (1989) presentan poca movilidad, decoloración y falta de apetito, la mayoría de las larvas se

dirigieron a las partes superiores de las panojas y del recipiente para morir, a causa de la infección generalizada del virus de la poliedrosis nuclear.

Se puede observar que el tratamiento 4mg/100ml obtuvo el 100% de mortalidad al noveno día, siendo el tratamiento con el tiempo de mortalidad más corto, seguido por los tratamientos 3mg/100ml y 2mg/100ml que obtuvieron este resultado al onceavo día y al doceavo respectivamente., comprobando de esta manera la alta patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear ya que en todos los tratamientos se alcanzó el 100% de mortalidad en las larvas de *Eurysacca quinoae* del tercer instar (Figura 7)

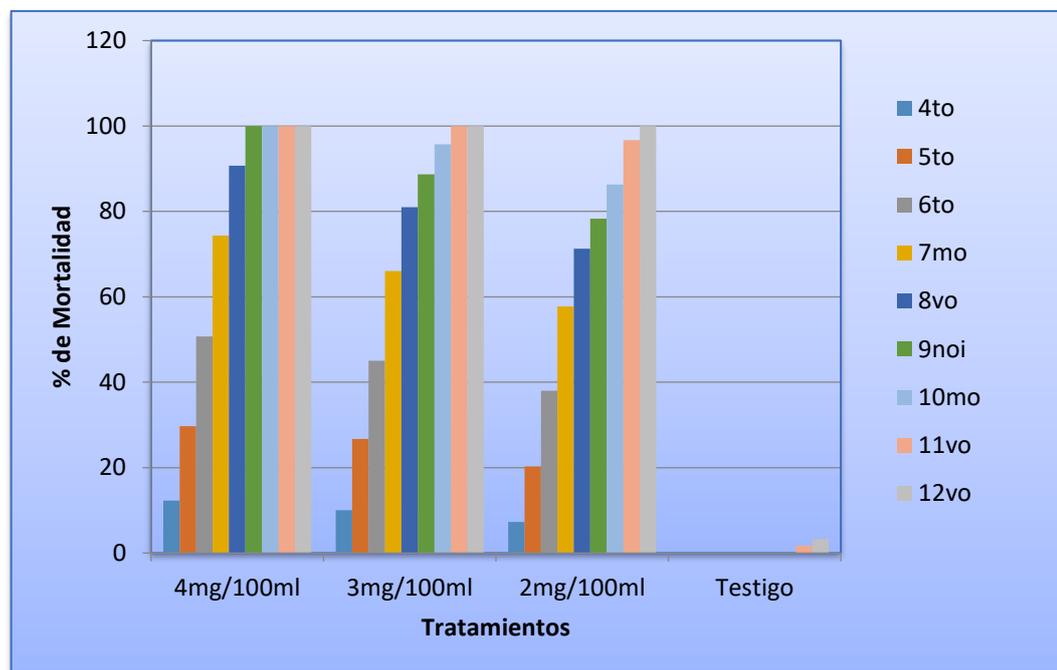


Figura 7. Porcentaje general de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae*.

La concentración 4mg/100ml obtuvo el menor tiempo para causar el 100% de muerte en todas las larvas, posiblemente se deba a que la cantidad de cuerpos de inclusión ingeridos por larvas del tratamiento 4mg/100ml fueron superiores a los otros tratamientos como lo menciona Jacas *et al* (2005), quienes sostienen que la muerte de las larvas varía con diferentes hospederos, el número de poliedros y/o cuerpos de inclusión ingeridos, el estadio y la temperatura del medio ambiente.

De la misma manera Alves (1989) manifiesta que existen muchos factores que pueden influenciar la eficiencia de un virus entomopatógeno dentro de los cuales destaca la edad o el tamaño de la larva el momento de la aplicación, la dosis utilizada y la persistencia



después de la aplicación. Así mismo Leandro (2011) indica que en la fase larval en los insectos son más susceptibles al ataque por virus y tienden a ser más resistentes a la infección a medida que avanza su desarrollo.

La infección viral provocó alteraciones metabólicas y físicas en las larvas debilitándolo progresivamente. Los primeros síntomas presentados por las larvas fueron la pérdida de apetito y reducción de movilidad, acompañados de una gradual decoloración del cuerpo, como menciona Alves (1998), estos síntomas son ocasionados por la rápida multiplicación del virus en la hemolinfa y en el tejido adiposo. Próximas a su muerte, las larvas infectadas generalmente presentaron un cuerpo flácido y decolorado en comparación de las larvas sanas. Las larvas de *E. quinoae*, murieron sobre la arena del recipiente y solo algunas en las partes altas del recipiente. Los resultados obtenidos muestran el potencial del virus de la poliedrosis nuclear para el control de *E. quinoae*, debe de destacarse las técnicas desarrolladas y su formulación para su producción masiva.

