

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS**

"Evaluación de la eficiencia de diferentes formulaciones de bioplaguicidas virales y de un insecticida químico para el control de *Tecia solanivora* (Povolny) y *Symmetrischema plaesiosema* (Turner) en papa almacenada en una localidad del cantón Salcedo de la provincia de Cotopaxi, Ecuador"

CARLOS CARPIO COBA

INFORME DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS - ECUADOR

2008

Evaluación de la eficiencia de diferentes formulaciones de bioplaguicidas virales y de un insecticida químico para el control de *Tecia solanivora* (Povolny) y *Symmetrischema plaesiosema* (Turner) en papa almacenada en una localidad del cantón Salcedo de la provincia de Cotopaxi, Ecuador

CARLOS CARPIO COBA

REVISADO Y APROBADO

MAYO. ESP. ING. RENE ENRIQUE GONZALEZ VILELA
COORDINADOR DE CARRERA
CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

Ing. MSc. Gustavo Nuñez

DIRECTOR

Ing. Marcelo Patiño

CODIRECTOR

Dr. Jean Louis Zeddám

COORDINADOR

Ing. Vinicio Uday

BIOMETRISTA

CERTIFICO QUE ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN ORIGINAL (EN MEDIO MAGNÉTICO) E IMPRESO EN DOS EJEMPLARES

SECRETARÍA ACADÉMICA

Evaluación de la eficiencia de diferentes formulaciones de bioplaguicidas virales y de un insecticida químico para el control de *Tecia solanivora* (Povolny) y *Symmetrischema plaesiosema* (Turner) en papa almacenada en una localidad del cantón Salcedo de la provincia de Cotopaxi, Ecuador

CARLOS CARPIO COBA

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN DEL INFORME TÉCNICO.

	CALIFICACIÓN	FECHA
Ing. MSc. Gustavo Nuñez DIRECTOR	_____	_____
Ing. Marcelo Patiño CODIRECTOR	_____	_____

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON PRESENTADAS EN ESTA SECRETARÍA

SECRETARÍA ACADÉMICA

DEDICATORIA

A MIS ABUELOS Y
PADRES POR SU
APOYO
INCONDICIONAL

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanas por su cariño y apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de estos años sin el cual no habría podido llegar a este momento tan importante en mi vida.

Al Ing. Gustavo Nuñez, al Ing. Marcelo Patiño y Dr. Jean Louis Zeddum por el apoyo brindado a lo largo de esta tesis.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por haber permitido que realice mi tesis en sus instalaciones.

Al MSc. Alvaro Barragán por la amistad brindada y por haber tenido la confianza en mí al invitarme a participar en el proyecto “Desarrollo de un nuevo biopesticida para el control de la polilla de la papa” por el cual pude desarrollar la presente tesis.

Al Dr. Olivier Dangles por haber dado parte de su tiempo para realizar comentarios, sugerencias a lo largo del proyecto y al documento técnico final de la tesis.

A la familia Arias por haber permitido que el ensayo se lleve a cabo en su propiedad.

A todos los amigos del Museo QCAZ - Entomología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Belén Liger, Paulina Rosero, Fernanda Checa Giovanni Ramón, Lorena Pazmiño, Alex Santillán, Verónica Mesías, Carolina Proaño, Natalia Andrade y Bolívar Salas; por la colaboración dada en las diferentes fases de proyecto de tesis y por las críticas realizadas por la lentitud de mi avance.

CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN LITERARIA.....	4
2.1.	EL COMPLEJO DE LA POLILLA DE LA PAPA.....	4
2.1.1.	La polilla guatemalteca (<i>T. solanivora</i>).....	5
2.1.1.1.	Biología.....	6
2.1.1.2.	Comportamiento.....	7
2.1.2.	La polilla andina (<i>S. plaesiosema</i>).....	7
2.1.2.1.	Biología.....	8
2.1.2.2.	Comportamiento.....	8
2.1.3.	La polilla de la papa (<i>P. operculella</i>).....	9
2.1.3.1.	Biología.....	9
2.1.3.2.	Comportamiento.....	10
2.1.4.	Ecología térmica de las polillas de la papa.....	11
2.2.	MEDIDAS EXISTENTE PARA EVITAR EL DAÑO DE LA POLILLA EN EL ALMACÉN.....	13
2.2.1.	Control químico.....	13
2.2.2.	Uso de plantas repelentes.....	14
2.2.3.	Control biológico.....	15
2.2.3.1.	Control con <i>B. thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i>	15
2.2.3.2.	Control con el PhopGV.....	16
2.3.	VIRUS ENTOMOPATÓGENOS.....	17
2.3.1.	Modo de acción.....	18
2.3.2.	Ultimas investigaciones sobre el uso de virus entomopatogenos para el control de las polillas de la papa.....	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1.	ENSAYO 1.....	20
3.1.1.	Diseño experimental.....	20
3.1.2.	Manejo del experimento.....	21
3.1.2.1.	Material biológico:.....	21
3.1.2.1.1.	Huevos de <i>T. solanivora</i>	21
3.1.2.2.	Instalación del ensayo.....	21
3.1.2.3.	Datos registrados.....	22
3.1.2.3.1.	Índice de mortalidad de <i>T. solanivora</i>	22
3.1.2.3.2.	Intensidad de daño.....	22
3.1.2.3.3.	Cantidad de papa consumida.....	23
3.1.2.3.3.1.	Consumo total.....	23
3.1.2.3.3.2.	Tasa de consumo.....	23
3.1.2.4.	Análisis estadístico.....	24
3.2.	ENSAYO 2.....	25
3.2.1.	Área de estudio.....	25
3.2.2.	Diseño experimental.....	26
3.2.3.	Manejo del experimento.....	28
3.2.3.1.	Material biológico:.....	28
3.2.3.1.1.	Huevos de <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i>	28
3.2.3.1.2.	Elaboración de los tratamientos T2, T3 y T4.....	29
3.2.3.2.	Instalación del ensayo:.....	29
3.2.3.3.	Datos registrados.....	30
3.2.3.3.1.	Evaluación de la mortalidad de los huevos de las polillas.....	30
3.2.3.3.2.	Evaluación de la intensidad de daño.....	30
3.2.3.3.3.	Evaluación del porcentaje de tubérculos con daño:.....	34
3.2.3.4.	Análisis estadístico.....	34
IV.	RESULTADOS.....	36

4.1.	ENSAYO 1.....	36
4.1.1.	Índice de mortalidad de <i>T. solanivora</i>	36
4.1.1.1.	Índice de mortalidad global (desde huevo a adulto).....	36
4.1.1.2.	Índice de mortalidad por estados.....	38
4.1.2.	Intensidad de daño en papa.....	41
4.1.3.	Cantidad de papa consumida y tasa de consumo.....	43
4.1.3.1.	Consumo total.....	43
4.1.3.2.	Tasa de consumo.....	44
4.2.	ENSAYO 2.....	46
4.2.1.	Evaluación de la mortalidad de los huevos de <i>S. plaesiosema</i> y <i>T. solanivora</i>	46
4.2.2.	Evaluación de la incidencia de daño (frecuencia de papa dañada).....	46
4.2.3.	Evaluación del porcentaje de área de tubérculos con daño.....	50
V.	DISCUSIÓN.....	56
5.1.	INNOVACIONES METODOLÓGICAS DE LA TESIS.....	56
5.2.	POLVOS INERTES COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i>	57
5.3.	EFICIENCIA DE LOS NUEVOS VIRUS EN COMPARACIÓN CON LOS YA EXISTENTES.....	60
VI.	CONCLUSIONES.....	62
VII.	RECOMENDACIONES.....	63
VIII.	RESÚMEN.....	64
IX.	SUMMARY.....	66
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	68

CUADROS

Cuadro 1.	Duración en días de los diferentes instares de los estados inmaduros de las tres especies de polillas (<i>T. solanivora</i> , <i>P. operculella</i> , y <i>S. plaesiosema</i>) a 10 y 20 °C	11
Cuadro 2.	Análisis de varianza del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad considerado desde el momento en que colocamos los huevos hasta el momento en que apareció el último adulto de <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	37
Cuadro 3.	Pruebas de significación del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad de <i>T. solanivora</i>	38
Cuadro 4.	Análisis de varianza (ANOVA de dos vías) del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad en los diferentes estadios de <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	39
Cuadro 5.	Pruebas de significación del estadio (huevo, larva, pupa) sobre el índice de mortalidad de <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	40
Cuadro 6.	Análisis de varianza del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad larval de <i>T. solanivora</i>	40
Cuadro 7.	Pruebas de significación del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad larval de <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	41
Cuadro 8.	Análisis de varianza del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre el índice de daño de <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días ...	42
Cuadro 9.	Análisis de varianza (DCA) del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre la cantidad de papa consumida por <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	44
Cuadro 10.	Pruebas de significación del efecto de CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl, sobre la cantidad de papa consumida por <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	44
Cuadro 11.	Análisis de varianza del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el índice de daño de papa de <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i> en bodega.	49
Cuadro 12.	Pruebas de significación del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el índice de daño de papa de <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i> en bodega	49
Cuadro 13.	Análisis de varianza del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el porcentaje de área de daño de papa de <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i> en bodega	52
Cuadro 14.	Pruebas de significación del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el porcentaje del área de daño de papa de de <i>T. solanivora</i> y <i>S. plaesiosema</i> en bodega	52

FIGURAS

Figura 1.	Plot ternario de las abundancias relativas de las tres especies (<i>P. operculella</i> , <i>T. solanivora</i> , and <i>S. plaesiosema</i>) capturados en 42 sitios de la sierra central durante el período de estudio (Noviembre 2006 – Marzo 2007)	12
Figura 2.	Esquema de distribución del ensayo (72 unidades experimentales: 2 especies * 8 tratamientos * 6 replicaciones)	28
Figura 3.	Secuencia seguida durante el manejo de SCION IMAGE	33
Figura 4.	Diagrama de caja y bigotes del índice de mortalidad considerado desde el momento en que colocamos los huevos hasta el momento en que apareció el último adulto de <i>T. solanivora</i> por tratamiento	37
Figura 5.	Diagrama de caja y bigote del índice de mortalidad en los estadios (huevo, larva, y pupa) de <i>T. solanivora</i> por tratamiento (CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl) en un período de 89 días	39
Figura 6.	Diagrama de caja y bigotes del índice de papa dañada por tratamiento (MNPP, CaCO ₃ , SiAl, Caolín) contra <i>T. solanivora</i> en un período de 89 días	42
Figura 7.	Diagrama de caja y bigotes de la pérdida de masa en gramos por tratamiento (CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl) contra las larvas de <i>T. solanivora</i>	43
Figura 8.	Tasa de consumo en gramos de papa/ larva de <i>T. solanivora</i> por tratamiento (CaCO ₃ , MNPP, Caolín, SiAl)	45
Figura 9.	Diagrama de caja y bigotes de la frecuencia de papa dañada por tratamiento contra: (A) <i>S. plaesiosema</i> y (B) <i>T. solanivora</i>	48
Figura 10.	Diagrama de caja y bigotes del índice de área de papa dañada por tratamiento contra: (A) <i>S. plaesiosema</i> y (B) <i>T. solanivora</i> ...	51
Figura 11.	Probabilidad de daño de papas por <i>S. plaesiosema</i> al ser almacenadas en bodega	54
Figura 12.	Probabilidad de daño de papas por <i>T. solanivora</i> al ser almacenadas en bodega	55

I. INTRODUCCIÓN

En Ecuador, aproximadamente 42000 familias se dedican a la producción de papa, con un valor total bruto de 60 millones de dólares anuales. La papa es una importante fuente de ingresos para las comunidades rurales y un componente fundamental de la economía nacional (Pumisacho y Sherwood, 2002).

El complejo de polillas de la papa, *Phthorimaea operculella* (Zeller), *Tecia solanivora* (Polvony) y *Symmetrischema plaesiosema* (Turner) (Lepidoptera: Gelechiidae) es uno de los grupos de insectos que causan mayores daños a este cultivo, tanto en campo como en almacenamiento (Barragán y col., 2005). Los principales perjuicios de estas plagas son la pérdida económica directa al agricultor y la consecuente reducción de su calidad de vida; así como, la disminución de la superficie destinada al cultivo, debido a que problemas de este tipo desalientan al productor (Barragán y col., 2005). Las pérdidas directas e indirectas causadas por las plagas en Colombia, Ecuador y Perú bordean los 150 millones de dólares anuales (Palacios y col., 2002).

Aunque la papa ha sido el cultivo básico en los Andes durante milenios, solo en los tiempos recientes presiones poblacionales han conducido a una intensificación agrícola basada en el uso de insumos externos, especialmente de agroquímicos y a la mecanización, el monocultivo y períodos de barbecho más cortos (Yanggen y col., 2003).

El empleo de tecnologías en cuanto a la aplicación de plaguicidas y fertilizantes ha permitido un aumento en la producción de papa en muchas zonas como la provincia de Carchi, pero ha tenido a la vez impactos en la salud del ecosistema y ha expuesto a los agricultores a nuevas sustancias tóxicas (Yanggen y col., 2003). Por lo que se hace necesario plantear alternativas que le permitan al agricultor producir con tecnologías menos dañinas a su salud y al ambiente. Un aspecto importante en el inicio de un programa de manejo integrado de plagas (MIP), es conocer y cuantificar la eficiencia de los controladores biológicos de las plagas que alcanzan el nivel de sobresalientes en un cultivo en particular (Ortega y Fernandez., 1995). Por ejemplo estudios realizados en *Bacillus thuringiensis* (Gill y col., 1992; Höfte y Whiteley, 1989), *Muscodor albus* (Lacey y Naven, 2006)

La presente propuesta de investigación es parte de un proyecto que tiene como finalidad el desarrollo de un biopesticida que sirva como una alternativa valedera de control biológico para dos especies de polillas (*T. solanivora* y *S. plaesiosema*) durante la fase de almacenamiento de la papa. Dentro de esa línea de investigación se evaluaron tres diferentes formulaciones de biopesticidas virales: dos cepas (Anchilibi y PhopGV JZL9F) individuales y en mezcla. Se compararon estas formulaciones con tres productos que ya existen en el mercado (Malathion, Carbonato de Calcio, Baculovirus PhopGV). Este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de obtener información para mejorar la formulación de un bioplaguicida que está en etapa de desarrollo.

Para cumplir con la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Encontrar el soporte que pueda acompañar mejor al virus en la formulación del biopesticida
- Evaluar la eficiencia de diferentes formulaciones de bioplaguicidas virales para el control de *Tecia solanivora* (Povolny) y *Symmetrischema plaesiosema* (Turner) en papa mantenida en almacenamiento.

II. REVISIÓN LITERARIA

2.1. EL COMPLEJO DE LAS POLILLAS DE LA PAPA

El complejo de polillas de papa, está conformado por tres especies de la familia Gelechiidae (Lepidoptera): *P. operculella*, *T. solanivora* y *S. plaesiosema*. Estas polillas junto al gusano blanco (*Premnotrypes vorax*, Hustache) representan en la actualidad una de las plagas más peligrosas para el cultivo de la papa en el Ecuador (Barragán y col., 2005). Solo en el año 2002, *T. solanivora* causó 6 millones de dólares en pérdidas en la provincia del Carchi (Polet y Barragán, 2003).

Las larvas de esta familia generalmente son fitófagas pero suelen variar en hábitos. Algunas son minadoras de hojas (e.g. *P. operculella*) o tallos (e.g. *S. plaesiosema*). Otras hacen galerías en los granos (*Sitotroga cerilla*) o tubérculos (e.g. *T. solanivora*). Unas pocas forman agallas (e.g. *Gnorismochema sp.*) o son sanducheros (e.g. *Pectinophora gossypiella*) (Triplehorn y Johnson, 2005).

La familia Gelechiidae, tiene amplia distribución en el mundo. Sus adultos son microlepidopteros de color marrón o gris claro. El palpo labial esta recurvado hacia arriba con el tercer segmento distal largo (pudiendo ser muy corto en algunas especies) y terminando en punta. Las alas anteriores son lanceoladas y más angostas que las posteriores, que son trapezoidales con el margen externo generalmente sinuoso o emarginado debajo del ápice (Galves y Villa, 1987).

