Efecto de materiales inertes de fórmulas bioinsecticidas en la protección de tubérculos almacenados contra las polillas de papa

DANTE MAMANI[1/2], MARC SPORLEDER[1], JÜRGEN KROSCHEL[1]

RESUMEN. *MAMANI D., SPORLEDER M, KROSCHEL J. 2011. Efecto de materiales inertes de fórmulas bioinsecticidas en la protección de tubérculos almacenados contra las polillas de papa. Rev. peru. entomol. 46(2): 43-49.* En las zonas productoras de papa (*Solanum tuberosum* Linneo) del Perú, dos especies de polilla de la papa están presentes: *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) y *Symmetrischema tangolias* Gyen (Gelechiidae). Para contrarrestar sus efectos dañinos, los productores de papa espolvorean sus tubérculos almacenados con materiales inertes o fórmulas en talco a base del granulovirus que ataca a *P. operculella* (PoGV). El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto protector de materiales inertes (talco, caolín, cal y arena), aplicados a tubérculos de papa, contra larvas de ambas especies y definir la dosis óptima de aplicación. Los tubérculos de papa (cv. "Peruanita") impregnados con estos materiales a una dosis de 5 g/kg de papa (experimento 1) y diferentes dosis: 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 y 15 g/kg de papa (experimento 2) se inocularon por separado con larvas neonatales de ambas especies e incubaron a 25°C (*P. operculella*) y 20°C (*S. tangolias*). La comparación de potencias obtenidas por regresión Probit demostraron que el talco ejerce significativamente mayor actividad letal sobre ambas especies y que *S. tangolias* es más susceptible que *P. operculella*. Incrementos en la dosis de talco, caolín, y cal elevan los índices de mortalidad con pendientes paralelas entre si en ambas especies, sin embargo, aun con la máxima dosis aplicable de talco (15 g/kg) no se protegen por completo los tubérculos. Una dosis de talco de 5 g/kg de papa (equivalente a las aplicaciones con fórmula de PoGV en talco), produce mortalidades de 47% (*P. operculella*) y 66% (*S. tangolias*), pudiendo incrementarse a 6 g/kg de papa. Ambas resultan óptimas según los niveles de control esperados, sus costos y la actividad del patógeno en caso de fórmulas.
Palabras clave: control biológico, *Phthorimaea operculella*, *Symmetrischema tangolias*, plagas de papa., materiales inertes, formulas bioinsecticidas, granulovirus PoGV.

ABSTRACT. *MAMANI D., SPORLEDER M, KROSCHEL J. 2011. Effect of inert materials of bioinsecticides formula to protect stored tubers of potato against the potato moths. Rev. peru. entomol. 46(2): 43-49.* In Peruvian potato production zones two species of potato tuber moths prevail: *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Symmetrischema tangolias* Gyen (Gelechiidae). For avoiding damage by these pests farmers dust their home-stored potatoes (*Solanum tuberosum* Linneo) with inert materials or talcum formulations with a granulovirus that attacks *P. operculella* (PoGV). The objective of this study was to determine the protective capacity of inert materials (talc, kaolin, lime and sand) applied to potato tubers against larvae of both species and to define the optimal application dose. Potato tubers (cv. Peruanita) impregnated with these materials at a dose of 5g/kg potatoes (experiment 1) and at different doses: 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 and 15 g/kg potatoes (experiment 2) were inoculated with neonate larvae of both species separately and incubated at 25°C (*P. operculella*) and 20°C (*S. tangolias*). The comparison of potency obtained through Probit regression demonstrated that the talc has significantly greater lethal activity on both species, and that *S. tangolias* is more susceptible than *P. operculella*. Increased application doses of talc, kaolin, and lime resulted in higher mortality while the increase rates were similar (parallel probit regression lines) between the products used and for the species tested; however, the maximum applicable dose of talc (15 g/kg) did not provide complete protection. A dose of 5 g talc/kg potato (equivalent to the recommended application rate of the formulation of PoGV) produced mortalities of 47% in *P. operculella* and 66% in *S. tangolias*, and could be increased to 6 g/kg potato for increased protection. Application rates between 5 to 6 g/kg can be recommended as optimal according to the expected level of control, their costs and the activity of the pathogen in case of formulas.
Key words: biological control, *Phthorimaea operculella*, *Symmetrischema tangolias*, potato pests, inert materiales, bioinsecticid formulations, granulovirus PoGV.

Introducción

En muchas zonas productoras de papa (*Solanum tuberosum* Linnaeus) del Perú, una especie andina de polilla de la papa (APTM) *Symmetrischema tangolias* Gyen (Lepidoptera: Gelechiidae) viene desplazando en predominancia a la polilla común de la papa (PTM) *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Para contrarrestar los efectos dañinos de las polillas, muchos productores de papa como medida de protección de sus tubérculos almacenados, realizan aplicaciones por espolvoreo de materiales como caolín, cal o ceniza (Fonseca *et al.* 2009, INIA 2008, Horton *et al.* 1980, Grillo *et al.* 1988), muchas veces sin conocer con precisión su fundamento técnico (Ortiz *et al.*1997).

Los materiales inertes al ser componentes de fórmulas de patógenos, como el granulovirus de *P. operculella* (PoGV) (CIP 1992, Alcázar & Raman 1992) o la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) (Raman 1988, Arx & Gebhardt 1990, Kroschel & Koch 1996), deben tener entre sus cualidades mejorar la efectividad del pesticida

[1]Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Apartado 1558, Lima-12, Perú. E-mail: m.sporleder@cgiar.org
[2]Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Jr. Puno 1002, Lima, Apartado 4559 Lima-1, Perú.

en campo, mejorar las características de seguridad, permitir una distribución homogénea y ser de fácil manejo (Whitford 2006). Los materiales inertes por lo tanto, pueden actuar directamente sobre las plagas mediante diversos mecanismos; sea cumpliendo una función tóxica propia de su naturaleza química o tamaño de sus partículas, y el efecto barrera que brindan en las superficies donde son aplicados, constituyéndose en la primera línea de resistencia a la plaga. Según el CIP (1992) el talco formulado con PoGV incrementa la actividad viral debido a que este polvo cubre el cuerpo de la larva impidiéndole respirar y causando su muerte por asfixia. Además ofrece protección a los tubérculos contra el ataque de áfidos.