V. CONCLUSIONES

- Del total de localidades muestreadas 16 de ellas mostraron incidencia del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de *Eurysacca quinoae* en las 18 semanas de evaluación, muy por el contrario para el caso de las larvas de *Copitarsia turbata* solo se evidenció su incidencia en 10 localidades de la región de Puno, pudiéndose concluir que la incidencia del virus de la poliedrosis nuclear se encuentra en más de la mitad de las localidades muestreadas, siendo estos resultados reveladores para poder determinar en qué localidades de la región Puno existe su interacción con las larvas de lepidópteros.



- Se pudo comprobar la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear sobre 100 larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, donde las concentraciones de 2mg/100ml, 3mg/100ml y 4mg/100ml alcanzaron el 100% de mortalidad desde el noveno día de evaluación hasta el doceavo día. Así mismo la concentración de 4mg/100ml fue la que obtuvo el menor tiempo de mortalidad (nueve días) pudiéndose concluir con la efectividad que posee en el manejo y control de larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres a nivel de laboratorio, siendo los resultados alentadores para poder ser considerado como un método de control de plagas insectiles en larvas de lepidópteros.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en invernaderos y en campo del cultivo de quinua.
- Investigar la patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de diferentes instar y en diferentes especies de lepidópteros.
- Estimar dosis letal media y dosis total del virus de la poliedrosis en larvas de lepidópteros.



VII. REFERENCIAS.

- Alcazar, J., Cervantes, M., y Raman, K. (1992). Caracterización y patogenicidad de un virus granulosis de la polilla *Phthorimaea operculella*. Lima, Perú: CIP
- Alcazar, J., y Raman, K. (1991). Baculovirus *phthorimaea*, para el control biológico de las polilla de la papa, *Phthorimaea operculella*. Lima, Perú. CIP
- Alves, S. (1986). Control Microbiano De Insectos. Sao Paulo, Brazil. Manole.
- Apaza, V., Caceres, G., Estrada, R., Pinedo, R. (2013). Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Peru. Lima, Perú. INIA



- Badii, M. H., y Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). *International Journal of Good Conscience*, 82-89.
- Barrionuevo, M., Chalup, A., Zamar, M. (2019). Lepidópteros asociados al cultivo de quinoa en zonas de altura de Jujuy, Argentina. *Agriscientia* 36, 55-62.
- Belda, J., Mirasol, E., Escribano, A., Rapallo, S., Caballero, P. (2000). Eficacia de nucleopoliedrovirus (VPNSe) en el control de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) en pimiento de invernadero. *Boletín sanidad vegetal y plagas*, 26 619-628.
- Bravo, R. Y. (2010). *Manejo Agroecológico de Plagas Andinas*. Puno, Perú. Altiplano.
- Caballero, P., Murillo, R., Muñoz, D., Williams, T., (2009). El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: análisis de avances recientes en España. *Revista colombiana de entomología*, 35(2) 105-115.
- Campos, E., Bravo, R., Valdivia, R., Soto, J. (2012). Plagas Insectiles en áreas de intensificación de quinua en Puno. *Ciencia Agro*, 2(3) 379-390.
- Carballo, M., Guhatay, F. (2004) *Control microbiológico de plagas agrícolas*. Managua, Nicaragua: CATIE.
- Castro, M., Souza, M., Sihler, W., Rodrigues, J., & Ribeiro, B. (1999). *Biología Molecular de Baculovirus e seu uso no controle biológico de plagas no Brasil*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1733-1761.
- Chacon, C. (1962). *Gnorimoschema* sp. (Gelechiidae - Lepidoptera) en Quinoa. *Entomologia*.1-6.
- Cory, J., Myers, J. (2003), *The ecology and evolution of insect baculoviruses*. *Reviews in advance*, 34 239-284
- Del Rincon, C., Bravo, A., Ibarra, J. (1997). *Baculovirus entomopatógenos: una alternativa para el control de plagas*. *Folia Etomol*, 100 45-62



- Escribano, A., Belda, J., Caballero, P., Rapallo, S., y Carmona, E. (2000). Eficacia de nucleopoliedrovirus (VPNSe) en el control de "spodoptera exigua"(Hübner, 1808)(Lepidoptera: Noctuidae) en pimiento de invernadero. *Sanidad vegetal y Plagas*, 26(4), 619-629
- Estrada, R. (2013). Cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en la región Cusco. Cusco, Peru. PNIA
- Fuxa, J. R. (2004). Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture, ecosystems & environment*, 103(1), 27-43.
- Garcia, W. (2003). Efecto de baculovirus en los diferentes estadios larvales del cogollero de (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivos de maíz amarillo duro (*Zea mays*) en juan guerra. Tesis de pregrado, UNSM, Tarapoto, Peru.
- Gonzales, M., Gurrucola, N., Chaires, I. (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista colombiana de entomología*, 41(2) 200-2004.
- Gómez, J., Guevara, E., Barrera, G., Cotes, A., y Villaizar, L. (2010). Aislamiento, identificación y caracterización de Nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda*. Medellín, Colombia. CORPOICA.
- Gomez.V. J, Villamizar. L. (2013). Baculovirus: Hospederos y especificidad. Medellín, Colombia. CORPOICA.
- Hernández. R., Fernández. C., y Baptista. P. (2010). Metodología de la Investigación. México, México: McGraw-Hill . Recuperado de www.decisionanalyst.com.
- Hoddle, M., Van Driesche, R. (1996). Evaluation of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) to control *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*). *Entomologist*, 79(1), 1-12.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2015). Directorio nacional de Municipalidades provinciales, distritales y de centros poblados 2015. Lima, Peru. INEI.