En el caso de las polillas de la papa, la confusión en la identificación de *P. operculella*, *T. solanivora* y *S. plaesiosema* es la base del desconocimiento del estado actual de estas plagas en el Ecuador donde las tres especies están presentes. Por consiguiente, las prácticas de control pueden ser inadecuadas debido a la biología diferente de cada especie (Barragán, 2005). Es aún más importante cuando se trata de usar controladores biológicos que son por lo general específicos.

2.1.1. La polilla guatemalteca (*T. solanivora*)

Anteriormente conocida como *Scrobipalopsis solanivora*, esta especie fue descrita originalmente por Povolny (1973), a partir de especímenes provenientes de Guatemala (Herrera, 1998). Ha sido posible conocer su agresivo patrón de dispersión, basándose en los reportes de identificación entomológica y los severos daños que causa a los cultivos de papa. Así, a partir de su zona de origen, se reportó su introducción a Venezuela en 1983. Dos años después, en 1985, se constató por primera vez su presencia en Colombia en el departamento de Norte de Santander de donde se diseminó al resto de las zonas paperas del país (Herrera, 1998). *T. solanivora* fue introducida a Ecuador en 1996, a través de una “importación” de semilla no certificada proveniente de Colombia, con destino a las zonas paperas de la provincia del Carchi (Gallegos y Suquillo, 1996). La presencia de *T. solanivora* no ha sido reportada en Perú a pesar de que comparten una frontera común (J. Kroshel, CIP Perú, com. pers.). La distribución actual de esta plaga incluye Centroamérica, Venezuela, Colombia, Ecuador y las Islas Canarias (Barragán, 2005; Palacios, 1997).

Análisis moleculares mostraron que la dispersión de *T. solanivora* se acompañó de una pérdida de diversidad genética de los individuos, a pesar de que la plaga sigue siendo exitosa para adaptarse en los agro-ecosistemas de los países norteafricanos (Puillandre y col., 2007). Este potencial adaptativo de *T. solanivora* está corroborado por un estudio morfométrico que reconoció poblaciones de *T. solanivora* morfológicamente diferentes en relación con un gradiente altitudinal (Hernández 2007). Las alas de poblaciones de altura tienden a ser delgadas en comparación con las alas anchas de las poblaciones de localidades bajas.

2.1.1.1. Biología

El adulto de *T. solanivora* es una polilla de color pardo oscuro a gris que presenta en las alas anteriores unas líneas gruesas longitudinales que se interrumpen en la zona media, en donde se distingue un punto negro muy marcado. Puede alcanzar los 18,5 mm de envergadura alar (Barragán, 2005). Se ha constatado que existe un marcado dimorfismo sexual relacionado con el tamaño del adulto y su coloración; la hembra es más grande que el macho (Herrera, 1998). La duración del ciclo biológico está en función de la temperatura. El tiempo que esta polilla permanece en los estados inmaduros puede llegar a 48 ($\pm 1,55$) días a 20 °C (Cuadro 1). A una temperatura de 10 °C la pupa no llega a cumplir su ciclo. Luego de emerger del huevo, las larvas de esta polilla pasan por cuatro estados intermedios. Las larvas recién emergidas son de color blanco, midiendo aproximadamente 1,4 mm de longitud. Cuando se inicia el último estado, la larva varía su coloración a verdusca amarillenta hasta que finalmente antes de abandonar el tubérculo, toma una

coloración rosada con tonalidades violáceas en el dorso (Barragán, 2005; Torres, 1998; Herrera, 1998).

2.1.1.2. Comportamiento

El adulto de *T. solanivora* tiene actividad nocturna. Su vuelo es corto, a ras del suelo. Esta especie comúnmente se posa sobre el suelo, debajo de las hojas, entre las grietas o entre los sacos de papa en los almacenes. En el campo se localizan en los bordes de los cultivos y se guarecen bajo el follaje, malas hierbas o arbustos (Palacios, 1997). El ataque de esta plaga puede ser tanto en campo como en almacenamiento, reconociéndose hasta el momento que el tubérculo de papa es el único hospedero de esta polilla (Torres, 1998). La larva se alimenta inicialmente encima de la piel del tubérculo, para luego barrenar más profundamente y formar galerías sinuosas (Torres, 1998). Las heridas causadas por las larvas resultan en el encogimiento del tubérculo por el incremento de la transpiración e infección secundaria por microorganismos, lo que provoca pérdida de peso y calidad de los mismos (Raman, 1980).

2.1.2 La polilla andina (*S. plaesiosema*)

S. plaesiosema fue descrita originalmente de Australia en 1919, posteriormente fue citada en California en 1937 y Perú en 1931 (Valencia, 1984). Los primeros reportes de su presencia en Ecuador son de 2001 (Barragán, 2005). Actualmente esta especie es típica del área andina y se encuentra también en Perú, Bolivia y Colombia (Palacio, 1997).

2.1.2.1. Biología

La duración del ciclo biológico de *S. plaesiosema* esta también en función de la temperatura. La larva permanece en el tubérculo de 60 (\pm 2) días (20 °C) a 226 (\pm 41) días (10 °C) (Cuadro 1). Se la puede reconocer fácilmente porque cuando la polilla está en posición de reposo, las alas anteriores muestran las puntas de color marrón claro con una mancha triangular de color negro en la parte media. El adulto alcanza los 16,4 mm. de envergadura alar (Valencia, 1984; Barragán, 2005). La larva presenta cinco instares. En el primer instar mide 1 mm de longitud con una coloración blanca cremosa. Del segundo al quinto instar presenta cinco franjas longitudinales rojo púrpura, tres dorsales y dos laterales. El vientre es verde intenso. En el último instar alcanza los 13 mm de longitud (Barragán, 2005).

2.1.2.2 Comportamiento

El adulto de *S. plaesiosema* tiene actividad nocturna. En el almacén se refugia en lugares oscuros y en el campo se oculta entre el follaje cerca del suelo (Andrew y col., 1999; Barragán, 2005). Las larvas de esta polilla barrenan los tallos afectando el flujo de savia en las plantas y hacen galerías irregulares en los tubérculos tanto en campo como en almacenamiento (Andrew, 1999).

2.1.3. La polilla de la papa (*P. operculella*)

P. operculella es actualmente una especie de distribución cosmopolita que se originó en las Américas (Valencia, 1984). Es actualmente la especie de más amplia distribución a nivel mundial, se la encuentra en todas las zonas de América, Europa, África, Asia y Australia donde se siembra papa. Es una especie típica de zonas cálidas, pero también se le encuentra en zonas altas, como en el área andina (Palacio, 1997). En el Ecuador, es considerada una plaga de baja intensidad. Durante trabajos realizados en las provincias centrales (Tungurahua, Cotopaxi, Bolívar y Chimborazo), de 55 bodegas visitadas en un período de 12 meses (junio 2006 a junio 2007) solo una presentó infestación por *P. operculella*. De la misma manera de 98 campos visitados entre junio de 2006 y junio de 2007, solo un campo ubicado en la provincia de Tungurahua visitado durante la época en que se registraba una baja precipitación, presentó un daño de más del 50% en el follaje (Dangles y col., obser. pers.).

2.1.3.1. Biología

La duración en el estado larval de *P. operculella* es de 56 días (\pm 5) a 20 °C (Cuadro 1). A 10 °C, *P. operculella* no llega a concluir su ciclo biológico. Los adultos tienen el cuerpo plateado y tienen cerca de 15 mm de envergadura. Las alas anteriores son de color gris – marrón con tres pares de puntos en la zona media, que a la distancia se asemejan a una “X” (Barragán, 2005; Ortega y Fernández, 1995). Las larvas pasan por cuatro instares. En el primer instar mide cerca de 1 mm de longitud y presenta una coloración blanca lechosa hasta el tercer instar. En el

último instar, la larva llega a medir 10 mm. Es blanquecina con tonalidades rosadas (Barragán, 2005).

2.1.3.2. Comportamiento

Como las dos otras especies, estas polillas vuelan principalmente durante la noche. Durante el día se esconden bajo los desechos, terrones de suelo, o bajo las hojas de las plantas. Esta polilla ocasiona daños al follaje, tallos, pecíolos y tubérculos. Inicialmente, la larva daña los brotes terminales, uniéndolos como hilos de seda al alimentarse de la parte verde de las hojas, penetra y mina los pecíolos causando manchas irregulares transparentes. Cuando la infestación es alta, el daño (como barrenador) debilita a las plantas hasta ocasionar, en casos extremos, la muerte. En el tubérculo, el daño inicial es superficial y posteriormente en la última fase del desarrollo de la larva es profundo (Ortega, 1995).

Cuadro 1. Duración en días de los diferentes instares de los estados inmaduros de las tres especies de polillas (*T. solanivora*, *P. operculella*, y *S. plaesiosema*) a 10 y 20 °C. Las estadísticas asociadas están calculadas a partir de una función de distribución Erlang.

Especies	Instar	Temperatura (°C)	Promedio	Varianza
<i>S. tangolias</i>	Huevo	10	38,8	4,8
		20	10,5	1,5
	Larva	10	108,3	84,0
		20	30,8	1,5
	Pupa	10	79,2	33,2
		20	18,9	3,0
<i>T. solanivora</i>	Huevo	10	32,19	2,5
		20	10,0	1,0
	Larvae	10	71,3	77,03
		20	20,6	1,55
	Pupae	10	-	-
		20	17,56	1,82
<i>P. operculella</i>	Huevo	10	35,5	1,5
		20	9,18	0,17
	Larva	10	106,7	20,6
		20	31,81	10,88
	Pupa	10	-	-
		20	15,84	2,41

Fuente: Dangles y col, 2008

2.1.4. Ecología térmica de las polillas de la papa

Como ya se dijo antes, la temperatura es un factor importante que controla el desarrollo de las 3 especies de polillas de la papa. La respuesta diferente de las tres especies a la temperatura (Cuadro 1) se traslada a la diferente distribución altitudinal de las tres especies de polillas (Figura 1, Dangles y col., 2008). *S. plaesiosema* está mejor adaptada a los climas fríos, pero tolera todas las temperaturas

en un rango de los 10 a los 20 °C. *P. operculella* es más sensible a las condiciones de frío con relación a las otras dos especies. *T. solanivora* presenta un patrón intermedio entre las otras dos especies (Dangles y col, 2008). Esta información es muy importante para el manejo integrado de estas plagas porque nos permite predecir las zonas donde se encuentra más infestación de ciertas especies de polillas y así adoptar las medidas de control.

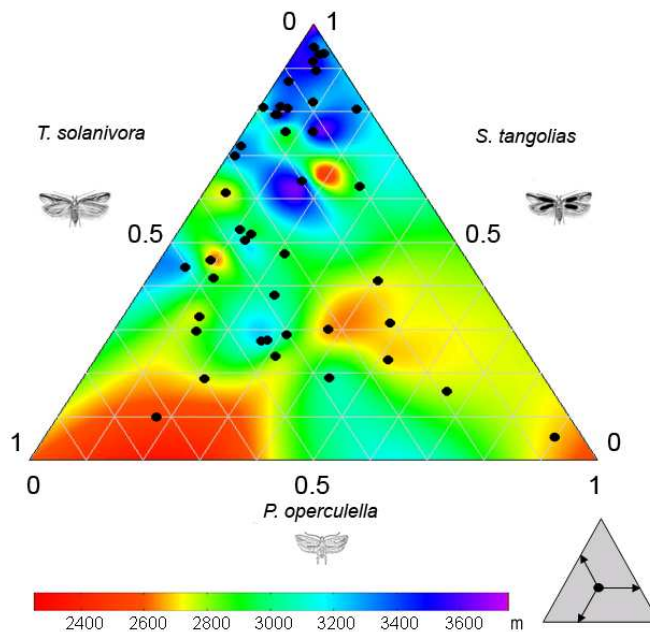


Figura 1. Plot ternario de las abundancias relativas de las tres especies (*P. operculella*, *T. solanivora*, y *S. plaesiosema*) capturados en 42 sitios de la sierra central durante el período de estudio (Noviembre 2006 – Marzo 2007). Ejemplo de la proyección de las coordenadas de un sitio dado sobre los tres ejes del triángulo está dado en el triángulo gris insertado. El modelo de la superficie de elevación fue desarrollado usando la interpolación del vecino más cercano. Los colores indican la altitud de los sitios como está señalado en la leyenda. (Fuente: Dangles y col, 2008).

2.2. MEDIDAS EXISTENTE PARA EVITAR EL DAÑO POR LA POLILLA EN EL ALMACÉN

Durante el monitoreo realizado en mayo de 2006 hasta junio de 2007 en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar y Chimborazo se constató que el daño producido en campos evaluados (N = 85) donde hay presencia de polillas adultas es bajo (aprox. 7%). En contraste, el daño observado en bodegas infestadas puede llegar en algunos casos a un 100% de pérdidas (Carpio y col., 2007; Obs. pers.). Medidas aplicadas en el campo como el aporque alto, uso de semilla en buen estado y uso adecuado de agroquímicos han demostrado ser eficaces en el control de la polilla durante la permanencia de la papa en el campo. A continuación se hará una referencia a ciertas estrategias seguidas por los productores para controlar a las polillas en la bodega.

2.2.1. Control químico

Los insecticidas en polvo que tienen como principio activo el Carbaril (tipo Sevín) y/o como principio activo el Malathion (tipo Malathion 25% PM, Malathion 50 PM) aplicados en seco a una concentración de 5% pueden proteger la semilla de papa (Pumisacho y Sherwood, 2002). La aplicación de estos insecticidas se realiza espolvoreando el producto en capas finas sobre las papas, tratando en lo posible que cada tubérculo esté cubierto con el producto (Pumisacho y Sherwood, 2002). Si la infestación de la semilla llega a 15%, se puede realizar una aplicación de productos que tengan como principio activo la fosfamina (como por

ejemplo el Gastoxín). Se recomienda una pastilla para cinco quintales de semilla de papa. El uso de Gastoxín es muy peligroso, y es necesario solicitar asesoramiento para aplicar este método y seguir estrictamente los procedimientos de la etiqueta (Pumisacho y Sherwood, 2002).

Debido al uso indiscriminado de productos químicos para el control de la plaga, se determinó que era necesario encontrar un producto igual de eficiente, del cual se utilicen dosis bajas y que sea menos contaminante al ambiente (Chamorro y col., 2002). Se debe tener en cuenta que todos los plaguicidas son tóxicos y su mal uso es peligroso para el hombre, animales y ambiente (Torres, 1998).

2.2.2 Uso de plantas repelentes

La estrategia para el uso de repelentes consiste en detener a una plaga en su búsqueda de un recurso valioso (Foster y Harris, 1997). Las plantas repelentes o con utilidad insecticida son aquellas que han desarrollado sustancias denominadas aleloquímicos, como mecanismo de defensa frente al ataque de insectos. Estos compuestos pueden actuar como atrayentes, estimulantes, toxinas, repelentes o inhibidores de la alimentación y de la oviposición (Castañera, 1998). Existen plantas que tienen olores fuertes que ahuyentan a las polillas. Entre las plantas repelentes tenemos: muña (*Minthostachys mollis*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), molle o lantana (*Lantana spp.*). Deben ser secadas bajo sombra, trituradas y aplicadas en capas entre los tubérculos y sobre ellos (Palacios y col., 1997). Se pueden usar en lugares donde no hay baculovirus o cuando se trata de papa para consumo.

2.2.3. Control biológico

El control biológico es uno de los principales componentes del manejo integrado y se define como la suma de acciones emprendidas para favorecer la acción de parásitos, depredadores y patógenos en el control de una plaga (Rocha y col., 1990). *Bacillus thuringiensis* Ishiwata y el virus *P. operculella* granulovirus o PhopGV, han mostrado cierto éxito dentro de esta estrategia de control.