La actividad letal del talco contra *P. operculella* y *S. tangolias* ha sido reconocida (Winters & Fano 1997, CIP 1992), pero no se ha evaluado la relación dosis respuesta experimentalmente. El objetivo del presente estudio fue conocer el efecto sobre las larvas de *P. operculella* y *S. tangolias*, de materiales inertes como el talco, caolín, cal y arena (utilizados en fórmulas bioinsecticidas a base de PoGV y Btk), aplicados a tubérculos de papa en condiciones de laboratorio. Los resultados permitieron recomendar ajustes en la dosis de aplicación de los materiales inertes y planificar mejor las concentraciones de patógenos necesarios para la preparación de fórmulas bioinsecticidas, según los niveles de control que se esperan alcanzar.

Materiales y métodos

Insectos

Las larvas neonatales de *P. operculella* (Zeller) y *S. tangolias* (Gyen) fueron obtenidas de poblaciones de crianza del Centro Internacional de la Papa (CIP, Lima) en ambientes con temperaturas de 25°C (*P. operculella*) y 20°C (*S. tangolias*); 60 - 80% de humedad relativa y fotoperiodo natural. Su obtención se inició con el aprovisionamiento de huevos adheridos a discos de papel filtro (discos de postura). Los discos de postura se colocaron en placas Petri e incubaron a 25°C (*P. operculella*) y 20°C (*S. tangolias*), hasta la eclosión de los huevos (4 y 7 días para cada especie). Las larvas recién eclosionadas (neonatales) se utilizaron tan pronto fue posible en la infestación de los tubérculos de papa (< 4 horas después de la eclosión).

Tubérculos de papa

Se usaron tubérculos (cv. Peruanita) con un peso de 70 a 80 g por unidad; lavadas en chorro de agua a presión, secadas a temperatura ambiente, seleccionadas sin daños físicos ni signos de infestación por plagas o infección por microorganismos.

Materiales inertes

Se utilizaron productos comerciales en polvo como: talco (de uso convencional en preparación de fórmulas; Ø partículas 0,1 – 10 µm), caolín y cal (de uso tradicional por agricultores en la protección de tubérculos almacenados contra diversas plagas; Ø partículas 0,1 – 20 µm), además de polvo de arena (Ø partículas < 75 µm), obtenido por tamizado de sedimentos de este material. El tratamiento de tubérculos de papa con estos materiales se hizo por impregnación en bolsas de plástico transparente, donde se depositaron tubérculos previamente pesados y la correspondiente cantidad de material inerte, según la dosis en evaluación (detalladas en las secciones correspondientes a cada bioensayo). Las bolsas con su contenido fueron cerradas y agitadas hasta total impregnación y cobertura de los tubérculos (incluyendo yemas). Los tubérculos así tratados se dispusieron por pares en envases de plástico (envases de bioensayo) de 0,5 litros, quedando listos para la inoculación con larvas neonatales.

Proceso de bioensayos

Se llevaron a cabo en envases de bioensayo, provistos de tapas con cierre hermético, acondicionados interiormente con papel toalla y una ventana de aireación cubierta con un papel toalla en la tapa para evitar la acumulación de humedad, impedir la fuga de larvas y mantener el flujo de aire.

Los tubérculos tratados o sin tratamiento (controles) previamente dispuestos por pares en los envases de bioensayo fueron inoculados con 50 larvas neonatales de *P. operculella* o *S. tangolias*, según la especie en evaluación. Este proceso se hizo evitando disminuir la vitalidad de las larvas, capturándolas solo a través del hilo de seda que ellas producen, de la cual se suspenden cuando se invierte y golpea suavemente la placa Petri que las contiene, utilizando pincel de dibujo N° 0. Los envases debidamente tapados, se incubaron en ambientes con temperatura controlada de 25°C (*P. operculella*) y 20°C (*S. tangolias*) y evaluaron 2 veces: a los 14 días y 21 días en el caso de *P. operculella* y a los 21 y 28 días en el caso de *S. tangolias*; registrando la cantidad de pupas y larvas muertas. En los envases con *S. tangolias* se colocaron trozos de cartón (3×3 cm) para proporcionarles superficies de formación de pupas (día 14).

Experimento 1: Eficiencia de materiales inertes a dosis fija

Con la finalidad de comparar el efecto del talco, caolín, cal y arena aplicados a tubérculos de papa por separado en una dosis de 5 g por kg de papa (dosis tradicional), sobre la mortalidad de larvas se realizó un bioensayo con *P. operculella* y otro con *S. tangolias*. Se evaluaron 4 repeticiones por material inerte y prueba control (tubérculos sin tratamiento), cada una con 50 larvas.

Experimento 2: Relación entre mortalidad y dosis de aplicación (de materiales inertes)

Se evaluaron 6 dosis de aplicación (0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 y 15 g de cada material inerte por kg de papa) y 6 repeticiones por dosis (4 en los bioensayos con caolín y arena frente a *S. tangolias*). La mortalidad fue evaluada en función de la cantidad de larvas que no alcanzaron a formar pupas durante la incubación. Un bioensayo con talco fue repetido con *P. operculella* para una mayor evaluación de su efectividad en un rango de dosis intermedio, debido a que el primer bioensayo mostró heterogeneidad alta entre los datos. Las dosis fueron 1,5; 2,2; 3,3; 5; 7,5 y 11,3 g de talco por kg de papa con 6 repeticiones por dosis. El número de repeticiones en la prueba control fue el mismo que para las dosis en evaluación en todos los bioensayos.