- Jacas, J., Primitivo, C., Avilla, J. (2005). El control microbiológico de plagas y enfermedades. Madrid, España:Universitat Jaume
- Lacey, L., Khoschel, J., Arthurs, S., De la Rosa, F. (2010). Control microbiano de la palomilla de la papa *Phthorimea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). Revista colombiana de Entomología, 36(2) 181-189.
- Larrea, O. (2001). Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sinteticos. Manejo integrado de plagas, 62 96-100.
- Lasa, R., Pagola, I., Ibanez, I., Belda, J., Williams, T., y Caballero, P. (2007). Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouses of southern Spain. *Biocontrol Science and Technology*. 17(3): 221-232.
- Leandro, J., Román, L., Rodríguez, V., Zamora, A., y Velásquez, V. (2011). Colecta, identificación y multiplicación de virus entomopatógenos en el género *Spodoptera* presente en el cultivo del maíz. *Tecnología en Marcha*, 17.
- Lopez, M. (2012). Patogenicidad y virulencia de los virus de la poliedrosis nuclear (SfMVPN Y HzSVPN) en el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* y gusano elotero del maíz *Helicoverpa zea* (Boddie) en Guasave Sinaloa. Tesis de Mestria. Instituto Politecnico Nacional. Sinaloa, Mexico
- Luna, J., Cabrera, J., Pinedo, E., Pinto, D., y Zeddám, L. (2002). Caracterización y utilización de un Nucleopoliedrovirus patógeno a *Spodoptera frugiperda* y *S. ochrea*. *Manejo integrado de plagas*. 63, 39-45.
- Luque, G. (30 de Agosto de 2015). Estados Unidos devuelve 200 toneladas de quinua peruana. Correo. Recuperado de: <https://diariocorreo.pe/>
- Mamani, F. (2018). Estudio de la fauna de entomopatógenos de lepidópteros en el cultivo de quinua, en la región de Puno. Tesis de pregrado. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú
- Maracajá, B., Álvarez, S., y Osuna, V. (1994). Actividad biológica de biopreparados del virus de la poliedrosis nuclear de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) obtenidos en el



- hospedador natural y en el alternativo *Spodoptera exigua* (Hübner). Boletín de sanidad vegetal. 74, 495-499.
- Martínez, A. M., Pineda, S., Figueroa, J. I., Chavarrieta, J. M., & Williams, T. (2012). Los baculovirus como bioinsecticidas: Evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras. *Ciencia Nicolaita*, 56, 35-47.
- Martínez, V. C., Y Gómez, A. S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23 (4), 185-200.
- Murillo, P., Elvira. S., Muñoz, D., Williams, T. & Caballero, P. (2006). Genetic and phenotypic variability in *Spodoptera exigua* nucleopoliedrovirus isolates from greenhouse soils in southspain, *control biologico*, 38, 157- 165.
- Nava, E., García, C., Camacho, R., y Vázquez, L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3),17-29
- Ochoa, R., Franco, J. (2013). Morfología y biología de la polilla de la quinua *Eurysacca melanocampta meyrick* 1917, (lepidoptera: gelechiidae), de cusco (perú). *Bioma*, 1 1-4.
- ODEC. (2002). Consensus document on information used in the assessment of environmental applications involving baculovirus. Paris, Francia: Head of Publications Service,
- Ortiz, O., Alcazar, J., Palacios, M. (1997). La Enseñanza del Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo de la Papa: La Experiencia del CIP en la Zona Andina del Perú. *Revista latinoamericana de papa*, 9(10) 1-22.
- Pelczar, T., Reid, R. D., y Chan, E. C. (1992). *Microbiología*. Mexico D.F,Mexico: McGrawHill.
- Quiroz, J., (2018). Dinámica poblacional de los insectos plagas del cultivo de quinua (*chenopodium quinoa willd*), en el centro productivo agrícola f.a unip - 2014 – valle medio piura distrito de castilla. Universidad Nacional de Piura. Piura, Perú.