2.2.3.1. Control con *B. thuringiensis* var. *Kurstaki*

B. thuringiensis es una bacteria gram positiva. La mayoría de la actividad de *B. thuringiensis* esta asociada con las toxinas proteinaceas localizadas en las inclusiones parasporales del cuerpo, también conocidas como cristales parasporales. Ellas son producidas al momento de la esporulación (Lacey y col., 2001). Una vez digerida por el insecto, esta inclusión cristalina se solubiliza en el intestino, liberando proteínas llamadas δ -endotoxinas. Estas proteínas son activadas por las proteasas del intestino y al interactuar con el epitelio del intestino causan una disrupción en la integridad de la membrana provocando finalmente la muerte del insecto (Gill y col., 1992). En el mercado existen productos bioinsecticidas a base de *B. thuringiensis* que pueden aplicarse en aspersiones o en espolvoreo. Las formulaciones comerciales tipo Dipel, New BT 2X, Turilav, asperjada a los tubérculos antes del almacenamiento reducen significativamente los daños (Ortega y Fernández, 1995).

2.2.3.2. Control con el PhopGV

El PhopGV es un virus que pertenece al género *Granulovirus* de la familia *Baculoviridae* (ICTV, 2000). Es un virus entomopatógeno endémico que se encuentra naturalmente en las poblaciones de polillas (Sporleder y col, 2007). La primera observación de un virus infectando a larvas de *P. operculella* se realizó hace 40 años en Australia con material biológico proveniente de Sri Lanka (Steinhaus y Marsh, 1967). Después de esto, el PhopGV ha sido aislado en varias partes del mundo (Reed, 1969; Broodryk y Pretorius, 1974; Raman & Alcázar, 1988; Kroschel, 1995; Zeddám et al., 1999) En la actualidad en países como Perú, Bolivia, Colombia, Túnez y Egipto existen plantas de producción local de este virus para aplicarlo en campo y en almacenamiento (Zeddám y col. 1999). Este virus actúa como un insecticida estomacal e infecta principalmente el cuerpo graso del insecto. Puede aplicarse en forma líquida o en polvo (Ortega, 1995). Los insectos afectados por el PhopGV exhiben cambios en su coloración y comportamiento. La superficie de la larva cambia progresivamente a una coloración moteada. Este cambio de color es acompañado por un progresivo debilitamiento, inactividad y flacidez de la larva. En individuos infectados, existe una marcada liquefacción de los tejidos internos después de la muerte (Laarif y col, 2003). Se lo considera como un candidato promisorio para reemplazar al control químico dentro de un manejo integrado de plagas controlando a *P. operculella* (Sporleder y col., 2005).

En vista del éxito que han tenido los virus dentro de los programas de MIP y porque es el enfoque de esta investigación, se hará un recuento de lo que son los virus entomopatógenos, su modo de acción y últimas investigaciones realizadas.

2.3. VIRUS ENTOMOPATÓGENOS

La comparación de los entomopatógenos con los pesticidas químicos convencionales es vista exclusivamente desde la perspectiva de su eficacia y costo; pero cuando los beneficios ambientales que incluyen: la seguridad para humanos y otros organismos que no son el blanco a eliminar, la reducción de los residuos de los pesticidas presentes en la comida e incremento de la actividad de la mayoría de los enemigos naturales, constatamos que sus ventajas son numerosas (Lacey y col., 2001).

Los estudios sobre virus que atacan a los artrópodos son muy importantes porque existen alrededor de 3000 virus que tienen la capacidad para infectar especies de insectos de varios órdenes (ICTV, 2000). Muchas de estas enfermedades ocurren naturalmente en insectos de importancia agrícola. Por tanto, los virus son agentes promisorios como insecticidas biológicos en programas de control (Evans y Entwistle, 1987). Los virus son patógenos intracelulares obligados. Se encuentran en todo tipo de organismos vivos ya sean Procariotas o Eucariotas. Actualmente se conocen alrededor de 3000 especies de virus de insectos o entomovirus que difieren a nivel de estructura (ICTV, 2000). Sin embargo, eso solo representa una fracción mínima de la biodiversidad viral que existe. De hecho se estima que cada especie bacteriana, vegetal o animal alberga varios tipos de virus (Zeddani y col., 2003).

2.3.1. Modo de acción

La ruta primaria de ingreso del virus al hospedante es la vía del tracto alimenticio, especialmente para las larvas y los adultos. Después de la ingestión, el alimento se mueve directamente al intestino anterior dándose los siguientes pasos. Las partículas virales que llegaron al intestino medio de las larvas se disuelven por la acción del jugo digestivo altamente alcalino (pH de 9.5 a 11.5), resultando en la liberación de la partícula viral o virión lo cual constituye la infección primaria. Esta partícula viral se fusiona con la membrana de las células de las micro-vellosidades del intestino y los nucleocápsidos penetran en el citoplasma de las células donde se desprende la cápside y se libera el ADN y comienza la replicación del virus. La progenie del virus se libera en el hemocelo y pasa de una célula a otra, convirtiendo al insecto en un saco de virus (Lecuona, 1995; Evans y Entwistle, 1987).

2.3.2. Últimas investigaciones sobre el uso de virus entomopatógenos para el control de las polillas de la papa

En Sur América la mayoría de los centros de investigación se han dedicado a trabajar únicamente con el baculovirus PhopGV (Sporleder y col., 2005; Sporleder, 2003; Sotelo y col., 2002; Croizier y col., 2001). En el laboratorio de Bioquímica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) en asociación con el Instituto francés de Investigación para el Desarrollo (IRD) se están llevando a cabo varias líneas de investigación a cerca del uso de virus entomopatógenos para el control de las tres polillas de la papa, especialmente *T. solanivora* y *S. plaesiosema* por lo cual existen pocos estudios. Estas investigaciones incluyen 4 grandes líneas: 1)

Bioprospección de virus entomopatógenos (Zeddám y col. 2003), 2) Caracterización molecular y ultraestructural de virus entomopatógenos (Chevasco, 2006), 3) Caracterización biológica de los virus entomopatógenos (Orbe, 2006), 4) Desarrollo de formulaciones de biopesticidas.

Uno de los mayores avances alcanzados es el descubrimiento de un nuevo virus entomopatógeno al que se le ha llamado Anchilibi debido a que fue encontrado en larvas de *T. solanivora* en la zona de Anchilibi, cantón Salcedo, provincia de Cotopaxi (Chevasco y col., 2006). Este virus no es ocluido. Tiene una cápside de 32 nanómetros de diámetro que se encuentra conformado por tres proteínas de pesos moleculares de 91, 85 y 78 kilodaltons (Chevasco, 2006). Su genoma está constituido por tres fragmentos de ARN de cadena simple entre 4,4; 2,7 y 1,7 kilobases. El presente trabajo es parte de una serie de investigaciones que se enfocan en probar la eficiencia de varios entomovirus para controlar a las polillas de la papa (*T. solanivora* y *S. plaesiosema*) en condiciones de campo y de compararles con varios productos existentes en el mercado.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ENSAYO 1

Este ensayo sirvió para encontrar un vehículo o soporte que pudiese acompañar a los virus (Anchilibi, JLZ9F y Anchilibi + JLZ9F) en la formulación de nuevos biopesticidas.

3.1.1. Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) con cinco tratamientos (T1, T2, ..., T5) cada uno con seis repeticiones. La unidad experimental consistió en una tarrina plástica de 250 cm³. En cada tarrina se colocó una papa de la variedad *Super Chola* (masa promedio: 95 ± 15 g) y 25 huevos de *T. solanivora*. Para evitar problemas con la transpiración del tubérculo la tapa de la tarrina tenía 20 huecos realizados con la ayuda de una aguja (Elefant, No. 4). Los tratamientos empleados fueron:

- T1: 5 Kg de polvo de diatomita MNPP/ Tonelada Métrica (TM) de papa
- T2: 5 Kg de CaCO₃ / TM de papa
- T3: 5 Kg de SiAl / TM de papa
- T4: 5 Kg de Caolín / TM de papa
- T5: Testigo (sin aplicación de producto)

3.1.2. Manejo del experimento

El ensayo se llevó a cabo entre noviembre del 2006 y enero del 2007 en el laboratorio de Entomología aplicada de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

3.1.2.1. Material biológico:

3.1.2.1.1. Huevos de *T. solanivora*

Los 625 huevos (25*5*5) de *T. solanivora* que se usaron para este ensayo fueron proporcionados por el Laboratorio de crianza de polilla de la papa de la PUCE. Las polillas adultas recién emergidas (10 machos y 10 hembras) fueron colocadas en una cámara de oviposición, que consistió en un tubo de PVC de 21 cm de largo x 10,5 cm de diámetro, tapado a los lados con tela de tul de 0,5 mm de cribado asegurada con ligas. Se colocaron dos discos de postura a cada uno de los lados del tubo, los que posteriormente fueron utilizados en el ensayo. Los discos consisten en hojas de papel bond circulares de 11 cm de diámetro.

3.1.2.2. Instalación del ensayo

Al inicio del ensayo, se pesó individualmente las papas con una balanza de precisión al 0,01 mg (OHAUS TP2KS, PRECISION PLUS). Luego se pesó por separado los diferentes talcos que usamos para cada uno de los tratamientos. Para realizar la mezcla, se colocaron las cinco papas de cada una de las

repeticiones y el talco correspondiente en dos fundas plásticas de 32 x 19,5 cm. Se agitaron las fundas durante dos minutos. Posteriormente se tomó cada papa envuelta de talco y se las pesó nuevamente antes de colocarlas en las tarrinas. Cada tarrina estaba etiquetada con información del tratamiento, número de repetición, día de instalación, persona a cargo del ensayo. Todas las tarrinas fueron colocadas en una cámara de incubación que fue mantenida durante todo el ensayo a 18 ± 1 °C.

3.1.2.3. Datos registrados

Para evaluar la eficiencia de cada tratamiento, se registraron los siguientes datos.

3.1.2.3.1. Índice de mortalidad de *T. solanivora*

A partir del séptimo día se procedió a registrar diariamente la eclosión de los huevos de cada una de las unidades experimentales. Posteriormente se registró el día en que las larvas se convirtieron en pupas y finalmente el día en que se convirtieron en adultos. Esta información sirvió para determinar los índices de mortalidad para cada uno de los estados.

3.1.2.3.2. Intensidad de daño

Al final del experimento, se partieron los tubérculos en cuatro partes iguales para evaluar el daño de *T. solanivora* para cada tratamiento, En cada parte se estimó visualmente la intensidad del daño de acuerdo al área afectada

por las larvas (de color negro). La sumatoria de daño de cada parte representa la intensidad total del daño por papa que esta entre 0 (no daño) y 1(toda la papa dañada).

3.1.2.3.3. Cantidad de papa consumida

3.1.2.3.3.1. Consumo total

Al inicio y al final del ensayo se registró el peso de cada una de las papas que se utilizaron. Se calculó un factor que corresponde a la perdida de agua para lo que se utilizó las papas que estaban como testigo restando su peso inicial de peso final y sacando un promedio; el factor obtenido resultó ser 0,0305. Para obtener la cantidad de papa consumida se procedió a realizar la siguiente operación:

$$(\text{peso inicial} - (\text{peso inicial de la papa} * 0,0305)) - \text{peso final}$$

3.1.2.3.3.2. Tasa de consumo

Para obtener la tasa de consumo se aplicó la siguiente formula a cada una de las unidades experimentales :

$$Tasa\ de\ consumo = \frac{Cantidad\ de\ papa\ consumida}{\#\ de\ pupas + \left(\frac{\#\ de\ huevos\ eclosionados - \#\ de\ pupas}{2} \right)}$$

En la fórmula se asume que las larvas que no llegaron a convertirse en pupa murieron en un período intermedio entre el estado de larva y el estado de pupa, es decir cuando estaban al final del instar dos o inicios del instar 3.

3.1.2.4. Análisis estadístico

Para medir las diferencias entre tratamiento se hizo un análisis de varianza. Previo al análisis los datos de mortalidad y de intensidad de daño fueron transformados según un arcoseno de la raíz cuadrada. Los análisis fueron llevado a cabo usando el SPSS 15.0.

3.2. ENSAYO 2

Este ensayo se realizó con la finalidad de evaluar la eficiencia de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) en el control de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega.

3.2.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Provincia de Cotopaxi, Cantón Salcedo, Parroquia de la Hoya, en la bodega ubicada en la propiedad de la familia Arias que está en las coordenadas: 01° 00' 24" S; 78° 34' 19" W. Este sitio está a una altitud de 2729 msnm y tiene una precipitación mensual media de $45,2 \pm 46$ mm, la precipitación total en el 2006 fue 586,3 mm (datos proporcionados por Sistema de Información Agropecuaria; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca). La temperatura media registrada en el campo durante el ensayo (agosto – octubre) fue de 16 °C (min = 2,39 °C; max = 26,1 °C), mientras que la temperatura media registrada en el interior de la bodega fue de 14,5 °C (min = 9,5 °C; max = 20 °C). La temperatura fue registrada usando termómetros máximo - mínimo (ERTCO, Dubuque, IA). En este sector, se encuentran cultivos de maíz, papa, haba, y pastos. La abundancia de machos de las tres especies de polilla fue monitoreada usando trampas con feromonas específicas para cada especie (Pherobank, Wageningen, NL). La abundancia quincenal promedio registrada desde junio de 2006 a junio de 2007 para las tres especies fue de 48 individuos (min = 7; max = 167) de *T. solanivora* y

35 individuos (min = 5 y max = 144) de *S. plaesiosema* por trampa evaluada (Dangles y col. submitido).

3.2.2. Diseño experimental

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) en parcela dividida, debido a que se deseaba conocer 1) el efecto protectante de los tratamientos sobre las papas y 2) si había diferencias en el nivel de acción de los tratamientos sobre *T. solanivora* y *S. plaesiosema*. Dado el alto coeficiente de variación observado en el ensayo 1 se llevaron a cabo seis repeticiones.

Se utilizaron cajas de cartón corrugado de 20 cm x 20 cm x 25 cm. Cada caja representó una unidad experimental, donde se depositaron 10 tubérculos de la variedad Leona blanca, los cuales fueron infestados con 60 huevos de *T. solanivora* o 60 huevos de *S. plaesiosema* según el tratamiento. Se utilizó la variedad Leona Blanca debido a que se ha observado que es más susceptible que otras variedades al ataque de las polillas de la papa (Verónica Mesias y Alba Marina Cotes, com. pers.).

Los tratamientos empleados fueron por cada especie:

Dos testigos:

- T1, testigo control: papas infestadas con 60 huevos de polillas pero sin ningún tratamiento químico, biológico o físico.
- T8, testigo absoluto: papas sin infestación de polillas y sin tratamiento alguno.

Tres nuevas formulaciones de biopesticida

- T2: Biopesticida con virus Anchilibi aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.
- T3: Biopesticida con virus PhopGV JLZ9F aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.
- T4: Biopesticida mixto con una mezcla de virus PhopGV JLZ9F y Anchilibi aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.

Tres productos disponibles en el mercado

- T5: Biopesticida comercial elaborado a partir del PhopGV (Producido por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Bogota, Colombia) aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.
- T6, Insecticida químico: Malathion 10% (Carbofuran) (Ecuaquímica – Ecuador) mezclado con maicena a una proporción 1:4 aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.
- T7, Talco: Carbonato de calcio (CaCO_3) aplicado a una dosis de 5 kg de producto / TM de papa.

En total, el diseño experimental incluyó 72 unidades experimentales (2 especies * 8 tratamientos * 6 replicaciones) (Figura 2).