Análisis estadístico

Los datos del experimento 1 fueron sometidos a análisis de

varianza de dos vías (ANVA) para evaluar los efectos letales producidos por los materiales inertes (factor 1) entre ambas especies (factor 2). El ANVA fue aplicado dos veces; a) a las mortalidades (%) observadas y b) a las mortalidades ajustadas por la mortalidad control de cada especie. Para el ajuste se corrigieron las mortalidades utilizando la ecuación de Abbott (1925):

$$M_{corregida} = \frac{M_{observada} - M_{control}}{100 - M_{control}}$$

Donde M observada es la mortalidad (%) encontrada y M control es la mortalidad promedio (%) de los controles para cada especie por separado. Ante el análisis se realizó la prueba de Levene (1960) para verificar homogeneidades de los errores de varianza entre los datos por tratamiento. Debido a que la prueba de Levene aceptó errores homogéneos ($P > 0,05$) en ambos casos los porcentajes de mortalidad no fueron transformados antes del análisis. Luego del análisis los grupos homogéneos fueron separados mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS (versión 12).

Para determinar la relación dosis-mortalidad del sistema material inerte-insecto (experimento 2) se aplicó análisis de Probit según Finney (1971) con ajuste por mortalidad natural; alternativamente al modelo Probit se aplicaron los modelos Logit y Log-log complementario (CLL, inglés: "complementary-log-log"), y se seleccionó el modelo más adecuado por evaluación de residuales y comparación de los criterios de información Akaike (AIC) (Akaike 1973). Las respuestas de mortalidad (observadas a partir de 4 ó 6 repeticiones) se agruparon por nivel de dosis en cada bioensayo (n = 4 × 50 = 200 ó n = 6 × 50 = 300). Para obtener las mortalidades causadas debido a los materiales inertes las respuestas fueron ajustadas por la ecuación de Abbott (1925). Las líneas de regresión Probit obtenidas se compararon por sus DL_{50} y pendientes respectivas. Para aceptar paralelismos entre las líneas de regresión se evaluó el Chi^2 de la razón de verosimilitud (G-test para paralelismo: Chi^2 total - Chi^2 heterogeneidad). Para líneas paralelas ($P > 0.05$) se comparó los valores de potencias relativas de las DL_{50} y sus límites de confianza al 95% calculados acorde al teorema de Fieller (Finney 1971). Los análisis se realizaron con el programa R-statistics (versión 2.0).

Resultados

Experimento 1

Ambos ANVA revelaron efectos letales significantes de los materiales inertes (mortalidad total: $F = 62,9$; gl = 4; 30; $P < 0,001$; mortalidad ajustada: $F = 65,1$; gl = 4; 30; $P < 0,001$). Según la prueba de Tukey, todos los materiales inertes tienen efectos letales adicionales a la mortalidad natural (en referencia al control) a niveles significativamente diferentes entre si con excepción de la cal y arena (Tabla 1). El talco causó la mortalidad más alta, luego el caolín, seguido por la cal y la arena (los dos sin diferencias). Las mortalidades totales fueron significativamente más altos en *S. tangolias* ($F = 76,5$; gl = 1, 30; $P < 0,001$). Este efecto se encontró tanto en los controles (mortalidad natural) como en los tratamientos con material inerte. La evaluación de las mortalidades ajustadas por la mortalidad natural de cada especie (control) mostraron que los efectos letales de los materiales en las dos especies también varían significativamente ($F = 76,5$; gl = 1; 30; $P < 0,001$) (es decir, el efecto no solo se explica por la diferencia en la mortalidad natural sino también por lo menos debido a uno de los materiales inertes). La interacción significativa entre las especies y los materiales inertes mostró que los efectos no fueron constantes entre ambos factores (mortalidad total: $F = 5,39$; gl = 4; 30; $P = 0,002$; mortalidad ajustada: $F = 6,34$; gl = 4; 30; $P < 0,001$). La comparación múltiple de las mortalidades corregidas por la mortalidad específica de cada especie (ajustadas) indicó que solo el caolín causó una mortalidad elevada en *S. tangolias* (diferencia de mortalidad ajustada de 22,4%). Los otros materiales causaron mortalidades similares en ambas especies (Tabla 1). La mortalidad elevada en 6,3% de *S. tangolias* en el tratamiento con talco no fue significativa.

Experimento 2

El modelo Probit describió satisfactoriamente y mejor que los modelos Logit y CLL la relación mortalidad-dosis de aplicación de los materiales inertes (los resultados estadísticos se encuentran en la Tabla 2). Las mortalidades naturales (controles) varían en los bioensayos entre 11,3% a 20% en *P. operculella* y de 16,3 a 24,5% en *S. tangolias*. (*S. tangolias* siempre mostró una mortalidad control mas alta que *P. operculella*). Por la diferencia en mortalidades entre ambas especies según el momento de realización del bioensayo se estimó la mortalidad natural individual para cada bioensayo incluyendo las mortalidades control en el modelo Probit (ver Figura 1 para las curvas de mortalidades predicados retransformadas del modelo Probit a porcentaje mortalidad).

Las regresiones Probit de los tres materiales talco, caolín y cal para ambas especies de polilla revelaron una pendiente común altamente aceptable ($Chi^2_{paralelismo} = 12,6$; gl = 6; $P = 0,965$) y la varianza entre las respuestas en todos los bioensayos fue homogénea ($Chi^2_{heterogeneidad} = 41,3$; gl = 28; $P = 0,185$) y las regresiones fueron realizadas en forma paralela. La bondad de ajuste usando una pendiente común según los valores Chi^2 ($P > 0,05$) fue aceptable para cada bioensayo individualmente, con excepción del primer bioensayo con talco sobre *P. operculella* ($P < 0,01$, ver Tabla 2). Por la pendiente común, las potencias relativas fueron calculadas usando el segundo ensayo con talco sobre *P. operculella* (ver Tabla 2). El talco fue el material inerte con más alta actividad sobre ambas especies. La dosis letal media (DL_{50}) sobre *P. operculella* se estimó en 9,9 g (primer bioensayo) y 5,8 g (segundo bioensayo) por kilogramo de papa. Las diferencias de estas estimaciones no fueron significativas según los límites de confianza de las DL_{50}, sin embargo según los límites de confianza (95%) de la potencia relativa se reveló una actividad 1,3 a 2,3 veces más alta en el segundo bioensayo. Las potencias del caolín y la cal fueron 14,3 ($LC_{95\%}$: 4,4 – 48,3) y 11,1 (4,6 – 27,5) veces mas bajas sobre *P. operculella* en comparación con el talco (segundo bioensayo), respectivamente. Las diferencias entre las actividades del caolín y la cal no fueron significantes (esto concuerda con los resultados del experimento 1). Todos los

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad larval promedio en las especies *P. operculella* y *S. tangolias* inoculadas en estadio de larva neonatal sobre tubérculos de papa tratados con diferentes materiales inertes a una dosis de 5 g por kg y un control sin tratamiento.