- Rangel, C.J., Vasquez, F.M., Rincon, C.M. (2014). Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de Baculovirus SfNPV, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Interciencia*, 39, 320-327.
- Rasmussen, C., Jacobsen, S. E., Lagnaoui, A., y Esbjerg, P. (2001). Las polillas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el Perú: *Eurysacca* (Lepidoptera: Gelichidae). *ResearchGate*, 42, 57-59
- Rivera, W. (2015). Control microbiológico como experiencia de sostenibilidad local en la agricultura centroamericana. *Tecnología en marcha*, 31-40.
- Rodríguez, J. L., Cabrera-La Rosa, J. C., Pinedo, E., Pinto, D., & Zeddám, J. L. (2002). Caracterización y utilización de un Nucleopoliedrovirus patógeno a *Spodoptera eridania* y *S. ochrea*. *Manejo Integrado de Plagas*, 63, 39-45
- Saravia & Garcia (2009). Las plagas de la quinua: comportamiento de las plagas en el periodo invernal. *Proinpa*, 1, 1-8.
- Troya, R. D (2011). Evaluación de cepas de nucleopoliedrovirus (NPV) patógenos para el control del cogollero *Spodoptera frugiperda* en maíz en la zona de Babahoyo. Tesis de pregrado. Universidad Técnica de Babahoyo. Los Rios, Ecuador.
- Valicente F, H. Barreto M,R (1999). Levantamento dos Inimigos Naturais da Lagarta do Cartucho do Milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na Região de Cascavel. *Entomol. Brasil*, 28(2), 333-337.
- Vásquez, J., Zeddám, J. L., y Tresierra, A. A. (2002). Control biológico del “cogollero del maíz” *Spodoptera frugiperda*, (Lepidoptera; noctuidae) con el baculovirus sfvnp, en Iquitos-Perú. *Folia Amazónica*, 25, (1-2), 25-39.
- Vilca, J., Carrasco, G. (2013). Manejo integrado en el cultivo de quinua. Lima, Perú: Agrobanco
- Villamizar, L., Espinel, C., Cotes, A. (2009). Efecto de la radiación ultravioleta sobre la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista colombiana de entomología*, 35(2) 116-121.



- Villamizar, L., Espinel, C. G., Gómez, M., Cuartas, J., Barrera, P., Cruz, G., y Ferber, O. L. (2012). Desarrollo de un bioplaguicida a base de nucleopoliedrovirus para el control del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*. *ResearchGate*, 15(2), 219-228.
- Yasem de Romero, M. G., Romero, E. R., Sosa Gómez, D., & Willink, E. (2009). Evaluación de aislamientos de baculovirus para el control de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)(LEP.: NOCTUIDAE), plaga clave del maíz en el noroeste argentino. *Revista industrial y agrícola*, 86(2), 7-15.

ANEXOS

Tabla 14. Tabla 14. Evaluaciones diarias de mortalidad en larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres producida por efecto de cuatro dosis de (VPN) a nivel de laboratorio.

		Evaluaciones												
repeticiones	Tratamientos	1dia	2 dia	3dia	4dia	5dia	6dia	7dia	8dia	9dia	10dia	11dia	12dia	total
1	2mg/100ml	0	0	0	7	14	18	18	15	7	8	7	6	100
2	2mg/100ml	0	0	0	8	13	17	20	14	6	7	7	8	100
3	2mg/100ml	0	0	0	7	12	18	21	12	8	9	8	5	100
	PROMEDIO	0	0	0	7.3	13	17.7	19.7	13.7	7	8	7.3	6.3	100
1	3mg/100ml	0	0	0	10	15	18	20	16	8	7	6	0	100
2	3mg/100ml	0	0	0	9	17	18	21	15	8	8	4	0	100
3	3mg/100ml	0	0	0	9	18	19	22	14	7	6	5	0	100
	PROMEDIO	0	0	0	9.3	16.7	18.3	21	15	7.7	7	5	0	100
1	4mg/100ml	0	0	0	11	19	21	23	16	10	0	0	0	100
2	4mg/100ml	0	0	0	13	15	20	24	17	11	0	0	0	100
3	4mg/100ml	0	0	0	13	18	22	24	16	7	0	0	0	100
	PROMEDIO	0	0	0	12.3	17.3	21	23.7	16.3	9.3	0	0	0	100
1	testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	5
2	testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
3	testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
	PROMEDIO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.7	1.7	3.3