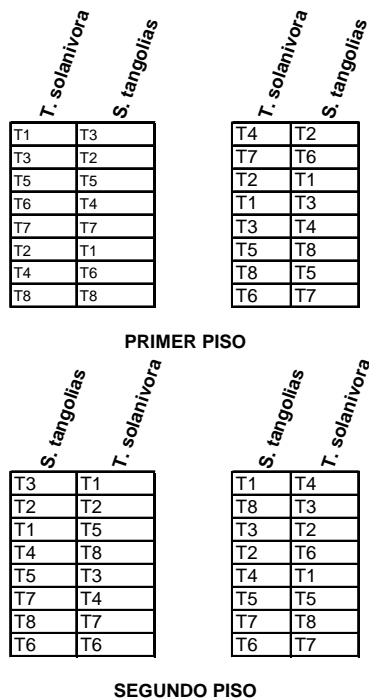


Figura 2. Esquema de distribución del ensayo (72 unidades experimentales: 2 especies * 8 tratamientos * 6 replicaciones)

3.2.3. Manejo del experimento

3.2.3.1. Material biológico:

3.2.3.1.1. Huevos de *T. solanivora* y *S. plaesiosema*

Por este ensayo, se necesitaron 2520 huevos de *T. solanivora* y 2520 huevos de *S. plaesiosema* que fueron proporcionados por el Laboratorio de cria de polilla de la papa de la PUCE (ver ensayo 1 por detalles en la obtención de los huevos).

3.2.3.1.2. Elaboración de los tratamientos T2, T3 y T4.

Las tres nuevos biopesticidas formulados a partir de los virus Anchilibi, JLZ9F y Anchilibi + JLZ9F fueron proporcionadas por el laboratorio de entomovirología de la PUCE. Para la formulación del virus Anchilibi se utilizó carbonato de calcio como vehículo y el buffer tris (hydroxymethyl aminomethane buffer) para proteger al virus. La replicación del virus Anchilibi para el ensayo necesito 10 larvas de *T. solanivora* infectadas con el virus. La formulación del virus Phop GV sepa JLZ9F se realizó de la misma manera pero se necesitó 20 larvas de *T. solanivora* para su replicación. La formulación de la mezcla de virus Anchilibi y Phop GV JLZ9F fue también similar y se utilizó 5 larvas *T. solanivora* para la replicación del virus Anchilibi y 10 larvas de *T. solanivora* para la replicación del PhopGV JLZ9F.

3.2.3.2. Instalación del ensayo:

Por razones logísticas la instalación del ensayo se hizo en dos partes. La primera parte del ensayo se ubicó el 8 de septiembre y la segunda parte se realizó el 15 de septiembre. Un día antes de establecer el ensayo en el campo se procedió a contar los discos de postura de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* de tal manera que se formaron grupos de 15 huevos. También se pesaron las 10 papas de cada unidad experimental con una balanza analítica al 0,0001 gr. (MINQIAO FA2104N). Luego se prepararon los tratamientos como se indicó anteriormente.

El día de instalación, se armaron las cajas. Luego se hizo la mezcla de las papas y de los tratamientos como fue descrito en el ensayo 1. Posteriormente se

colocaron las papas en el interior de la caja y finalmente los 60 huevos de *T. solanivora* o 60 huevos de *S. plaesiosema*. Este procedimiento se repitió para cada una de las unidades experimentales.

3.2.3.3. Datos registrados

Para evaluar la eficiencia de cada tratamiento, se registraron los siguientes datos.

3.2.3.3.1 Evaluación de la mortalidad de los huevos de las polillas

A los 20 días de instalado el ensayo se procedió a retirar los huevos y llevarlos al Laboratorio de Entomología Aplicada de PUCE. Se revisó los discos de postura y se registró el número de huevos que no eclosionaron con un estereoscopio (ZEISS STEMI SV11; 1,0 X). Los huevos que no eclosionaron se veían achatados y en algunos casos cuando se los manipulaba con un alfiler entomológico fue posible observar las larvas muertas. No se evaluaron los otros estados debido a que al momento de hacer el retiro no se pudieron contar todas las pupas debido a que hubo larvas que salieron de las cajas para empupar.

3.2.3.3.2. Evaluación de la intensidad de daño

Para la evaluación del área de papa dañada en el Ensayo 1, se desarrolló una técnica más precisa y estandarizada a la que actualmente se ha venido utilizando, la que procedemos a describir a continuación:

Primero se cortaron longitudinalmente en 4 partes cada uno de los 10 tubérculos de papa que comprendían la unidad experimental. Luego se precedió a tomar una fotografía digital de la cara en que más daño se observaba de las 4 partes de cada papa, con una cámara Canon Power Shot S40 (4 megapixels). La cámara fue regulada para que trabaje a una velocidad de 1/160 seg. y una apertura de 8, sin flash, con un soporte para mantener fija la cámara y con una caja de luz para evitar las sombras. Como fondo, se utilizaron hojas cuadriculadas (0,5 cm) INEN A4 para tener un referente del tamaño de las papas. Un total de 960 fotos fueron analizadas.

Las fotos fueron exportadas a un computador compatible y editadas con el programa Adobe PhotoShop CS2 (Adobe Systems Incorporated, EEUU). Se utilizó este programa para cambiar las fotos de formato jpg a formato tif (formato necesario para los análisis posteriores), estandarizar el brillo de las fotos y definir algunos márgenes en los bordes de las papas. Luego se escogió las fotos en las que se observaba algún tipo de lesión provocado por la polilla. Con las fotos escogidas se trabajó con el programa SCION IMAGE (www.scioncorp.com/pages/scion_image_windows.htm) para determinar el área total de la papa y el área de daño provocado por la polilla. Con este programa se puede establecer los diferentes tonos de una foto con la función “Threshold”. Como el daño de la polilla es negro y la papa amarilla se puede fácilmente diferenciar estas dos zonas con este programa.

Posteriormente se cuadra la escala de la foto a color en formato tif (figura 3 a) ayudados por la hoja cuadriculada que usamos como fondo en la que conocemos la

escala. Después se procede a trabajar con la foto que está en blanco y negro (figura 3 b) porque la función “Threshold” trabaja solamente con tonos blanco y negro. En esta foto, se escoge la opción “Threshold” (nivel umbral) y se comienza a bajar el contraste hasta que el umbral llegue a 155 (Figura 3c, 3d), el óptimo de contraste entre las zonas dañadas por la polilla y las zonas sanas de la papa. Este paso permite seleccionar las áreas dañadas (en negro en la Figura 3c). Posteriormente se escogió la opción “Analizar partículas” y el programa procede a calcular el área de las zonas señaladas con un numero (Figura 3e). Finalmente se eligió la opción “Mostrar resultados” y aparecen en un recuadro los resultados de las áreas calculadas (Figura 3f). Esta información fue copiada y exportada a una plantilla hecha en Microsoft EXCEL. Este procedimiento se siguió para calcular el área de daño producido por la polilla (Figura 3e, 3f). También se calculó el área total de cada papa (Figura 3g, 3h) para después medir el índice de daño de cada papa.

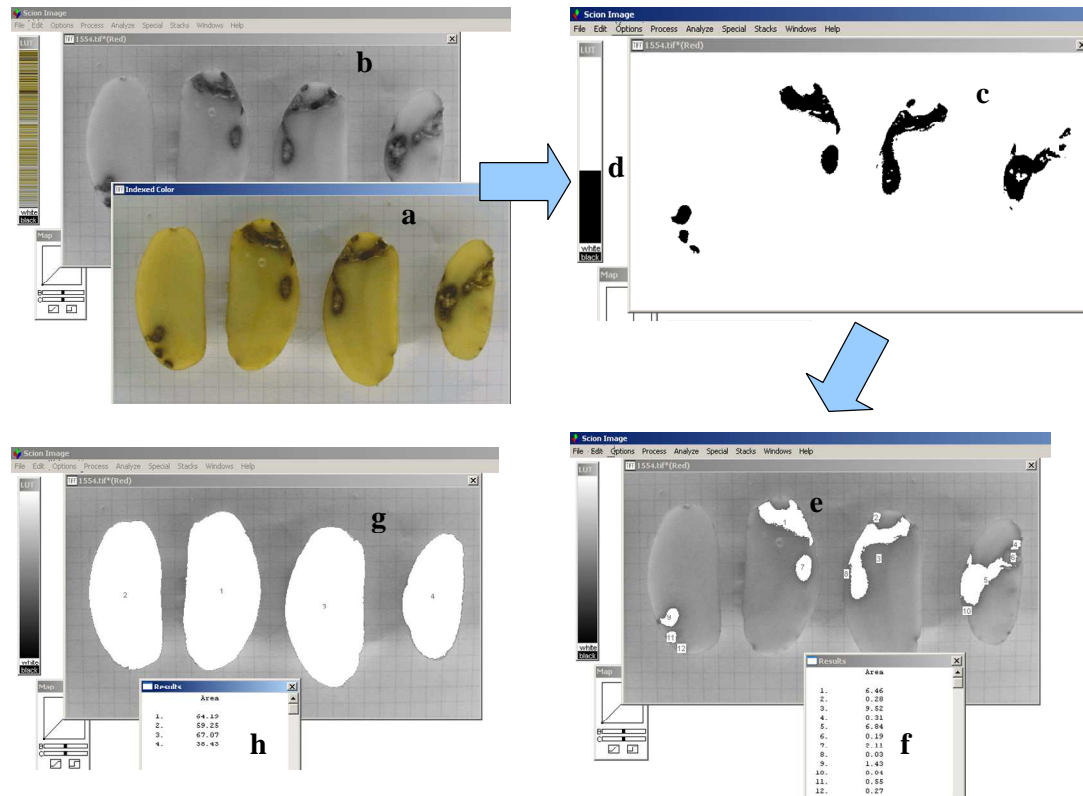


Figura 3. Secuencia seguida durante el manejo de SCION IMAGE. (a) Primera pantalla en donde aparece la papa a color, (b) primera pantalla en donde aparece la foto en blanco y negro, (c) área de la papa dañada después de aplicar el Threshold, (d) sección donde se ubicó el Threshold con el que se va a trabajar, (e) área de la papa dañada calculada, (f) cuadro en la que aparecen los resultados del área calculada, (g) área total de papa calculada, (h) cuadro en la que aparecen los resultados del área calculada

3.2.3.3.2. Evaluación del porcentaje de tubérculos con daño:

El porcentaje de tubérculos con daño o incidencia corresponde al número de papas dañadas en cada unidad experimental. Este dato es importante porque en el mercado cualquier daño que tenga la papa, por pequeño que sea, el tubérculo pierde valor. Para esta evaluación se revisaron las fotos de los 10 tubérculos de la unidad experimental y se registraron las papas que presentaban algún daño. Se consideró como tubérculos dañados por la polilla los que presentaron galerías u orificios de salida de la plaga. La fórmula que se aplicó para el cálculo del porcentaje de incidencia fue la siguiente:

$$\% \text{ de incidencia} = \frac{\text{número de tuberculos dañados}}{\text{número total de tuberculos}} \times 100$$

3.2.3.4. Análisis estadístico

Para medir las diferencias entre los siete tratamientos se hizo un análisis de varianza. Además, con éste análisis se observó si había diferencias de repuestas al tratamiento entre las dos especies de polillas a nivel de papas dañadas y porcentaje de área de papa perdida. Para el análisis, los datos de mortalidad y de intensidad de daño fueron transformados según un arcoseno de la raíz cuadrada. Los análisis fueron llevado a cabo usando el SPSS 15.0. Para los tests post-hoc se usó Tukey. Para la prueba de la eficiencia de los tratamientos se usó dos testigos, uno sin tratamiento y sin polilla y otro sin tratamiento y con polillas.

Para el análisis de las medias del porcentaje de tubérculos con daño y de las medias de la intensidad de daño se hizo un diagrama de caja y bigotes utilizando el programa GRAPHER 4 (ciudad, país). El daño de cada grupo se representa con una caja, tiras que salen de ellas y límites. La altura de cada caja representa la amplitud intercuartil (IQR), en ella está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana; con un círculo se marcan los casos que están a más de 3 IQR's del extremo de la caja, a estos se los denomina casos extremos o atípicos (Outliers) (Camacho, 2006). Para visualizar mejor algunos de los resultados también se hicieron diagramas de frecuencias

IV. RESULTADOS

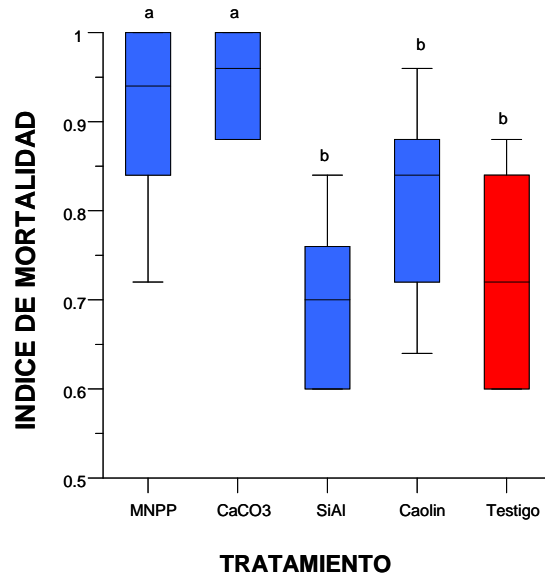
4.1. ENSAYO 1

En este ensayo se evaluó la eficiencia de cuatro talcos (MNPP, CaCO₃, SiAl, Caolin) para encontrar un vehículo o soporte que pudiese acompañar a los virus (Anchilibi, JLZ9F y mezcla Anchilibi + JLZ9F) en la formulación de nuevos biopesticidas.

4.1.1. Índice de mortalidad de *T. solanivora*

4.1.1.1. Índice de mortalidad global (desde huevo a adulto)

Existen diferencias significativas entre tratamientos sobre el índice de mortalidad de *T. solanivora* después de un período de 89 días ($P < 0,05$; Cuadro 2). El índice de mortalidad fue significativamente mayor con el MNPP ($0,91 \pm 0,12$) y el CaCO₃ ($0,95 \pm 0,05$) en relación al testigo (Tukey: $P < 0,05$; Cuadro 3, Figura 4). Los índices obtenidos con el SiAl ($0,70 \pm 0,10$) y el Caolin ($0,81 \pm 0,12$) no mostraron diferencias estadísticas con respecto al testigo ($0,73 \pm 0,14$). El coeficiente de variación fue de 35%



* PRUEBA DE SIGNIFICACIÓN SEGÚN TUKEY

Figura 4. Diagrama de caja y bigotes del índice de mortalidad considerado desde el momento en que se colocaron los huevos hasta el momento en que apareció el último adulto de *T. solanivora* por tratamiento (CaCO₃, MNPP, caolin, SiAl) en un período de 89 días (18 ± 3 °C). En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey, P<0,05; repeticiones = 6; n= 30).

Cuadro 2. Análisis de varianza del efecto de CaCO₃, MNPP, caolin, SiAl, sobre el índice de mortalidad considerado desde el momento en que colocamos los huevos hasta el momento en que apareció el último adulto de *T. solanivora* en un período de 89 días (P<0,05; repeticiones = 6, n= 30, 18 ± 3 °C).

	Suma de Cuadrado	GL	Cuadrado Medio	F	Sig.
Entre Grupos	2531,330	4	632,833	6,389	0,001
Dentro de Grupos	2476,139	25	99,046		
Total	5007,470	29			

Cuadro 3. Pruebas de significación del efecto de CaCO₃, MNPP, caolín, SiAl, sobre el índice de mortalidad de *T. solanivora* en un período de 89 días (Tukey: P<0,05; repeticiones= 6; n= 30, 18 ± 3 °C)

	Tratamiento	N	Subset for alpha = .05		
			1	2	1
Tukey HSD(a)	CaCO ₃	6	10,6016		
	MNPP	6	12,6324		
	Caolin	6	24,6299		24,6299
	Testigo	6			30,8531
	SiAl	6			32,9298
	Sig.			0,137	
Duncan(a)	CaCO ₃	6	10,6016		
	MNPP	6	12,6324		
	Caolin	6			24,6299
	Testigo	6			30,8531
	SiAl	6			32,9298
	Sig.			0,727	

4.1.1.2 Índice de mortalidad por estados

De manera general, se observa que el efecto de los tratamientos sobre la mortalidad de *T. solanivora* depende del estado considerado (Figura 5) y de la interacción tratamiento*estado (Cuadro 4). La mortalidad fue significativamente mayor en el estado de larva ($0,753 \pm 0,126$) que en los estados de huevo ($0,154 \pm 0,096$) y pupa ($0,238 \pm 0,358$) (Tukey: P<0,05; Cuadro 5). Para todos los tratamientos, la mortalidad de los huevos fue baja ($< 0,155 \pm 0,096$) y la de las pupas intermedia ($0,238 \pm 0,358$).