Tratamiento	Mortalidad (%) total						Mortalidad (%) ajustada por la mortalidad control[1]					
	P. operculella			*S. tangolias*			*P. operculella*			*S. tangolias*		
	promedio[2]	STD		promedio	STD		promedio	STD		promedio	STD	
Talco	41,0	(4,7)	c	52,0	(1,6)	d A	36,2	(5,1)	c	42,5	(13,3)	c A
caolín	20,0	(8,2)	b	46,5	(4,4)	c B	13,5	(8,8)	b	35,9	(2,0)	c B
Cal	21,4	(4,1)	b	29,5	(5,0)	b C	15,1	(4,5)	b	15,6	(5,3)	b C
Arena	15,5	(5,0)	ab	25,5	(4,4)	b C	8,6	(5,4)	a	10,8	(6,0)	ab C
Control	7,5	(3,4)	a	18,5	(3,0)	ab D	0,0	(3,7)	a	0,0	(5,3)	a D

Los números en paréntesis son las desviaciones estándar (STD). Las letras minúsculas indican los grupos homogéneos (Tukey, $P < 0,05$) para la mortalidad total y mortalidad ajustada; las letras mayúsculas indican grupos homogéneos por efecto del material inerte (Tukey, $P < 0,05$). Los errores de varianza fueron iguales para la mortalidad total (Prueba de Levene: $F = 1,14$; gl = 9, 30; $P = 0,385$) como para la mortalidad ajustada (prueba de Levene: $F = 1,02$; gl = 9; 30; $P = 0,443$). El error estándar fue 2,34% y 2,83% para la mortalidad total y mortalidad ajustada, respectivamente; en ambos casos se separaron los grupos homogéneos por una diferencia en promedios de: $t_{(\alpha=0,05,\ gl=30)} (= 2,04) \times EE$. Las diferencias de las mortalidades entre *P. operculella* y *S. tangolias* fueron significantes tanto para la mortalidad total ($F = 78,5$; gl = 1, 30; $P < 0,001$) como para la mortalidad ajustada ($F = 14,1$; gl = 1; 30; $P < 0,001$).

[1] Las mortalidades observadas fueron ajustadas por la mortalidad control según la ecuación Abbott: M_{adj} (%) = ($M_{obs} - M_{control}$) / (100 - $M_{control}$) donde M_{obs} es la mortalidad (%) observada en cada tratamiento y $M_{control}$ es la mortalidad promedio (%) observada en los controles de cada especie, respectivamente.

[2] Se repitió cada material inerte y controles con *P. operculella* y con *S. tangolias* n = 4 veces con 50 larvas neonatales en cada repetición.

Tabla 2. Relación entre mortalidad Probit de larvas de *P. operculella* y *S. tangolias* respecto a la dosis de diversos materiales inertes (talco, caolín, cal y arena) aplicados por impregnación sobre tubérculos de papa. Se inocularon larvas neonatales a los tubérculos tratados.

Material inerte	Especie	n[b]	Ecuación[a] Modelo Probit	Mortalidad Natural[c] (%)	Chi^2	Prob.	DL_{50}[d] (mg/kg)		Índice de Toxicidad[d,e]
Talco	*P. operculella*	1800	y = 0,1953 + 1,203x	11,8 (1,52)	18,65	0,001	$9,86\times10^3$ ($6,22\times10^3 - 2,25\times10^4$)	0,585	(0,430 – 0,770)
Talco	*P. operculella*	1800	y = 0,4759 + 1,203x	15,2 (0,85)	3,20	0,524	$5,76\times10^3$ ($5,02\times10^3 - 6,75\times10^3$)	1	
Talco	*S. tangolias*	1800	y = 0,9858 + 1,203x	16,0 (1,11)	8,25	0,083	$2,26\times10^3$ ($1,58\times10^3 - 3,01\times10^3$)	2,554	(1,837 – 3,475)
Caolín	*P. operculella*	1800	y = -0,9150 + 1,203x	23,3 (1,10)	1,42	0,842	$8,26\times10^4$ ($3,59\times10^4 - 1,98\times10^5$)	0,070	(0,021 – 0,227)
Caolín	*S. tangolias*	1800	y = 0,1011 + 1,203x	21,8 (1,34)	1,42	0,841	$1,18\times10^4$ ($9,86\times10^3 - 1,52\times10^4$)	0,488	(0,382 – 0,618)
Cal	*P. operculella*	1800	y = -0,7837 + 1,203x	21,8 (1,21)	1,89	0,756	$6,42\times10^4$ ($3,26\times10^4 - 4,08\times10^5$)	0,090	(0,036 – 0,215)
Cal	*S. tangolias*	1200	y = 0,1851 + 1,203x	23,1 (1,15)	0,58	0,966	$1,01\times10^4$ ($8,11\times10^3 - 1,38\times10^4$)	0,573	(0,433 – 0,758)
Arena	*P. operculella*	1800	y = 2,847 + 0,203x	28,2 (1,52)	1,07	0,898	$9,73\times10^8$ ($1,29\times10^{-3} - 1,81\times10^{20}$)	1	
Arena	*S. tangolias*	1200	y = 2,982 + 0,203x	35,2 (0,85)	0,88	0,953	$2,65\times10^8$ ($3,28\times10^{-4} - 4,81\times10^{20}$)	3,672	(0,118 – 125)

[a] y = Probit, x = logaritmo de dosis de aplicación de material inerte (mg/kg de papa). El error estándar de la pendiente común para los bioensayos con talco, caolín y cal es ± 0,060. El Error estándar para la pendiente en los bioensayos con arena es ± 0,045.