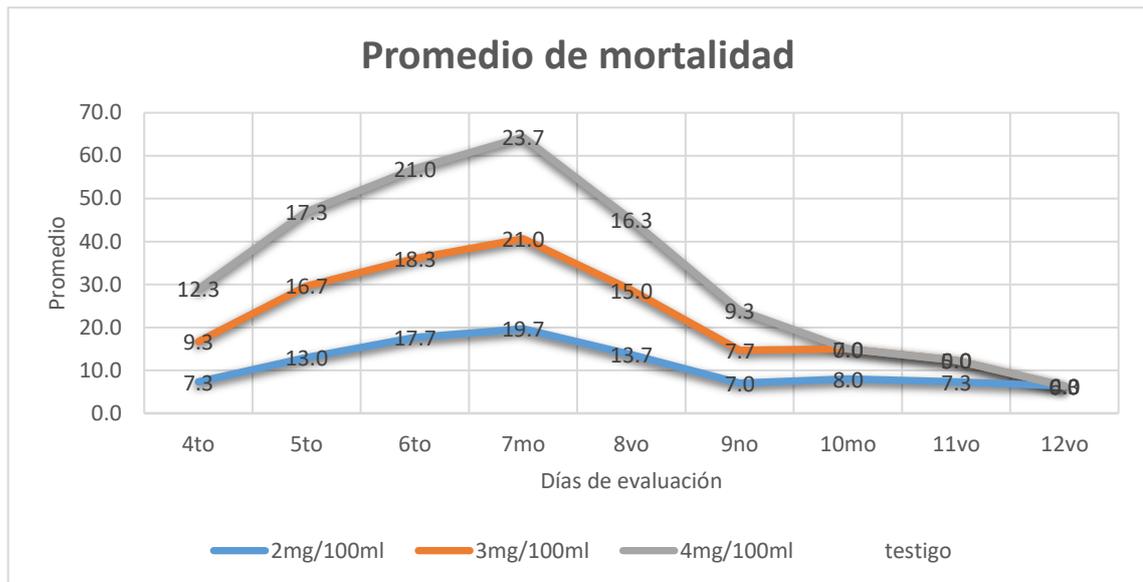


Figura 8. Promedio de mortalidad de larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres producida por efecto de cuatro dosis de VPN en los 12 días de evaluación a nivel de laboratorio.



Figura 9. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Moya, Distrito de Cabana, en el mes de enero 2019



Figura 10. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Mañazo, Distrito de Mañazo, en el mes de febrero 2019



Figura 11. Larva de Noctuido, con presencia del virus de la poliedrosis nuclear, colgadas de sus propatas posteriores en la panoja de quinua, en la localidad de Chatuma, Dsitrito de Pomata, Marzo del 2019.



Figura 12. Larvas de Noctuidos sobre panoja de quinua, Dcha. Larva sin sintomas del virus de la poliedrosis nuclear, Izda, larva colgada de sus propatas posteriores, en la localidad de Chatuma, distrito de Pomata, Marzo del 2019.



Figura 13. Traslado de material Biológico recolectado en vehículo oficial del Instituto Nacional del Innovación Agraria INIA-Puno, entre enero y abril 2019.



Figura 14. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Azangarillo, Distrito de Huancane, en el mes de abril 2019



Figura 15. . Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Yanahocco, Distrito de Huancané, en el mes de abril 2019



Figura 16. Recolección de larvas presentes en el Cultivo de Quinoa en la localidad de Cotos, Distrito de Capachica, en el mes de abril 2019.