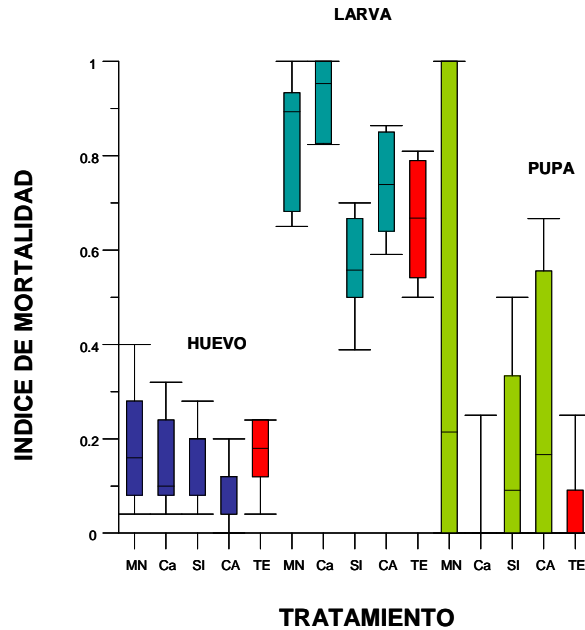


Figura 5. Diagrama de caja y bigote del índice de mortalidad en los estados (huevo, larva, y pupa) de *T. solanivora* por tratamiento (CaCO_3 , MNPP, CAOLIN, SiAl) en un período de 89 días ($18\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$). En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana (6 repeticiones por tratamiento; 30 individuos en cada repetición)

Cuadro 4. Análisis de varianza (ANOVA de dos vías) del efecto de CaCO_3 , MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre el índice de mortalidad en los diferentes estados de *T. solanivora* en un período de 89 días ($P < 0,05$; repeticiones = 6, $n = 30$, $18\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$)

ORIGEN	Tipo III Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F	Sig
Model	323927,446(a)	15	21595,163	79,651	0,000
TRATAMIENTO	2447,558	4	611,889	2,257	0,071
ESTADO	35234,113	2	17617,056	64,978	0,000
TRATAMIENTO * ESTADO	5037,233	8	629,654	2,322	0,028
Error	20334,260	75	271,123		
Total	344261,706	90			

Cuadro 5. Pruebas de significación del estado (huevo, larva, pupa) sobre el índice de mortalidad de *T. solanivora* en un período de 89 días (Tukey, HSD, Duncan: $P < 0,05$; repeticiones = 6; $n = 30$, $18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$).

	ESTADO	N	Subconjunto	
			1	2
Tukey HSD(a,b)	Larva	30	27,9801	
	Huevo	30		68,2147
	Pupa	30		71,4980
	Sig.		1,000	0,721
Duncan(a,b)	Larva	30	27,9801	
	Huevo	30		68,2147
	Pupa	30		71,4980
	Sig.		1,000	0,442

Con respecto al estado de larva de *T. solanivora*, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos sobre el índice de mortalidad ($P < 0,05$; Cuadro 6). En este estado el tratamiento que mayor índice de mortalidad causó fue el CaCO_3 ($0,926 \pm 0,081$) y el tratamiento en donde se encontró menor índice de mortalidad fue el SiAl ($0,601 \pm 0,149$) (Figura 5). No hubo diferencias significativas del CaCO_3 con el Caolín y el MNPP (Tukey: $P < 0,05$; Cuadro 7).

Cuadro 6. Análisis de varianza del efecto de CaCO_3 , MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre el índice de mortalidad larval de *T. solanivora* ($P < 0,05$; repeticiones = 6; $n = 30$, $18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$).

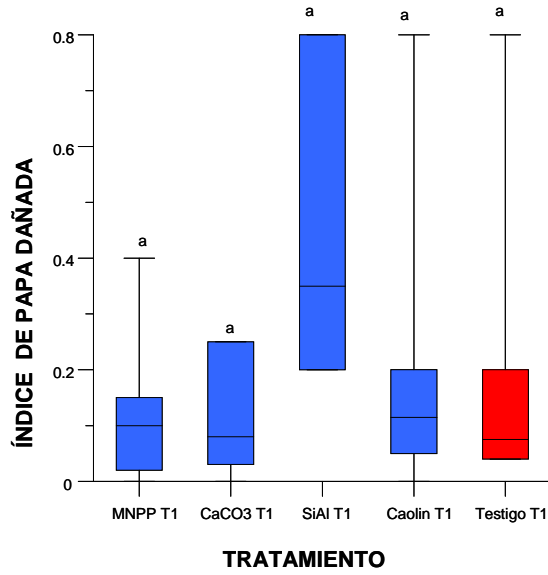
	Suma de Cuadrado	GL	Cuadrado Medio	F	Sig.
Entre Grupos	3,168	4	0,792	4,575	0,007
Dentro de Grupos	4,328	25	0,173		
Total	7,496	29			

Cuadro 7. Pruebas de significación del efecto de CaCO₃, MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre el índice de mortalidad larval de *T. solanivora* en un período de 89 días (Tukey, HSD, Duncan: P<0,05; repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C).

	TRATAMIENTOS	N	Subset for alpha = ,05			
			1	2	3	1
Tukey HSD(a)	SiAl	6	3,5217			
	Testigo	6	3,6817			
	Caolin	6	4,0550	4,0550		
	MNPP	6	4,1033	4,1033		
	CaCO ₃	6		4,4383		
	Sig.			,143	,514	
Duncan(a)	SiAl	6	3,5217			
	Testigo	6	3,6817	3,6817		
	Caolin	6		4,0550	4,0550	
	MNPP	6		4,1033	4,1033	
	CaCO ₃	6			4,4383	
	Sig.		0,511	0,108	0,143	

4.1.2. Intensidad de daño en papa

Debido a altas variancias en la medida de la intensidad de daño, no se encontró efecto significativo del MNPP, del CaCO₃, del SiAl, ni del Caolín sobre el porcentaje de papa dañada por *T. solanivora* (P < 0,05; Cuadro 8). Los resultados obtenidos en todos los tratamientos no fueron significativamente diferentes al testigo (Figura 6). Sin embargo se pudo observar que el CaCO₃ fue el tratamiento con el que se tuvo los menores valores de papas dañadas.



* PRUEBA DE SIGNIFICACION SEGÚN TUKEY

Figura 6. Diagrama de caja y bigotes del índice de papa dañada por tratamiento (MNPP, CaCO₃, SiAl, Caolin) contra *T. solanivora* en un período de 89 días. En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey P<0,05; repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C).

Cuadro 8. Análisis de varianza del efecto de CaCO₃, MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre el índice de daño de *T. solanivora* en un período de 89 días (P<0,05; repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C)

	Suma de Cuadrado	GL	Cuadrado Medio	F	Sig.
Entre Grupos	2490,836	4	622,709	2,013	0,125
Dentro de Grupos	7422,557	24	309,273		
Total	9913,393	28			

4.1.3. Cantidad de papa consumida y tasa de consumo

4.1.3.1. Consumo total

Se encontró diferencias significativas para tratamientos sobre la cantidad de papa consumida por las larvas de *T. solanivora* ($P < 0,05$; Cuadro 9). La pérdida de masa consumida fue significativamente más baja con el CaCO_3 ($1,13 \pm 1,33\text{g}$) que con los otros tratamientos (Figura 7). Con el MNPP ($2,77 \pm 2,66\text{g}$), el SiAl ($7,23 \pm 2,92\text{g}$) y el Caolin ($2,97 \pm 3,23\text{g}$) se obtuvieron pérdidas no significativamente diferentes a los del testigo ($5,55 \pm 3,71\text{g}$), estadísticamente no diferentes (Tukey: $P < 0,05$; Cuadro 10).

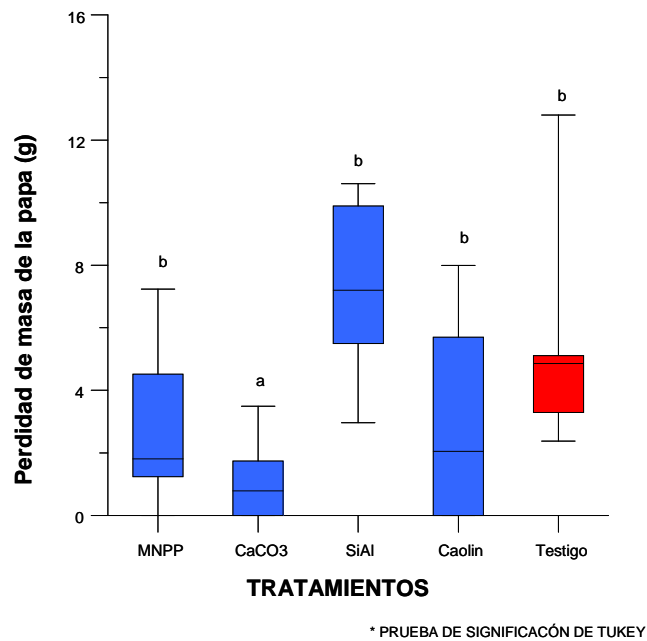


Figura 7. Diagrama de caja y bigotes de la pérdida de masa en gramos por tratamiento (CaCO_3 , MNPP, CAOLIN, SiAl) contra las larvas de *T. solanivora*. En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0,05$; repeticiones = 6; $n = 30$, $18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$).

Cuadro 9. Análisis de varianza del efecto de CaCO₃, MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre la cantidad de papa consumida por *T. solanivora* en un período de 89 días (P<0,05; repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C)

	Suma de Cuadrado	GL	Cuadrado Medio	F	Sig.
Entre Grupos	141,393	4	35,348	4,249	0,009
Dentro de Grupos	208,003	25	8,320		
Total	349,396	29			

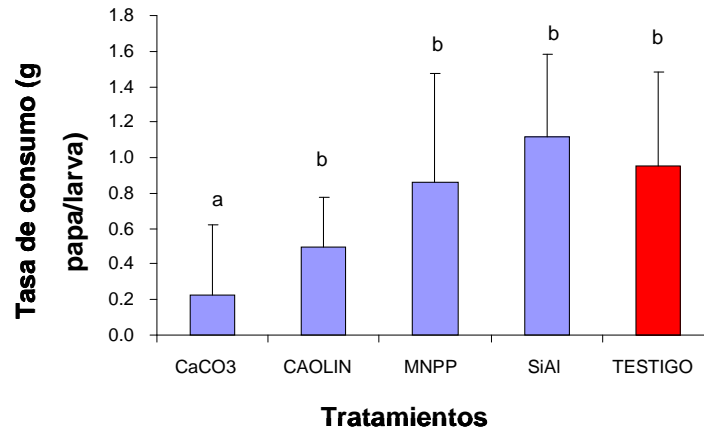
Cuadro 10. Pruebas de significación del efecto de CaCO₃, MNPP, CAOLIN, SiAl, sobre la cantidad de papa consumida por *T. solanivora* en un período de 89 días (Tukey, HSD, Duncan P<0,05; repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C)

	Tratamientos	N	Subset for alpha = .05			
			1	2	3	1
Tukey HSD(a)	CaCO ₃	6	1,1350			
	MNPP	6	2,7683	2,7683		
	Caolin	6	2,9667	2,9667		
	Testigo	6	5,5483	5,5483		
	SiAl	6			7,2250	
	Sig.			,091	0,087	
Duncan(a)	CaCO ₃	6	1,1350			
	MNPP	6	2,7683	2,7683		
	Caolin	6	2,9667	2,9667		
	Testigo	6			5,5483	5,5483
	SiAl	6				7,2250
	Sig.			0,309	0,126	0,324

4.1.3.2. Tasa de consumo

La tasa de consumo, es decir cantidad en gramos de papa consumida por larva, nos da información del efecto de los tratamientos sobre la actividad de consumo de cada larva (es decir sin tomar en cuenta la mortalidad). Esta tasa fue más baja con el CaCO₃ (0,23 ± 0,28 g/larva) y el Caolin (0,49 ± 0,47 g/larva) que en los tratamientos con el MNPP (0,86 ± 0,39 g/larva) y el SiAl (1,12 ± 0,61

g/larva) que tuvieron valores no significativamente diferente al testigo ($0,95 \pm 0,53$ g/larva) (Figura 8).



* Prueba de significación de Tukey

Figura 8. Tasa de consumo en gramos de papa/larva de *T. solanivora* por tratamiento (CaCO₃, MNPP, CAOLIN, SiAl) (repeticiones = 6; n= 30, 18 °C ± 3 °C).

4.2. ENSAYO 2

En este ensayo se evaluó la eficiencia de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, mezcla Anchilibi + JLZ9F, PhopGV), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) en el control de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega.

4.2.1. Evaluación de la mortalidad de huevos de *S. plaesiosema* y *T. solanivora*

El índice de mortalidad de los huevos colocados al inicio del ensayo y revisados luego de 20 días, fue bajo en *S. plaesiosema* ($0,07 \pm 0,08$) y en *T. solanivora* ($0,06 \pm 0,06$).

4.2.2. Evaluación de la incidencia de daño (frecuencia de papa dañada)

Se encontró diferencias significativas entre los tratamientos sobre la incidencia de daño de papa por cada una de las dos especies de polillas ($P < 0,05$; Figura 9). No se halló diferencias significativas de intensidad de daño entre especies, ni en la interacción especie*tratamiento (Cuadro 11).

El índice de daño de papa por las dos especies fue significativamente menor con el PhopGV comercial (Figura 9A: $0,15 \pm 0,23$; 9B: $0,17 \pm 0,19$), el Malathion

(Figura 9A: $0,05 \pm 0,08$; 9B: $0,08 \pm 0,16$) y el talco (Carbonato de Calcio) (Figura 9A: $0,15 \pm 0,32$; 9B: $0,08 \pm 0,16$) en comparación con el testigo sin tratamiento (Tukey: $P < 0,05$; Cuadro 12). Estos tres tratamientos no fueron significativamente diferentes del control sin polilla (Cuadro 12). Con el Anchilibi (Figura 9A: $0,60 \pm 0,23$; 9B: $0,68 \pm 0,18$), el PhopGV JLZ9F (Figura 9A: $0,62 \pm 0,19$; 9B: $0,72 \pm 0,15$) y el Mixto Anchilibi + PhopGV JLZ9F (Figura 6A: $0,58 \pm 0,26$; 9B: $0,72 \pm 0,19$) se obtienen resultados no significativamente diferentes al testigo sin tratamiento (Figura 9A: $0,77 \pm 0,08$; 9B: $0,72 \pm 0,26$) (Prueba de Tukey, $P < 0,05$).