[b] El número de dosis fue 6 en cada bioensayo más un control sin material inerte, el cual sirvió para ajustar las mortalidades por la mortalidad natural. El número de larvas usadas por nivel de dosis y control fue n = 300 en todos los bioensayos, a excepción de aquellos con cal y arena sobre *S. tangolias* (n = 200).

[c] Los números en paréntesis corresponden a los errores estándar.

[d] Los números en paréntesis corresponden a los límites de confianza al nivel de 95%.

[e] Las potencia relativas (índice de toxicidad) de bioensayos con talco, caolín y cal están calculados usando el segundo ensayo con talco sobre *P. operculella* como referencia. Para ensayos con arena (por su pendiente diferente en comparación con los otros materiales inertes) se indica la potencia relativa entre la actividad de arena sobre *P. operculella* y *S. tangolias*.

materiales mostraron una actividad letal significativamente más alta en *S. tangolias* que en *P. operculella*; la potencia fue 2,6 veces más alta para el talco, 7 (4,2 – 11,8) veces más alta para el caolín y 6,4 (3,9 – 10,7) veces más alta para la cal. Contra *S. tangolias*, el caolín y la cal mostraron actividades 5,2 y 4,5 veces más bajas que el talco con las mismas dosis aplicadas.

La arena mostró una pendiente de la curva de mortalidad significativamente mas baja que los otros materiales. Mientras la pendiente fue similar para los bioensayos con *P. operculella* y *S. tangolias* ($Chi^2_{paralelismo} = 0,75$; gl = 1; $P = 0,385$) y la varianza entre las respuestas sobre ambas fue homogénea ($Chi^2_{heterogeneidad} = 1,01$; gl = 6; $P = 0,985$), la pendiente resultó muy baja (0,203; EE ± 0,045). A partir de que la máxima mortalidad ajustada obtenida fue por debajo de 13% (*P. operculella*) y 17% (*S. tangolias*) las curvas se ajustaron bien a los datos (ver valores Chi^2 para la bondad de ajuste en la Tabla 2) pero los rangos de confianza para las DL_{50} y sus potencias relativas resultaron demasiado altos; se encontraron mortalidades más altas en *S. tangolias* pero según la potencia están lejos de ser significantes (Tabla 2, Figura 1).

La máxima dosis de material inerte aplicada (15 g/kg de papa), permitió obtener sobre *S. tangolias* y *P. operculella* respectivamente, mortalidades cercanas al 85% y 68% (talco); 55% y 16% (caolín); 60% y 20% (cal); 15% y 12% (arena). Asimismo, las mortalidades esperadas según la línea de regresión Probit para una dosis de 5 g de talco/kg de papa son de 66% y 47% (talco); 32% y 10% (caolín); 36% y 11% (cal); 13% y 10% (arena) en ambas especies.

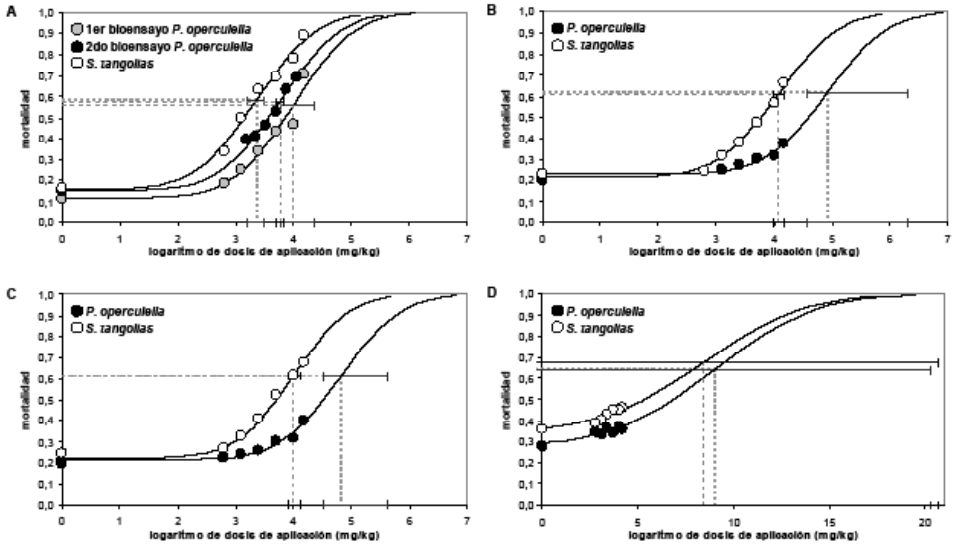

Figura 1. Curvas de mortalidad para larvas de *P. operculella* y *S. tangolias* debido a tubérculos de papa tratados con diferentes dosis de talco (A), caolín (B), cal (C) y arena (D). Los círculos son los datos observados; los círculos sobre los ejes Y indican las mortalidades observadas en los controles. Las líneas negras muestran las curvas de mortalidad, las cuales fueron retransformadas a partir del modelo Probit incluyendo la mortalidad natural (Tabla 2). Los valores de DL_{80} obtenidos a partir del análisis Probit con el 95% de sus intervalos de confianza son indicados por las barras.

Discusión

La aplicación por espolvoreo de materiales como la cal y ceniza (sin ser formulados con entomopatógenos) por parte de agricultores productores de papa constituyen las primeras referencias sobre la actividad letal de los materiales en polvo, en el control de plagas de insectos en almacenes de papa, sin embargo no se contaban con precisiones sobre su magnitud de control; este aspecto es mejor comprendido con esta investigación. Los materiales empleados en el presente estudio (talco, caolín, cal y arena) además de su composición química, presentan diferencias en el grosor de partículas que confieren al talco ventajas de mejor cobertura al aplicarse sobre tubérculos de papa en dosis de 5 g/kg de papa, por estar constituido de partículas mas finas, proporcionando menor cantidad de superficie desprotegida, facilitando además su ingestión durante el ingreso de las larvas a los tubérculos. Esta característica hizo posible que se observara hasta un 20% de mortalidad en ambas especies frente la dosis de 1 g/kg. Por encima de esta dosis los índices de mortalidad van aumentando, pero los incrementos de mortalidad entre las diferentes dosis van disminuyendo cada vez.