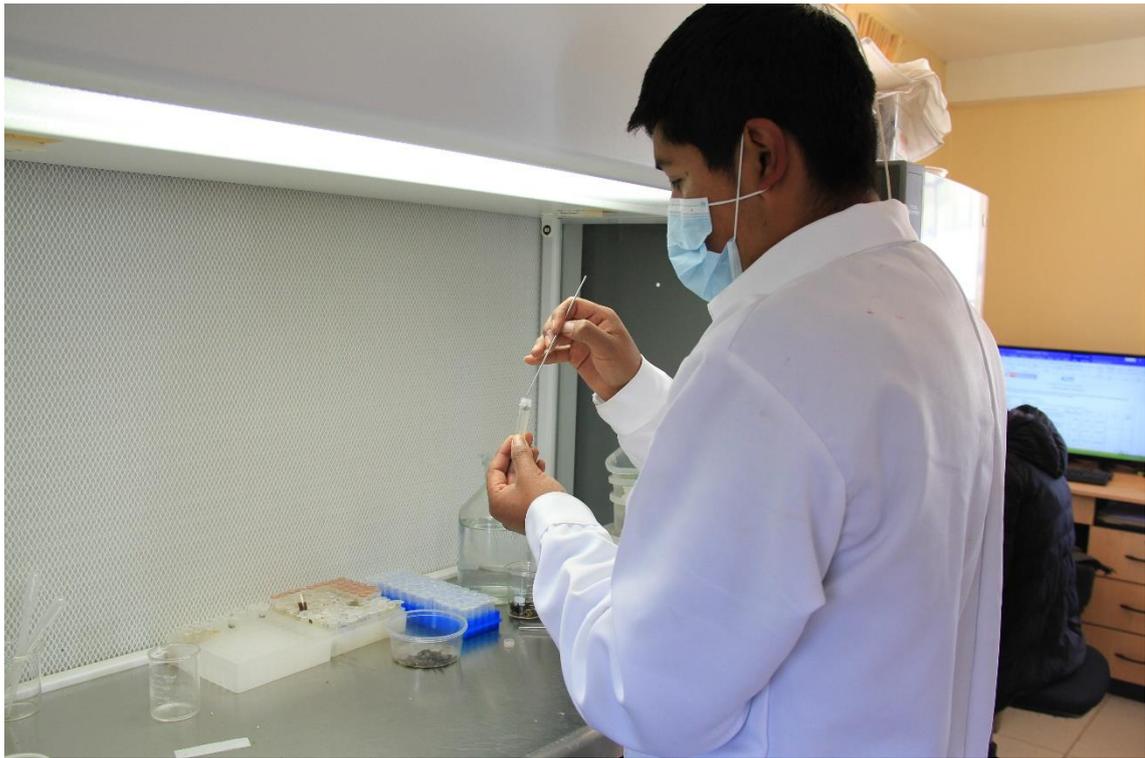


Figura 17. Evaluación de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.



Figura 18. Almacenamiento de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.

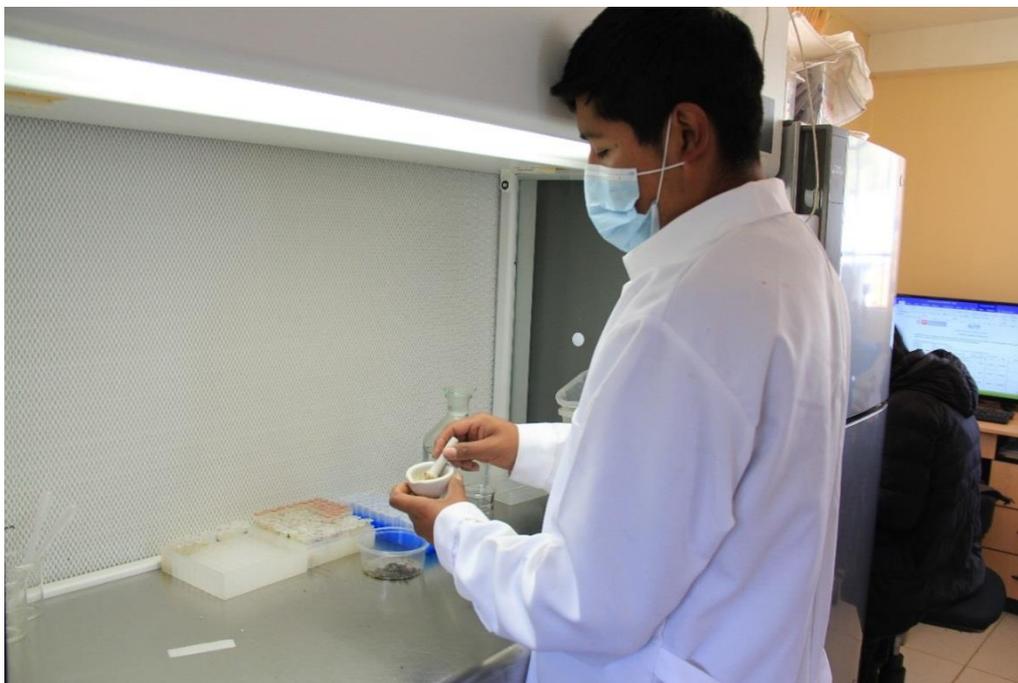


Figura 19. Evaluación de larvas recolectadas, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.



Figura 20. Evaluación de larvas recolectadas con sintomatología de poseer el VPN , procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.



Figura 21. Evaluación y búsqueda de larvas enfermas con el VPN, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.