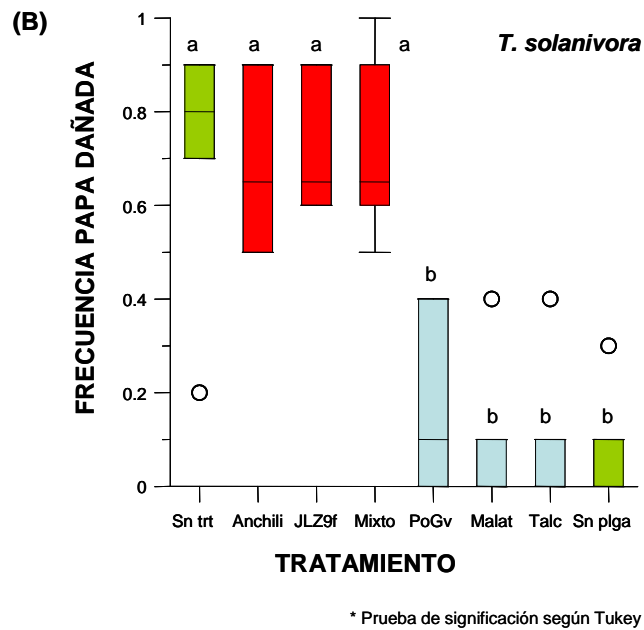
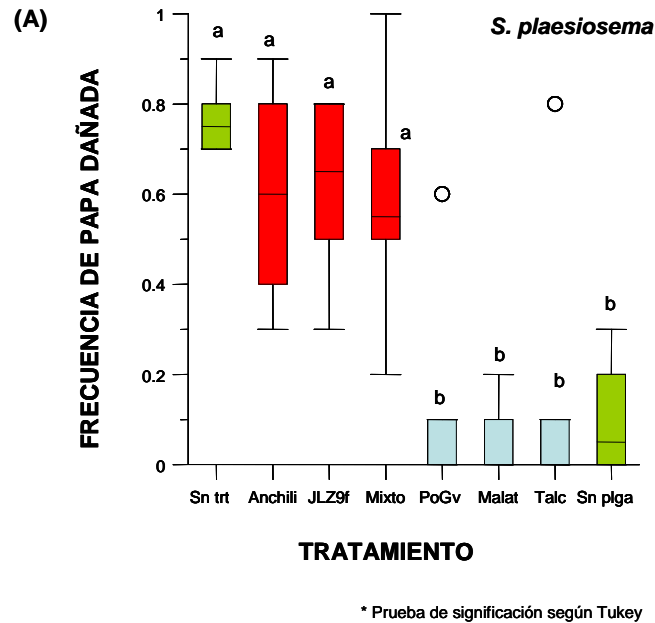


Figura 9. Diagrama de caja y bigotes de la frecuencia de papa dañada por tratamiento contra: (A) *S. plaesiosema* y (B) *T. solanivora*. En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana; con un círculo se marcan los casos atípicos. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey: $P < 0,05$; repeticiones = 6; $n = 48$).

Cuadro 11. Análisis de varianza del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el índice de daño de papa de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey: $P < 0,05$; repeticiones = 6; n = 96).

Origen	Tipo III Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo Corregido	46695,089(a)	15	3113,006	12,426	0,000
Intercept	291938,081	1	291938,081	1165,341	0,000
ESPECIE	136,905	1	136,905	0,546	0,462
TRATAMIENTO	46167,860	7	6595,409	26,327	0,000
ESPECIE * TRATAMIENTO	390,324	7	55,761	0,223	0,979
Error	20041,389	80	250,517		
Total	358674,558	96			
Total Corregido	66736,478	95			

Cuadro 12. Pruebas de significación del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción pasiva (carbonato de calcio) sobre el índice de daño de papa de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega (Tukey, HSD, Duncan: $P < 0,05$; repeticiones = 6; n = 96).

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto		
			1	2	
Tukey HSD(a,b)	Sn trt	12	29,8203		
	Mixto	12	33,4155		
	JLZ9F	12	34,5947		
	Anchi	12	35,8611		
	PhopGV	12		71,5495	
	Sn plga	12		76,1061	
	Talc	12		78,3720	
	Malat	12		81,4445	
	Sig.			0,982	0,788
	Duncan(a,b)	Sn trt	12	29,8203	
Mixto		12	33,4155		
JLZ9F		12	34,5947		
Anchi		12	35,8611		
PhopGV		12		71,5495	
Sn plga		12		76,1061	
Talc		12		78,3720	
Malat		12		81,4445	
Sig.				0,402	0,168

4.2.3. Evaluación del porcentaje de área de tubérculos con daño

Se encontraron diferencias significativas entre las especies, entre los tratamientos y en la interacción “especie * tratamiento” del efecto de los seis tratamientos sobre el porcentaje de área de daño de papa causado por las dos especies de polillas ($P < 0,05$; Cuadro 13). El coeficiente de variación fue de 5,6%

El porcentaje de área dañada de papa por *T. solanivora* y *S. plaesiosema* fue significativamente menor con el PhopGV comercial (Figura 10A: $0,0112 \pm 0,0156$; 10B: $0,014 \pm 0,014$), el Malathion (Figura 10A: $0,0004 \pm 0,0006$; 10B: $0,004 \pm 0,009$) y el talco (Carbonato de Calcio) (Figura 10A: $0,0277 \pm 0,0621$; 10B: $0,004 \pm 0,008$) que con el testigo sin tratamiento (Tukey: $P < 0,05$; Cuadro 14). Estos tres tratamientos no fueron significativamente diferentes del control sin polilla (Cuadro 14). Con el Anchilibi (Figura 10A: $0,0728 \pm 0,0430$; 10B: $0,207 \pm 0,081$), el PhopGV JLZ9F (Figura 10A: $0,0493 \pm 0,0292$; 10B: $0,166 \pm 0,019$) y el Mixto (Figura 10A: $0,0529 \pm 0,0357$; 10B: $0,155 \pm 0,059$) los valores obtenidos no fueron estadísticamente diferentes al del testigo sin tratamiento (Figura 10A: $0,0978 \pm 0,0449$; 10B: $0,125 \pm 0,062$).

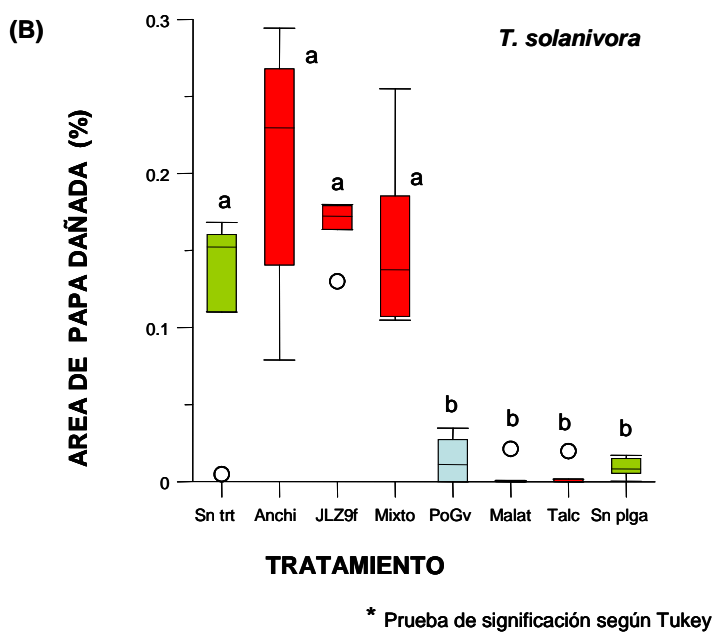
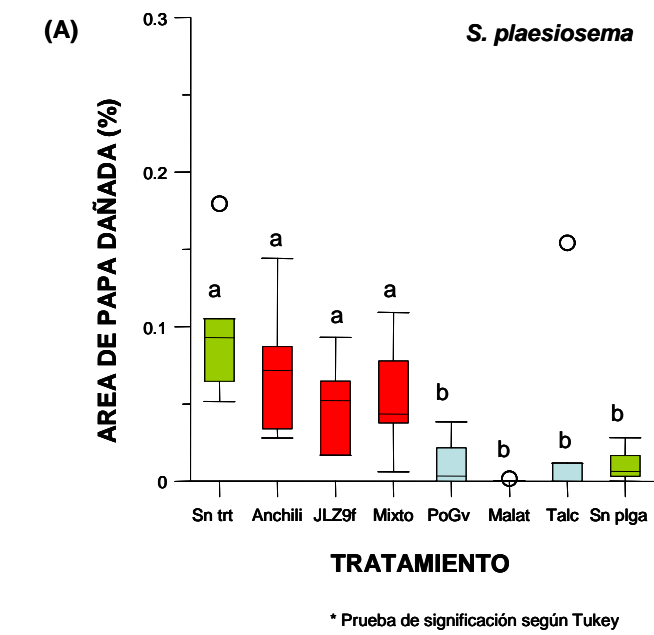


Figura 10. Diagrama de caja y bigotes del índice de área de papa dañada por tratamiento contra: (A) *S. plaesiosema* y (B) *T. solanivora* . En la caja está representada el 50% de la muestra; el borde superior de la caja es el percentil 75; el borde inferior representa el percentil 25; la línea central de la caja es la mediana; con un círculo se marcan los casos atípicos. Las cajas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey: $P < 0,05$; repeticiones = 6; $n = 48$).

Cuadro 13. Análisis de varianza del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el porcentaje de área de daño de papa de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega (P<0,05; repeticiones = 6; n= 96).

Origen		Tipo III Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	F	Sig.
ESPECIE	Hipotesis	437,103	1	437,103	22,494	0,000
	Error	1457,386	75	19,432(a)		
TRATAMIENTO	Hipotesis	5607,311	7	801,044	41,223	0,000
	Error	1457,386	75	19,432(a)		
REPETICION	Hipotesis	340,969	5	68,194	3,509	0,007
	Error	1457,386	75	19,432(a)		
ESPECIE * TRATAMIENTO	Hipotesis	735,868	7	105,124	5,410	0,000
	Error	1457,386	75	19,432(a)		

Cuadro 14. Pruebas de significación del efecto de cuatro formulaciones biológicas (Anchilibi, JLZ9F, Anchilibi + JLZ9F, PhopGV comercial), una formulación química (Malathion) y una formulación de acción física (carbonato de calcio) sobre el porcentaje del área de daño de papa de de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en bodega (Tukey, HSD, Duncan: P<0,05; repeticiones = 6; n= 96).

	TRATAMIENTO	N	Subconjunto		
			1	2	
Tukey HSD(a,b)	Anchi	12	69,1454		
	Sn trt	12	71,2963		
	JLZ9F	12	71,8347		
	Mixto	12	72,3002		
	PhopGV	12		84,9236	
	Sn plga	12		85,0214	
	Talc	12		86,3086	
	Malat	12		88,5237	
	Sig.			0,653	0,489
	Duncan(a,b)	Anchi	12	69,1454	
Sn trt		12	71,2963		
JLZ9F		12	71,8347		
Mixto		12	72,3002		
PhopGV		12		84,9236	
Sn plga		12		85,0214	
Talc		12		86,3086	
Malat		12		88,5237	
Sig.				0,114	0,071

Otra información que se pudo obtener de este ensayo es la probabilidad de daño en papas almacenadas y atacadas por *S. plaesiosema* (Figura 13) o por *T. solanivora* (ver Figura 14) siendo menor con el PhopGV comercial, el Malathion y el talco CaCO_3 . Hay una marcada diferencia de estos tres tratamientos con el testigo sin tratamiento.

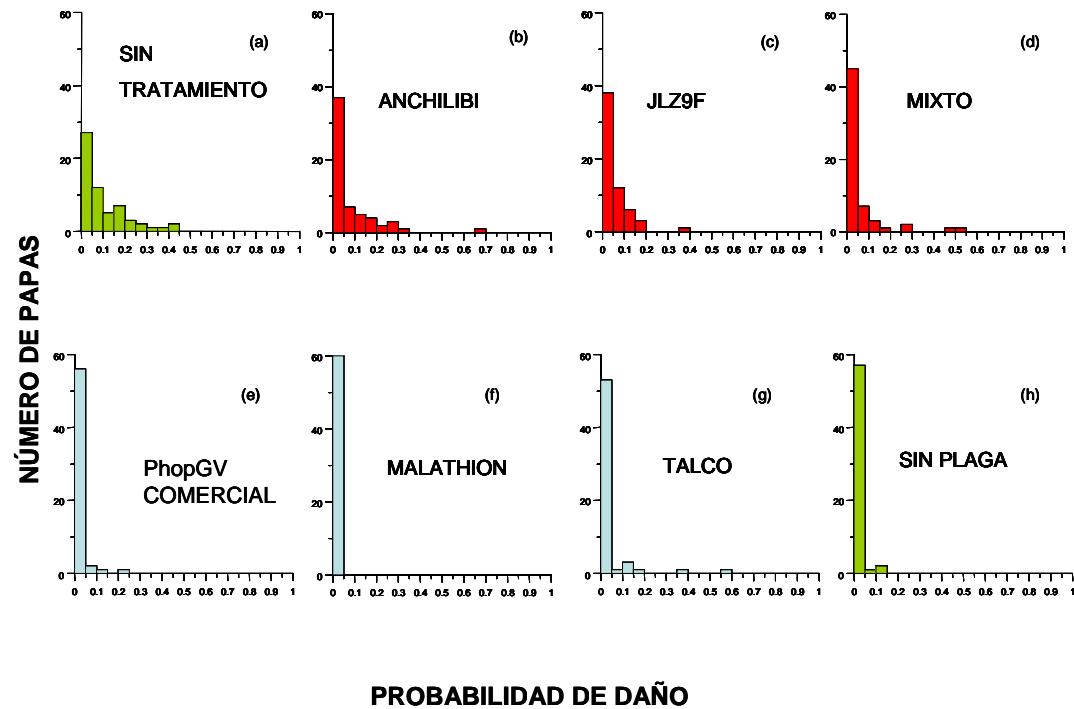


Figura 11. Probabilidad de daño de papas por *S. plaiossema* al ser almacenadas en bodega: (a) sin tratamiento (repeticiones= 6; n= 60), (b) sin tratamiento y sin plaga (repeticiones= 6; n= 60)); con cuatro formulaciones biológicas: (b) Anchilibi (repeticiones= 6; n= 60), (c) PhopGV JLZ9F (repeticiones= 6; n= 60), (d) Mixto: Anchilibi + JLZ9F (repeticiones= 6; n= 60), (e) PhopGV comercial (repeticiones= 6; n= 60); con una formulación de acción química: (f) Malathion (repeticiones= 6; n= 60) y con una formulación de acción física: (g) carbonato de calcio (repeticiones= 6; n= 60).

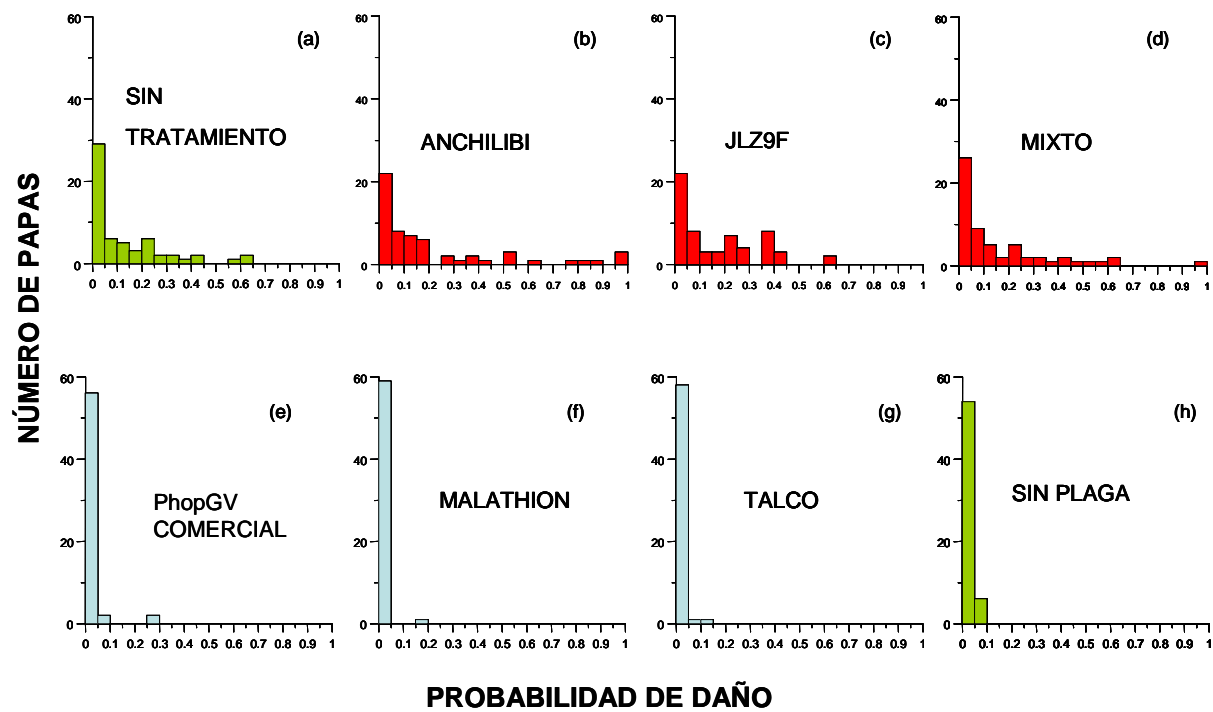


Figura 12. Probabilidad de daño de papas por *T. solanivora* al ser almacenadas en bodega: (a) sin Tratamiento (repeticiones= 6; n= 60), (b) sin tratamiento y sin plaga (repeticiones= 6; n= 60); con cuatro formulaciones biológicas: (b) Anchilibi (repeticiones= 6; n= 60), (c) PhopGV JLZ9F (repeticiones= 6; n= 60), (d) Mixto Anchilibi + JLZ9F (repeticiones= 6; n= 60), (e) PhopGV comercial (repeticiones= 6; n= 60); con una formulación de acción química: (f) Malathion (repeticiones= 6; n= 60) y con una formulación de acción física: (g) carbonato de calcio (repeticiones= 6; n= 60).