Posterior a la identificación del granulovirus PoGV (Raman & Alcázar 1988) por el CIP, muchas investigaciones se han desarrollado orientados al uso de fórmulas de este patógeno en talco para el control de *P. operculella*, mediante espolvoreo de tubérculos almacenados (CIP 1992, Alcázar *et al.* 1992, Alcázar & Raman 1992, Das *et al.* 1992), recomendándose la dosis de 5 kg por tonelada de papa (CIP 1992), aunque los efectos del talco no fueron evaluados antes. Los porcentajes de mortalidad alcanzados por esta fórmula fueron cercanos al 100% (CIP 1992, Raman & Alcázar 1988, Alcázar *et al.* 1992; Zeddam *et al.* 2003, Amonkar *et al.* 1979, Islam *et al.* 1990, Ali 1991, Das *et al.* 1992, Niño de G. & Notz 2000, Setiawati *et al.* 1999, Arthurs 2008). La utilización de PoGV no se limitó a fórmulas en talco sino también en cal, celite, bórax, caolín, arena y polvo de diatomeas (Mamani 2008, Arthurs 2008, Das & Rahman 1997, Alcázar & Raman 1988), reconociéndose al talco como más eficaz. La fórmula de PoGV en talco sirvió también para el control de *S. tangolias* (Winters & Fano 1997, Arenas 1998, Tenorio 1996), reportándose que este producto aplicado a una dosis de 5g/kg redujo en 62% su daño a los tubérculos y su población en 42% (Tenorio 1996). Sin embargo, en aplicaciones virales acuosas de PoGV según Ángeles (1995) éste patógeno no muestra eficacia en el control de *S. tangolias*, reportando un control aceptable (con daño menor en los tubérculos pero manteniendo la capacidad de brote) solo con aplicaciones de 500 EL/kg talco; frente a los 20 EL/kg talco (cual es la dosis en el producto tradicional) que si son suficientes para un buen control de *P. operculella* (Alcázar & Raman 1992). Indudablemente gran parte de la actividad de control de la fórmula de PoGV en talco sobre *S. tangolias* se debió solo al talco, como se verificó en el presente estudio. En el control de *P. operculella* además de PoGV, también es utilizada la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Btk), sea directamente (Kroschel & Koch 1996, Farrag 1998, von Arx *et al.* 1987, Raman *et al.* 1987, Das *et al.* 1992) o formulada en talco (von Arx *et al.* 1987, Hamilton & Macdonald 1990, Salama *et al.* 1995b, Setiawati *et al.* 1999) y en arena (Mamani 2008, Kroschel & Koch 1996) con resultados de éxito por encima del 90%. En la mayoría de estos estudios solo se reportaron los niveles de efectividad de los productos o midieron el efecto de los materiales inertes como controles, sin mayor interés en conocer la relación dosis-respuestas, ni comparaciones entre los mismos.

Según las curvas de regresión Probit la serie de bioensayos con exposición de larvas neonatales de *P. operculella* y *S. tangolias* a tubérculos tratados con materiales inertes a diferentes dosis de aplicación, mostraron mayor susceptibilidad de *S.*

tangolias (la diferencia no se evidenció en todos los casos entre aplicaciones uniformes de 5 g/kg de papa). Por el efecto que producen sobre ambas plagas, los materiales evaluados pueden agruparse en 3 grupos: de menor actividad como el caso de la arena, de actividad intermedia el caolín y la cal (al menos sobre *S. tangolias*), y de mayor actividad el talco (sobre ambas especies), aunque los resultados entre los experimentos 1 y 2 varían en algún grado. La aplicación de 5 g de talco (experimento 1) causó una mortalidad larval en *P. operculella* de 36% (DST: 5,1%) mientras la mortalidad estimada por las curvas de dosis-mortalidad en los dos bioensayos con *P. operculella* a la misma concentración, mostraron mortalidades de 36,2% ($LC_{95\%}$: 27,7% - 45,4%) en el primero y 47% ($LC_{95\%}$: 41 - 51%) en el segundo. La mortalidad de *S. tangolias* en el experimento 1 fue 42,5% pero con alta variabilidad (DST: 13,3%) y 66% ($LC_{95\%}$: 60 – 71,7%) en el bioensayo del experimento 2. Estos niveles de control que son insuficientes y probablemente no evitan mayores pérdidas en los tubérculos de papa, son al mismo tiempo los mínimamente esperables con fórmulas de Btk u otro patógeno independientemente de su concentración.

La actividad de estos materiales afectan menos a *P. operculella*, ya que con aplicaciones de 15 g por kg (máxima dosis aplicable, mayores dosis no permiten mayor adherencia sobre los tubérculos y la aplicación se hace prolongada, sobre todo la arena que además produce efectos abrasivos en los tubérculos) no pudo alcanzarse mas del 70% de control. Por ejemplo 15 g de talco aumentaría la mortalidad por el material inerte en *P. operculella* a 58.7% (con limites de confianza 95% según el analisis probit de 44,8 – 71.6%; bioensayo 1) y 69,2% (61,5 – 76%; bioensayo 2) y en *S. tangolias* podría llegar a 83,9% (76,9 – 89,3%), estos incrementos – probablemente aceptables considerando costos y beneficios – disminuyen a medida que se incrementa la dosis. Aplicaciones de 15 g de talco, caolín o cal serían muy costosas. En tanto que con la arena la afectación fue menor al 15% en ambas especies, debido a su menor capacidad de cobertura.