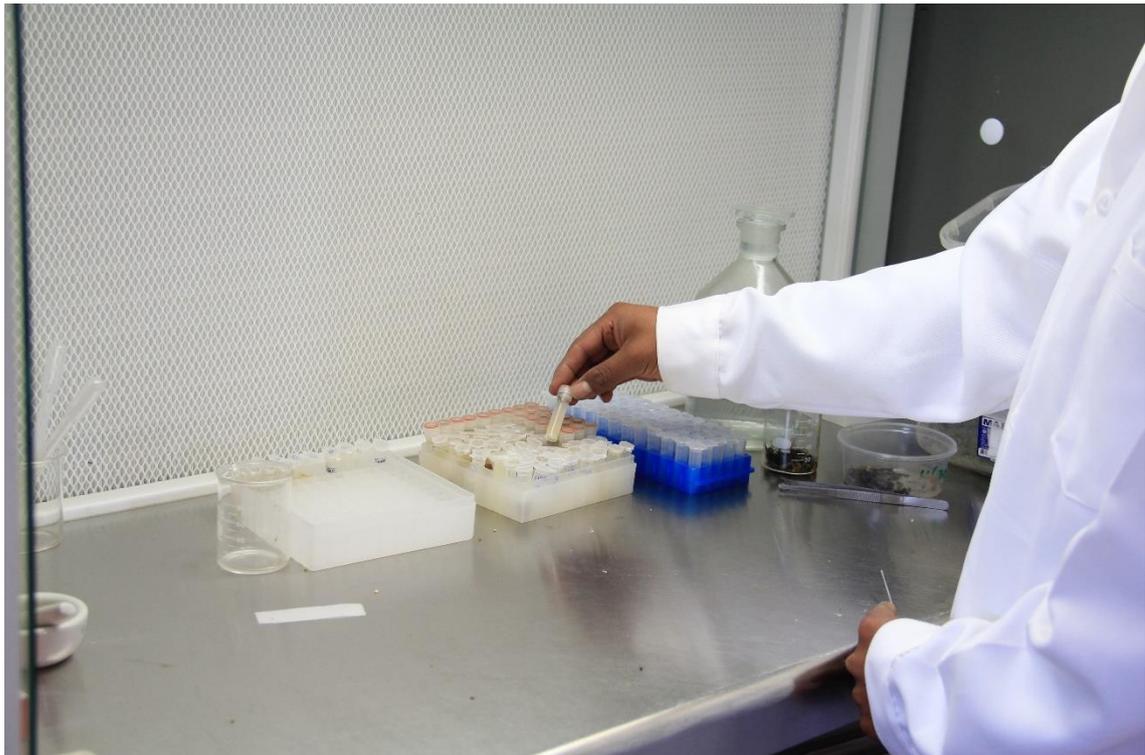


Figura 22. Almacenamiento, procedentes de los campos de cultivo de quinua de la región Puno, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.



Figura 23. Disposición al azar de los Tapers con arena y las panojas de quinua previamente asperjadas con el VPN, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.



Figura 24. Acondicionamiento de los Tapers con arena y las panojas de quinua previamente asperjadas con el VPN, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, abril 2019.

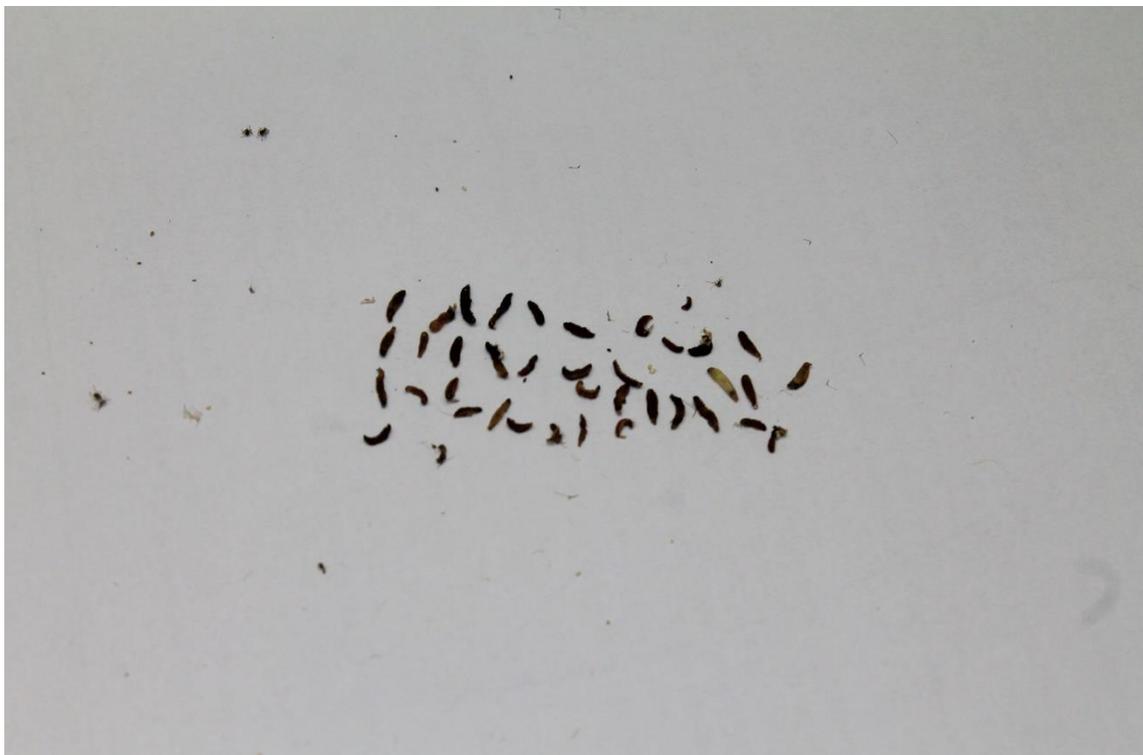


Figura 25. Recolección de larvas muertas de los tapers donde se inoculo el VPN frente a las larvas de *Eurysacca quinoae* del instar tres, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019.



Figura 26. Preparación de las larvas muertas para poder identificar la naturaleza de su muerte, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019.



Figura 27. Búsqueda de cuerpos de Inclusión del VPN u otro microorganismo responsable de la muerte de la larva, con ayuda de microscopio óptico, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019.