V. DISCUSIÓN

5.1. INNOVACIONES METODOLÓGICAS DE LA TESIS

El daño interno de la papa o porcentaje de daño ha sido uno de los parámetros utilizados desde hace años por los investigadores y extensionistas para evaluar la eficiencia de diferentes controles de tipo químico, físico o biológico sobre la polilla de la papa (*T. solanivora*, *S. plaesiosema* y *P. operculella*) (Mena, 2004; Gallegos, 2003; Mamani y col., 1997).

Para este tipo de evaluación se han estado utilizando escalas arbitrarias como la propuesta por Arias y col. (1996), quienes recomiendan que el tubérculo sea partido en cuatro partes iguales, cada parte representa un 25% y dentro de esta fracción, de acuerdo al área afectada se estima la intensidad del daño. La sumatoria de daño de cada parte representa la intensidad total del daño de la papa.

Una escala similar fue utilizada por Murcia y Barreto (1997) durante el análisis comparativo de cuatro métodos de almacenamiento de semilla de papa llevado a cabo en Colombia. El problema con este tipo de evaluación es que se lo venía haciendo de una manera totalmente subjetiva. Según la metodología propuesta, el investigador toma cada una de las cuatro partes y propone el porcentaje de daño según su criterio, lo que puede hacer que muchas veces el porcentaje no coincida si el mismo tubérculo es evaluado por dos personas diferentes.

Lo que se ha propuesto en esta investigación es una innovación metodológica mediante la utilización de herramientas tecnológicas que están a nuestra mano (como son los software Adobe PhotoShop CS2 y SCION IMAGE) que nos permiten tener mediciones objetivas y más precisas del porcentaje de área de papa dañada. Al utilizar estas herramientas nos aseguramos que aunque dos o más personas diferentes evalúen un mismo tubérculo siempre lleguen al mismo valor final. De esta manera se elimina el criterio personal que puede hacer que se cometan errores y se puede llegar a realizar una cuantificación más fina del daño y consecuentemente análisis estadísticos más robustos de los datos.

El SCION IMAGE es utilizado para realizar análisis digital de imágenes y ha sido usado en una variedad de novedosos métodos de investigación en agricultura aplicada, como: medir el área de las hojas, la defoliación y el impacto de insectos fitófagos sobre las hojas (O'Neal y col., 2002; Johnson 2001); medir el porcentaje de cobertura de plagas invasivas (Auker y Oviatt, 2007); senescencia de las hojas (Lee y col., 2003; Feild y col., 2001), estatus del nutriente foliar (Buscaglia y Varco, 2002), pero no había sido utilizado anteriormente para estudios relacionados con la papa y más específicamente para análisis de daños provocados por la polilla.

5.2. POLVOS INERTES COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE *T. solanivora* y *S. plaesiosema*

Existe bastante información que describe la importancia del efecto insecticida de los polvos inertes como un producto eficiente para ayudar a proteger los productos almacenados (Stathers y col., 2004; Golob, 1997). Por varios factores

estos no han sido utilizados extensivamente por los productores que han continuado con el uso de productos químicos; pero en los últimos años los consumidores están exigiendo productos libres de residuos, que ha hecho que los polvos inertes comiencen a recibir más atención (Arthur, 1996). A diferencia del efecto neurotóxico de los insecticidas de contacto (químicos) que inmovilizan y matan rápidamente a los insectos, los polvos inertes tienen un efecto progresivo (Golob, 1997). Los polvos inertes exhiben sus efectos lentamente a través de varios mecanismos que resultan en la deshidratación, por la adsorción de lípidos en la cutícula; y menos importante, por abrasión (Vincent y col., 2003).

De los polvos inertes evaluados el CaCO_3 mostró ser el más eficiente para controlar *T. solanivora*. El CaCO_3 provocó la mortalidad más alta en el estado de larvas ($95\% \pm 5\%$ de mortalidad) (Cuadro 2), la menor pérdida de masa en gramos por ataque de *T. solanivora* (Figura 7) y la menor tasa de consumo (gr papa / larva) (Ver figura 5). Sin embargo los resultados obtenidos con la diatomita MNPP ($91\% \pm 12\%$ de mortalidad) nos dan señales de que es un polvo inerte que no debe ser descartado y que merece ser tomado en cuenta dentro de un programa de protección.

El CaCO_3 en comparación con el control químico (Malathion 10%, Ecuaquímica), los controles biológicos (PhoGV comercial, Corpoica; PhoGV JLZ9F, PUCE; Anchilibi, PUCE; PhoGV JLZ9F + Anchilibi, PUCE), resultó ser satisfactoriamente eficiente para el control de *T. solanivora* y *S. plaesiosema*, no presentando diferencias estadísticas con el control químico (Malathion 10%, Ecuaquímica). Cabe señalar que todos los productos fueron aplicados a la misma dosis, cinco Kg de producto / una tonelada métrica de papa. Esto es importante

recalcar debido a que para otros productos almacenados diferentes a la papa se habla de que se requiere de altas cantidades de polvo inerte para provocar la mortalidad de la plaga (Arthur, 1996)

Dentro de las ventajas que presenta el CaCO_3 tenemos: el bajo costo (\$0,80/libra), la facilidad de obtener el producto (se lo puede adquirir en cualquier almacén agropecuario o ferretería del país), el no provocar impacto ambiental alguno (excepto por el impacto causado al momento de extraer el polvo del suelo) y el hecho de que no causa problemas de salud a los productores que lo usan (cosa que no ocurre con la diatomita que es otro polvo usado para el control de plagas en bodega (Golob,1997). Dentro de las desventajas que existen está el hecho de que a mayor humedad menor es la efectividad como insecticida (Golob, 1997); la baja efectividad del producto 120 días después de aplicado, se debe a que los brotes que se forman en el tubérculo durante ese período quedan expuestos al ataque de las polillas (Das y Rahman, 1997; Raman y col., 1987).

El CaCO_3 se presenta como un producto alternativo interesante que debería ser tomado en cuenta dentro de los programas de manejo integrado de plagas dentro de los almacenes, tomando en cuenta que en Ecuador el período promedio de almacenamiento de papa para semilla llega a los 50 días y el período máximo de almacenamiento llega a los 90 días (Fausto Yumisaca, com. pers.).

5.3. EFICIENCIA DE LOS NUEVOS VIRUS EN COMPARACIÓN CON LOS YA EXISTENTES

Una de las ventajas de la biotecnología agrícola ha sido el impulso de los biopesticidas que tienen por objeto proteger al ambiente y mejorar la calidad de los alimentos (Tamez y col., 2001). En los últimos años los investigadores se han centrado en el estudio del PhopGV como el control promisorio de la polilla de la papa (J.L Zeddám, com. pers.), y es aquí en donde radica la importancia de la investigación que se está realizando actualmente en el país.

Las nuevas formulaciones biológicas (PhopGV JLZ9F, PUCE; Anchilibi, PUCE; PhopGV JLZ9F + Anchilibi, PUCE), no resultaron ser eficientes para controlar el ataque de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en papa almacenada; estas no presentaron diferencias estadísticas significativas con relación al testigo sin tratamiento, en cuanto a la incidencia del daño, ni al porcentaje de área dañada por las polillas. Estos resultados contrastan con los obtenidos durante los ensayos realizados en la fase de laboratorio en donde se pudo constatar la eficiencia de estos virus (Chevasco, 2006; Orbe, 2006; Rebaudo, 2006).

Estos resultados se pueden explicar debido a que existió una reacción no deseada del CaCO_3 con el buffer (Tris, producto utilizado para proteger a los virus PhopGV JLZ9F y Anchilibi) que provocó un cambio en las características físicas del talco que afectó su capacidad de adherirse a las papas (J. L. Zeddám, com. pers.; Santillán, A., datos no publicados). De otra manera no se puede explicar que los

biopesticidas formulados con CaCO_3 como vehículo hayan sido menos eficientes que el CaCO_3 solo.

Los tratamientos que fueron más eficientes para el control de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* son: el biopesticida comercial (PhopGV, Corpoica), el control químico (Malathion 10%, Ecuaquímica) y el control físico (CaCO_3). Los resultados obtenidos con estos tres controles durante esta investigación son similares a los obtenidos en otras investigaciones realizadas durante los últimos 15 años (Niño de Gualdrón y Notz, 2000; Das y col, 1992)

El biopesticida comercial (PhopGV, Corpoica) demostró ser tan eficiente como el control químico (Malathion 10%, Ecuaquímica) y el control físico (CaCO_3); con la diferencia de que el primero, al tener en su formulación un entomopatógeno puede reproducirse y mantenerse en la naturaleza después de ser liberado (Tamez y col., 2001; Subramanyam y Hagstrum, 1996). Esto es una indicación de que los biopesticidas pueden llegar a funcionar pero que se debe trabajar más en su formulación.

El control biológico ciertamente no es la panacea para el control de plagas de productos almacenados pero está llegando a ser una parte importante dentro de un programa de manejo integrado de insectos de productos almacenados (Subramanyam y Hagstrum, 1996).

VI. CONCLUSIONES

La hipótesis planteada al inicio de la investigación de que la formulación del virus Anchilibi mostraría ser más eficiente en el control de las polillas que los otros tratamientos se rechaza. Las nuevas formulaciones biológicas (Anchilibi, PhopGV JLZ9F, PhopGV JLZ9F + Anchilibi), no mostraron la eficiencia esperada para controlar el ataque de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* en papa almacenada; estas no presentaron diferencias estadísticas significativas con relación al testigo sin tratamiento.

De los polvos inertes evaluados el CaCO_3 mostró ser el más eficiente para controlar *T. solanivora*, debido a que provocó la mortalidad más alta en el estado de larvas, la menor pérdida de masa en gramos por ataque de *T. solanivora* y la menor tasa de consumo.

Los tratamientos que fueron más eficientes para el control de *T. solanivora* y *S. plaesiosema* son: el biopesticida comercial (PhopGV, Corpoica), el control químico (Malathion 10%, Ecuaquímica) y el control físico (CaCO_3).

Se ha podido constatar que el área del tubérculo cubierta por el talco es un parámetro muy importante y que no debe ser descuidado en el momento de realizar la formulación del producto final. Esto lo podemos demostrar con los resultados del ensayo 1, los talcos que proporcionaron una mejor cobertura del tubérculo (MNPP y CaCO_3) fueron más eficientes para el control de *T. solanivora*.

VII. RECOMENDACIONES

- En los próximos estudios donde se evalúe daño producido por la polilla se recomienda utilizar la metodología propuesta para este estudio.
- Dentro de las recomendaciones que se dan a los productores en un programa de manejo integrado para controlar a las polillas durante la etapa de almacenamiento se debería incorporar al CaCO_3 , ya que los productores ecuatorianos no almacenan la papa por un período mayor de dos meses y los resultados demostraron que estadísticamente no es diferente al tratamiento químico ni al tratamiento biológico.
- A pesar de que la formulación de los nuevos biopesticidas no funcionaron, se recomienda seguir trabajando en ellos por los beneficios que se avizoran a largo plazo dentro de un programa de manejo integrado, debido a la persistencia del entomopatógeno en el ambiente.
- En los próximos estudios que se realicen se deben hacer ensayos para evaluar la eficiencia a largo plazo de las medidas existentes para controlar *Tecia solanivora* y *S. plaesiosema*.

VIII. RESÚMEN

El complejo de la polilla de la papa (Lepidoptera Gelechiidae), constituido por *Phthorimaea operculella*, *Tecia solanivora* y *Symmetrischema plaesiosema* constituyen en un grave problema para los papicultores ya que causan una indiscriminada aplicación de plaguicidas que afectan la salud de los productores, pérdidas económicas directas al agricultor y la consecuente reducción de su calidad de vida. Las pérdidas reales y potenciales causadas por la plaga en Colombia, Ecuador y Perú bordean los 150 millones de dólares anuales.

La presente investigación se llevó a cabo en una bodega del cantón Salcedo de la provincia de Cotopaxi. Se evaluaron cuatro formulaciones de tipo biológico: tres formulaciones virales nuevas (Anchilibi, PhopGV JLZ9F y Anchilibi + PhopGV JLZ9F), y otra ya existente en el mercado (PhopGV, CORPOICA); una formulación química (Malathion 10%, Ecuaquímica) y un tratamiento físico (CaCO_3)

Las tres nuevas formulaciones no dieron los resultados esperados, pero como productos relevantes de esta investigación se desarrolló una nueva metodología para la evaluación del porcentaje de daño de la papa atacada por *Tecia solanivora* y *Symmetrischema plaesiosema*, además se demostró que con el CaCO_3 se obtienen resultados estadísticos similares a los que se obtienen con el Malathión y con el PhopGV, por lo que se lo debería introducir dentro de las recomendaciones que dan los técnicos en un programa de manejo en papa almacenada. A pesar de que las nuevas formulaciones no protegieron de manera satisfactoria se debe continuar con

las investigaciones por el beneficio a los productores y del ambiente que se puede alcanzar a largo plazo.

IX. SUMMARY

The complex of the potato moth (Lepidoptera Gelechiidae), constituted by *Phthorimaea operculella*, *Tecia solanivora* and *Symmetrischema plaesiosema*, is considered a serious problem for the potato farmers mainly because it requires an indiscriminate pesticide application which affects farmers health and produces a direct economic loss and the consequent reduction of their quality of life. The real economic loss caused by the plague in Colombia, Ecuador and Peru is around 150 million dollars per year.

This research was carried out in a cellar of the Canton Salcedo, Cotopaxi province. Four biological formulations were evaluated along with one chemical (Malathion 10%, Ecuaquímica) and one physical treatment (CaCO₃). The biological treatments consisted on viral formulations: three new (Anchilibi, PhopGV JLZ9F and Anchilibi + PhopGV JLZ9F) and one already available in markets (PhopGV, CORPOICA).

The three new viral formulations were not an effective treatment to diminish the negative effects produced by potato moths as it was expected. Meanwhile, CaCO₃ treatment produced similar statistical results as Malathión and PhopGV, which make it a valuable tool that should be included in the general recommendations given by technicians to manage stored potato. This research also generated information about a new methodology to quantify the damage produced by *Tecia solanivora* y *Symmetrischema plaesiosema*. Although, new formulations were

not efficient as plagicides, research about this topic should continue due to the several benefits it might produce to the potato farmers and the environment.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Andrew, R.; Barea, O.; Bejarano, C.; Calderón, R.; Cervantes, E.; Herbas, J. 1999. Biología y comportamiento de la polilla de la papa *Symmetrischema plaesiosema*. Bolivia. Fundación PROINPA. Ficha Técnica No. 2, 5 p.
- Arias, J.; Jaramillo, J.; Arévalo, E.; Rocha, N.; Muñoz, L. 1996. Evaluación de la incidencia y severidad del daño de la polilla gigante de la papa *Tecia solanivora* en el Departamento de Antioquia. Boletín de divulgación. Medellín, Colombia, ICA – CORPOICA. 1 – 24 p.
- Arthur, F. 1996. Grain protectants: Current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research*, 32 (4): 293 – 302.
- Auker, L.; Oviatt, C. 2007. Observations on the colonization of the invasive tunicate *Didemnum* sp. *Rhode Island Naturalist*, 14 (1): 1 – 4.
- Barragán, A. 2005. Identificación, biología y comportamiento de las polillas de la papa en el Ecuador. Quito, Ecuador, PROMSA – MAG, PUCE.
- Barragán, A.; Zeddám, J.L.; Onore, G.; Chevasco, V.; Chevasco, D.; Mortensen, E.; Padilla, J.; Orbe, K.; Lasso, D. 2005. Problemática de las polillas de la papa en el Ecuador. Memorias del I Encuentro Ecuatoriano de la Papa. Quito, Ecuador, CIP, INIAP-PNRT-Papa, FCA-UCE. 8 p.