Tomando en cuenta los precios de 1 kg de talco (1,0 US$), caolín (0,6 US$), cal (0,5 US$), arena (0,1 US$) y las curvas de dosis-respuesta de cada material, reemplazar el talco con materiales menos costosos no resulta viable, en razón a que considerando el costo de talco para proteger 1 tonelada de papa (5 US$ según dosis tradicional), se podría utilizar mayor cantidad de caolín (8,3 kg), cal (10 kg) o arena (50 kg; la máxima dosis aplicable es 15 kg) para la misma cantidad de tubérculos; solo se alcanzaría en teoría hasta un 12,4% (*P. operculella*) y 42,4% (*S. tangolias*) de control con el caolín, en el caso de la cal los niveles serían de 16,4% (*P. operculella*) y 50,8% (*S. tangolias*); respuestas que están lejos de mejorar lo obtenible con 5 kg de talco (36 - 47% sobre *P. operculella* y 66% en *S. tangolias*). Finalmente la arena por su baja pendiente de actividad según la regresión Probit y la ventaja de su bajo costo, solo ofrece excelentes posibilidades de uso si es formulado con patógenos como PoGV y Btk (Mamani 2008, Kroschel & Koch 1996).

Una alternativa para mejorar la actividad del talco utilizando una dosis optima es agregando PoGV u otro patógeno en lugar de incrementar o disminuir la dosis de talco. En teoría, la fórmula de 100 EL (100 larvas enfermas de último estadio con el signo típico de la granulosis de *P. operculella*; costo 0,33 US$) en 5 kg de talco (~$4{,}90 \times 10^7$ gránulos/g) para ser aplicado en una tonelada de papa resulta menos costoso que aumentar la dosis a 6 kg de talco (costo 1,00 US$). Considerando una dosis de aplicación de 5 kg/tonelada de papa y tomando como referencia la línea Probit para PoGV de $y = 1{,}484 + 0{,}485\ log(x)$ de un experimento con fórmulas de PoGV en talco (Mamani 2008), con 100 EL/5 kg de talco se obtendrían mortalidades hasta de 78% y con 1000 EL/5 kg de talco se alcanzarían mortalidades cercanas al 88%. Para respuestas mayores se debería pensar en elevar la dosis de aplicación a 6 kg por tonelada. Con estos cálculos vemos lo conveniente que resulta formular talco con PoGV, aunque los patógenos por si mismos podrían tener limitaciones en alcanzar mortalidades altas (mayores a 95%). Por otro lado, disminuir la dosis de aplicación de la fórmula por debajo de 5 kg/tonelada de papa, no resultaría conveniente porque se disminuiría la distribución del patógeno sobre la superficie del tubérculo. Atendiendo estas consideraciones la dosis óptima de aplicación de talco formulado con un patógeno como PoGV se encuentra entre 5 y 6 kg/tonelada.

Conclusiones

Los materiales inertes evaluados como talco, caolín, cal y arena, aplicados sobre tubérculos de papa, ejercen actividad letal sobre larvas de *Phthorimaea operculella* y *Symmetrischema tangolias*, y así son adecuadas para formular granulovirus porque mejoran la eficacia de aplicaciones del virus; aunque dosis altas (> 5 g/kg papa) no dan protección completa a los tubérculos, siendo necesario ser formulado con algún patógeno para asegurar una adecuada protección.

El talco es el material inerte preferible porque ejerce mayor actividad letal sobre ambas especies de polilla de la papa, siendo *S. tangolias* más susceptible que *P. operculella* frente a todos los materiales inertes. Para controlar *S. tangolias* se puede usar el talco sin granulovirus porque la especie no es susceptible a este patógeno. La mortalidad obtenida en *S. tangolias* con el producto tradicional (granulovirus PoGV y talco) reportada en estudios anteriores se puede explicar por los efectos del talco solo. Para aumentar la eficacia de la aplicación se debería substituir el granulovirus (PoGV) por un patógeno que ataca a *S. tangolias* (por ejemplo *B. thuringiensis*). La dosis óptima de aplicación para proteger tubérculos de papa almacenados es de 5 a 6 kg de talco/tonelada de papa.

Reconocimiento

El presente trabajo se hizo posible gracias a fondos del Ministerio Federal para la Cooperación Económica y Desarrollo (Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit, BMZ).

Referencias

Abbott WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economical Entomology 18: 265-267.

Akaike H. 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (eds B.N. Petrov y F. Csaki), pp. 267–281, Akademiai Kiado, Budapest.

Alcázar J, Cervantes M, Raman KV. 1992. Efectividad de un virus granulosis formulado en polvo para controlar *Phthorimaea operculella* en papa almacenada. Revista Peruana de Entomología 35: 113-116.

Alcázar J, Raman KV. 1992. Control de *Phthorimaea operculella* en almacenes rústicos, empleando virus granulosis en polvo. Revista Peruana de Entomología 35: 117-120.

Ali MI. 1991. Efficacy of a granulosis virus on the control of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Gelechiidae: Lepidoptera) infesting potatoes in Bangladesh. Bangladesh Journal of Zoology 19: 141-143.

Ángeles I. 1995. Susceptibilidad de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen) al virus de la granulosis de *Phthorimaea operculella* (Zeller). Tesis para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Amonkar SV, Pal AK, Vijayalakshmi AS, Rao AS. 1979. Microbial Control of potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* Zell.) Indian Journal of Experimental Biology 17: 1127-1133.

Arenas R, Herbas J, Arnold J. 1998. Biología, control preliminar y distribución de la polilla de la papa *Symmetrischema tangolias* en Bolivia. Compendio de Exposiciones. PROINPA, Reunión de la Asociación Latinoamericana de la papa. pp. 125-126, Cochabamba, Bolivia.

Arthurs SP, Lacey LA, De la Rosa F. 2008. Evaluation of a granulovirus (PoGV) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* for control of the potato tuberworm (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored tubers. Journal of Economic Entomology 101 (5): 1540-1546.

Arx RV, Gebhardt F. 1990. Effects of a granulosis virus, and *Bacillus thuringiensis* on life-table parameters of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*. Entomophaga 35: 151-159.

Arx RV, Goueder J, Cheikh M, Temime AB. 1987. Integrated control of potato tubermoth *Phthorimaea operculella* (Zeller) in Tunisia. Insect Science and its Application 8: 989-994.

CIP (1992) Control Biológico de la Polilla de la Papa con *Baculovirus phthorimaea*. Boletín de Capacitación CIP-2. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú 1992. 19pp.