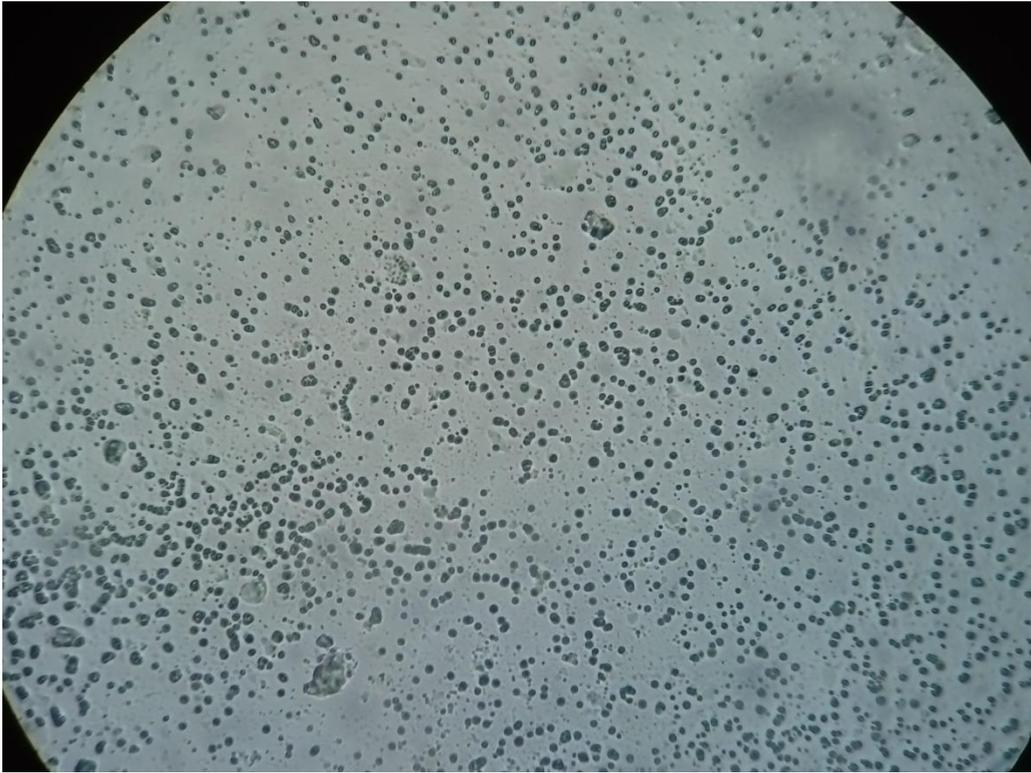


Figura 28. Vista de los cuerpos de inclusión del VPN observadas con ayuda de un microscopio óptico en aumento de 40x, en el laboratorio de protección vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria Puno, mayo 2019.



PERÚ Ministerio
de Agricultura y Riego

SENASA
Servicio Nacional de Sanidad Agraria
PERÚ

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

**EL DIRECTOR DE LA SUBDIRECCIÓN DE CONTROL BIOLÓGICO –
DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL DEL SERVICIO
NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA**

CERTIFICADO
N° 28.09.17

CERTIFICA:

Que la Sr. **CASTRO HANCCO JHON ABEL**, ha realizado capacitación en el **CURSO PRODUCCIÓN DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS (virus, nematodos entomopatógenos, control de calidad de hongos entomopatógenos)** del 4 al 8 de setiembre de 2017, acumulando un total de 40 horas lectivas (5 días hábiles), obteniendo la calificación de: **EXCELENTE**

Vitarte, 14 de Setiembre de 2017



Cesar de la Cruz Lezcano
CESAR DE LA CRUZ LEZCANO
Director
Subdirección de Control Biológico

Carmen Salcedo Velarde
Big. CARMEN SALCEDO VELARDE
(e) Unidad de Capacitación
Subdirección de Control Biológico

Criterio de evaluación:
Excelente : 19 a 20
Muy bueno : 17 a 18
Bueno : 14 a 16

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

*Trabajando para
todos los peruanos*



"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

CONSTANCIA

El Coordinador del Área de Protección Vegetal de la Estación Experimental Agraria Illpa- Puno del INIA, hace constar:

Que el señor **JHON ABEL CASTRO HANCCO**, bachiller de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano, ha desarrollado su trabajo de investigación titulado '**Presencia y patogenicidad del virus de la poliedrosis nuclear en larvas de lepidópteros del cultivo de quinua en la región Puno**, en el Laboratorio del Entomología del área de Protección Vegetal de la Estación Experimental Agraria Illpa del INIA, en el periodo 2018-2019.

La presente se emite a solicitud del interesado para los fines que vea por conveniente.

Puno, 21 de Octubre del 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA
Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario

M.Sc. PEDRO DELGADO MAMANI
Coordinador - EEA. ILLPA

Puno (Sede): Rinconada de Salcedo s/n - Puno
Telefax: (051) 363812, Móvil 951677236
www.inia.gob.pe
Email: illpa@inia.gob.pe