Broodryk, S.W.; Pretorius, L.M. 1974. Occurrence in South Africa of a granulosis virus attacking potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of the Entomological Society of Southern Africa, 37: 125 – 128.

Buscaglia, H.; Varco, J. 2002. Early detection of cotton leaf nitrogen status using reflectance. Journal of Plant Nutrition. 25: 2067-2080.

Camacho, J. 2006. Estadística con SPSS para Windows Versión 12. Primera edición. Alfa Omega Grupo Editor S.A. México, México D.F. 410 p.

Carpio, C.; Liger, B.; Barragán, A.; Dangles, O. 2007. Asociando las prácticas culturales a la dinámica de las poblaciones de insectos plaga en Ecuador. *En* Orellana, A.; González, Y.; Salazar, M.; Moncada, A.; Perruelo, G.; Torres, A. 2007. Memorias de XX Congreso Venezolano de Entomología. San Cristóbal, Venezuela. Sociedad Venezolana de Entomología. 1 – 238 p.

Castañera, P. 1998. Protección natural de plantas contra plagas: metabolitos secundarios. *En* SIMPOSIO NACIONAL. 1998. Memorias del IV Simposio nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas. México, Acapulco.

Chamorro, F.; Gallegos, P.; Suquillo, J. 2002. Determinación de la eficacia del control químico para la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) en condiciones de campo, Carchi, Ecuador. *En*

Pollet, A.; Onore, G.; Chamorro, F.; Barragán, A. (Eds.). 2004. Memorias del II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 1- 216 p.

Chevasco, D. 2006. Caracterización preliminar de un virus de tres segmentos de ARN altamente patógeno para las larvas de polilla de la papa *Tecia solanivora* (Polvony, 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae). Tesis de Licenciatura de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad del Católica Ecuador – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 1 – 96 p.

Chevasco, V.; Chevasco, D.; Barragán A.; Mongredien, G. ; Onore, G. ; Zeddám, J.L. 2006 Los virus entomopatógenos, agentes biológicos promisorios para el control de las polillas de la papa *Tecia solanivora* y *Symmetrischema plaesiosema*

Croizier, L.; Taha, A.; Croizier, G.; López-Ferber, M. 2002. Determinación de la secuencia completa del granulovirus de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). En Pollet, A.; Onore, G.; Chamorro, F.; Barragán, A. (Eds.). 2004. Memorias del II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 1- 216 p.

Dangles, O.; Carpio, C.; Barragan, A.R.; Zeddám, J-L.; Silvain, J-F. 2008. Thermal niche partitioning of potato moths successively introduced in the tropical Andes. Ecological Application. *En prensa*.

- Das, G.P.; Rahman, M.M. 1997. Effect of some inert materials and insecticides against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), in storage. International Journal of Pest Management, 43 (3): 247 – 248.
- Das, G.P.; Magallona, E.D.; Raman, K.V.; Adalla, C.B. 1992. Effects of different components of IPM in the management of the potato tuber moth in storage. Agric. Ecosystems Environ, 41: 321-325.
- Evans, H.F.; Entwistle, P. 1987. Viral diseases. In Epizootiology of insect diseases. 1-315 p. En Rizo, C.M.; Narváez, C. 2001. Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 61: 90-96.
- Feild, T.; Lee, D.; Holbrook, N. 2001. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of Red-osier dogwood. Plant Physiology, 127: 566-574.
- Foster, S.; Harris, M. 1997. Behavioral Manipulation Methods for Insect Pest – Management. Annual. Review of Entomology, 42:123–46.
- Gallegos, P. 2003. Problemática de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en el Ecuador: antecedentes, desarrollos y perspectivas. Lima, Perú, en Memorias: Lopez, A. 2005. En III Taller Internacional sobre la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora*.

Cartagena de Indias, Colombia. Centro Internacional de la Papa (CIP). 25 – 36 p.

Gallegos, P.; Suquillo, J. 1996. Monitoreo de la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Polvony), en el centro y zonas paperas de frontera de la provincia del Carchi. En Informe Anual 1996-1997. Quito, Ecuador, INIAP.

Galves, M.; Villa, S. 1987. Gelechiidae (Lepidoptera) frecuentes en solanáceas en Cajamarca y Amazonas, Perú. Revista Peruana de Entomología, 29: 37-40.

Gill, S.; Cowles, E.; Pietrantonio, P. 1992. The Mode of action of *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Entomology, 37: 615-636.

Golob, P. 1997. Current status and future perspectives for inert dusts for control of stored product insects. Journal of Stored Products Research, 33 (1): 69 – 79.

Hernández, N. 2007. Variación morfológica asociada a la distribución agroecológica de la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* (Povolny), en dos provincias de Ecuador. Tesis de Licenciatura de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad del Católica Ecuador – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 1 – 69 p.

Herrera, F. 1998. La Polilla Guatemalteca de la Papa: Biología, comportamiento y prácticas de manejo Integrado. Corporación Colombiana de Investigación

Agropecuaria (CORPOICA) – Federación de Papicultores de Colombia –
Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Colombia.

Höfte, H.; Whiteley, H. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*.
Microbiology and Molecular Biology Review, 53(2): 242-255.

ICTV. 2000. Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Seventh
report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic
Press. USA San Diego. 445-455 pp

Johnson, S. 2001. Indirect impacts on a phytophagous insect of birch: The role of
fungal phytopathogens and leaf-mining insects. Tesis de Doctorado submitida a
Departamento de Biología de la Universidad de York. 1 – 223 p.

Kroschel, J. 1995. Integrated Pest Management in Potato Production in the Republic
of Yemen with Special Reference to the Integrated Biological Control of the
Potato Tuber Moth (*Phthorimaea operculella* Zeller). Margraf Verlag,
Germany

Laarif, A.; Fattouch, S.; Essid, W.; Marzouki, N.; Ben Salah, H.; Ben Hammouda,
M. 2003. Epidemiological survey of *Phthorimaea operculella* granulosis virus
in Tunisia. *OEPP/EPPO Bulletin*, 33: 335–338.

Lacey, L.; Neven, L. 2006. The potential of the fungus, *Muscodor albus*, as a microbial control agent of potato tuber moth (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored potatoes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91(3): 195-198.

Lacey, L.A.; Frutos, R.; Kaya, H.K.; Vail, P. 2001. Insect pathogens as biological agents: Do they have a future?. *Biological control*, 21: 230-248.

Lecuona, R.E. 1995 Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. 338 p. En: Rizo, C.M.; Narváez, C. 2001. Uso y producción de Virus de la Poliedrosis Nuclear en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 61: 90-96.

Lee, D.; O'Keefe, J.; Holbrook, N.; Field, T. 2003. Pigment dynamics and autumn leaf senescence in a New England deciduous forest, Eastern USA. *Ecological Research*, 18: 677-694.

Mamani, P.; Pereira, R.; González, S.; Botello, R.; Gandarillas, E. 1997. Evaluación de diferentes formas de control para la polilla de la papa. *Journal en Agricultura y Desarrollo Sostenible* No. 1 Febrero.

Mena, A. 2004. Comportamiento y Control de polillas de la papa (*Tecia solanivora*, *Symmetrischema plaesiosema* y *Phthorimaea operculella*) en el Valle de Salcedo, Cotopaxi. Tesis Ing. Agr. Latacunga, Ecuador, UTC. 1-125 p.

Murcia, G.; Barreto, N. 1997. Evaluación de parámetros para el almacenamiento de semilla de papa (*Solanum tuberosum*) y mecanismos de control de polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) durante el mismo. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical y Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 1 – 23 p.

Niño de Gualdrón, L; Notz, A. 2000. Desarrollo y sintomatología de larvas de la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) 1973 (Lepidoptera: Gelechiidae) infectadas por un virus granulosis nativo. Boletín de Entomología Venezolana, 15(1):29-38.

O’Neal, M.; Landis; D. Isaacs, R. 2002. An inexpensive, accurate, method for measuring leaf area and defoliation through digital image analysis. Journal of Economic Entomology, 95(6): 1190 – 1194.

Orbe, K. 2006. Evaluación de la patogenicidad del virus Anchilibi en larvas de polilla de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en relación con la combinación de pH y presión osmótica en dos buffers. Tesis de Licenciatura de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 1 – 103 p.

Ortega, E.; Fernández, S., 1995. Manejo integrado de la polilla minadora de la papa *Pthorimaea operculella* Zeller. Maracay, Venezuela, FONAIAP, PROCIANDINO, PRACIPA. 9 – 60 p.

Ortega, E. 1995. Tecnología para el control Integrado de la palomilla de la papa. Venezuela, Monagas. Fonoiap Divulga No 48.

Palacios, M.; Lagnaoui, A.; Ortiz, O. 2002. La necesidad de un proyecto regional andino para el control y la prevención de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) En Pollet, A.; Onore, G.; Chamorro, F.; Barragán, A. (Eds.). 2004. Memorias del II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 1- 216 p.

Palacios, M.; Sotelo, G.; Saenz, E. 1997. La polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny). En FORTIPAPA – INIAP (Eds.). Primer taller Internacional sobre Manejo Integrado de *Tecia solanivora*. Ecuador, Ibarra. INIAP – CIP. 1-22 p.

Palacios, M. 1997. Principales plagas de la papa: La Polilla de la Papa y La Mosca Minadora. Producción de Tubérculos – semillas de Papa. Manual de Capacitación. Centro Internacional de la Papa (CIP). Fascículo 3.7. 12 p.

Perrin, R.K., Winkelmann, D., Moscardi, E.; Anderson J. 1976. Formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: un manual metodológico de evaluación económica. México, CIMMYT. 54 p.

Pollet y Barragán PUCE (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, EC) / IRD (Instituto de Investigación para el Desarrollo, FR). 2003. Informe del Proyecto PROMSA: Identificación de factores de mortalidad de la polilla guatemalteca en cultivos y bodegas en el Ecuador. Quito, Ecuador.

Puillandre, N.; Dupas, S. ; Dangles, O. ; Zeddani, J.-L. ; Capdevielle-Dulac, C. ; Barbin, K. ; Torres-Leguizamón, M. ; Silvain, J.-F. 2007. Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth. *Biological Invasions*. Online Junio.

Pumisacho, M.; Sherwood S. 2002. El cultivo de la papa en Ecuador. Primera edición. Quito, Ecuador, INIAP y CIP. 1-229 p.

Raman, K.V.; Alcázar, J. 1988. Biological control of the potato tuber (*Phthorimaea operculella* Zeller) using granulosis virus in Perú. Second Triennial Conference of the Asian Potato Association . 12-26 June 88. China, Kinming.

Raman, K.V.; Booth, R.H.; Palacios, M. 1987. Control of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) in rustic potato stores. *Tropical Science*, 27: 175 – 194.

Raman, K.V. 1980. Potato Tuber Moth. Centro Internacional de la Papa. Technical Information Bulletin 3: 1-14.

Rebaudo, F. 2006. Caractérisation moléculaire d'un Granulovirus et étude de son efficacité biologique pour le contrôle de la teigne Guatémaltèque de la pomme de terre *Tecia solanivora*, Polvony (1973). Rapport de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon, et du diplôme d'agronomie approfondie Protection des Plantes et Environnement.

Reed, E.M. 1969. A granulosis virus of potato moth. Australian Journal of Science, 31: 300 – 301.

Rocha, N.; Byerly, K.F.; Bujanas, R.; Villarreal, M. 1990. Manejo Integrado de Palomilla de la Papa *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) en Bajío. México D.F., México. INFAP / PRECODEPA. 52 p.

Sotelo, G.; Palacios, M.; Lagnaoui, A. 2002. Determinación de la secuencia completa del granulovirus de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). En Pollet, A.; Onore, G.; Chamorro, F.; Barragán, A. (Eds.). 2004. Memorias del II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 1- 216 p.

Sporleder, M.; Rodriguez, E.; Huber, J.; Kroschel, J. 2007. Susceptibility of *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera; Gelechiidae) to its granulovirus PhopGV with larval age. Agricultural and Forest Entomology, 9: 271–278.

- Sporleder, M.; Kroschel, J.; Huber, J.; Lagnaoui, A. 2005. An improved method to determine the biological activity (LC50) of the granulovirus PoGV in its host *Phthorimaea operculella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116: 191–197.
- Stathers, T.; Denniff, M.; Golob, P. 2004. The efficacy and persistence of diatomaceous earths admixed with commodity against four tropical stored product beetle pests. *Journal of Stored Products Research*, 40: 113 – 123.
- Steinhaus, E.; Marsh, F. 1967. Previously unreported accessions for diagnosis and new records. *Journal of Invertebrate Pathology*, 9: 436-438.
- Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. 1996. Biological Control. *En* B. Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. Eds. *Integrated management of insects in stored products*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. 266 – 267 p.
- Tamez, P.; Galán, L.; Medrano, H.; García, C.; Rodríguez, C.; Gómez, R.; Támez, R. 2001. Bioinsecticidas: producción y comercialización en México. *Ciencia UANL*, 4 (2): 143 – 152.
- Torres, F. 1998. *Biología y manejo integrado de la polilla centroamericana de la papa Tecia solanivora en Venezuela*. Maracay, Venezuela. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Fundación para el desarrollo de la Ciencia y Tecnología del estado Táchira. Serie A-No14. 57 p.

Triplehorn, C.A.; Johnson, N.F. 2005. Borror and DeLong's introduction to the study of insects, 7th ed. Thomas Brooks / Cole. EEUU, California.

Valencia, L. 1984. Las palomillas de la papa (Lepidoptera-Gelechiidae): identificación, distribución y control. Colombia. *En* Valencia, L. 1986 Memorias del Curso sobre Control Integrado de Plagas de papa. Bogotá: Centro Internacional de la Papa (CIP) - Instituto colombiano Agropecuario (ICA). 25-32 p.

Vincent, Ch.; Hallman, G.; Panneton, B.; Fleurat-Lessard, F. 2003. Management of agricultural insects with physical control methods. *Annual Review of Entomology*, 48: 261 – 281.

Yanggen, D.; Crissman, Ch.; Espinosa, P. 2003. Los Plaguicidas: Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador. Primera edición. Quito, Ecuador, INIAP y CIP. Ediciones Abya-Yala. 1-198 p.

Zeddám, J.L.; Léry, X.; Lopez-Ferber, M.; Carrera, M.V.; Lagnoui, A.; Niño, L.; Pollet, A.; 2002. Estudios preliminares sobre la patología viral de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). *En* Pollet, A.; Onore, G.; Chamorro, F.; Barragán, A. (Eds.). 2004. Memorias del II Taller Internacional de Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 1- 216 p.

Zeddám, J.L.; Carrera, M.V.; Barragán, A.; Pollet, A.; Lopez-Ferber, M.; Léry, X.
2003. Los virus entomopatógenos para el control de las polillas de la papa:
Nuevas perspectivas en el manejo de *Tecia solanivora* (Lepidoptera:
Gelechiidae). Lima, Perú. *En Memorias: III Taller Internacional sobre la polilla
guatemalteca de la papa Tecia solanivora*. Cartagena de Indias, Colombia.
Centro Internacional de la Papa (CIP). 67-78 p.

Zeddám, J.L.; Pollet, A.; Mangoendiharjo, S.; Ramadhan, T.H.; López Ferber, M.
1999. Occurrence and virulence of a granulosis virus in *Phthorimaea
operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) populations in Indonesia . *Journal of
Invertebrate Pathology*, 74: 48 – 54.