Das GP, Magallona ED, Raman KV, Adalla CB. 1992. Effects of different components of IPM in the management of the potato tuber moth, in storage. Agriculture, Ecosystems & Environment 41: 321-325.

Das GP, Rahman MM. 1997. Effect of some inert materials and insecticides against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), in storage. International Journal of Pest Management 43: 247-248.

Finney JR. 1971. Probit analysis, 3rd ed. Cambridge University Press.

Farrag RM. 1998. Control of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera Gelechiidae) at storage. Egyptian Journal of Agricultural Research 76: 947-952.

Fonseca C, Tupac Yupanqui A, Devaux A, Zuñiga N, Maldonado L. 2009. El almacenamiento de la papa nativa en los andes del Perú y las implicancias técnicas y económicas de una tecnología alternativa. 14 p. E.pub http://www.papandina.org/fileadmin/documentpool/Institucional/Articulo/02-Re-ALAP-Almacenam-Papa-Nativa-Implicancias-Tec-Econom.pdf 30/06/2009.

Grillo E, Valladolid J, Rodríguez V, De la Torre A, Cuzco L. (1988) Chetilla, Paradigma cultural Andino. Proyecto Piloto de Ecosistemas Andinos. Cajamarca, Perú. 88 p.

Hamilton JT, Macdonald JA. 1990. Control of potato moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) in stored seed potatoes. General and Applied Entomology 22: 3-6.

Horton D, Tardieu F, Benavides M, Tomassini L, Accatino P. 1980. Tecnología de la producción de papa en el Valle del Mantaro, Perú. Departamento de Ciencias Sociales. Documento de trabajo 1980-1. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 68 p.

INIA 2008. 10 Control tradicional y Manejo Integrado de Plagas en papa. Serie N° 2 Tecnologías innovativas apropiadas a la conservación in situ de la agrobiodiversidad. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Lima, Perú. 11p. E. pub. http://www.inia.gob.pe/genetica/insitu/Control tradicional.pdf 30/07/09

Islam MN, Karim MA, Nessa Z. 1990. Control of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) in the storehouses for seed and ware potatoes in Bangladesh. Bangladesh Journal of Zoology 18: 41-52.

Kroschel J, Koch W. 1996. Studies on the use of chemicals, botanicals and *Bacillus thuringiensis* in the management of the potato tuber moth in potato stores. Crop Protection 15: 197-203.

Kroschel J. 1995. Integrated pest management in potato production in Yemen with special references to the integrated biological control of the potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* Zeller). Margraf Verlag, Weikersheim, Germany.

Levene H. 1960. Robust tests for equality of variances, pp. 278-292, en: I. Olkin, S. G. Ghurye, W. Hoeffding, W. G. Madow, and H. B. Mann (Eds.) "Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling". Stanford University Press, Stanford, Carolina.

Mamani D. 2008. Control Biológico e Interacción de Baculovirus PoGV, y *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre las polillas de la papa: *Phthorimaea operculella* (Zeller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen) [Lepidoptera: Gelechiidae]. Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Biotecnología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 145 pp.

Niño de Gualdrón L, Notz A. 2000. Patogenicidad de un virus granulosis de la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny) 1973. (Lepidoptera: Gelechiidae), en el estado Mérida, Venezuela. Boletín Entomología Venezolana 15 (1): 39-48.

Ortiz O, Alcázar J, Palacios M. 1997. La Enseñanza del Manejo Integrado de Plagas en el Cultivo de la Papa: La Experiencia del CIP en la Zona Andina del Perú. Artículo invitado. Revista Latinoamericana de la Papa. (1997). 9/10:1-22 E.pub http://www.papaslatinas.org/v9-10n1p1.pdf . Revista Latinoamericana de la Papa, ALAP. Vol. 9/10 N. 1 1996/1997 20p. E.pub http://www.redepapa.org/ortiz3.pdf .

Palacios M, Cisneros F. 1997. Integrated pest management for the potato tuber moth in pilot units in the Andean Region and the Dominican Republic. In International Potato Center (CIP) [ed.], Program Report 1995-1996, Lima, Peru.

Raman KV, Booth RH, Palacios M. 1987. Control of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) in rustic potato stores. Tropical Science 27: 175-194.

Raman KV. 1988. Manejo integrado de las plagas de la papa en los países del tercer mundo. Centro Internacional de la Papa (CIP). Circular 16(1). Lima, Perú. 17 p.

Raman KV, Alcázar J. 1988. Biological Control of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), using a granulovirus in Perú. Artículo presentado a la Second Triennial Conference of Asian Potato Association, Kunming, Yunnan, China, June 16-25, 1988.

Salama HS, Zaki FN, Ragaei M, Sabbour M. 1995. Persistence and potency of *Bacillus thuringiensis* against *Phthorimaea operculella* (Zell.) (Lep., Gelechiidae) in potato stores. Journal of Applied Entomology 119: 493-494.

Setiawati W, Soeriaatmadja RE, Rubiati T, Chujoy E. 1999. Control of potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*) using an indigenous granulosis virus in Indonesia. Indonesian Journal of Crop Science 14: 10-16

Tenorio MJ, Cabrera-La Rosa J, Palacios M. 1996. Biología, comportamiento y control de las polillas de la papa *Symmetrischema tangolias* y *Pthorimaea operculella* en Cajamarca. Sociedad Entomológica del Perú. Resúmenes y programa de la 38 Convención Nacional de Entomología. Lima, Perú. SEP-FONAGRO. 1996. p.33.

Whitford F. 2006. Manual de Entrenamiento sobre lo Esencial Para los Aplicadores de Pesticidas de Indiana. Programas de Pesticidas de Purdue, Universidad de Purdue, Servicio de Extensión Cooperativa, 108p.

Winters P, Fano H. 1997. The economics of biological control in Peruvian potato production. En Working Paper Series - International Potato Center, pp. iv + 33 pp. (CIP), Lima, Perú.

Zeddam JL, Vasquez RM, Vargas Z, Lagnaoui A. 2003. Producción viral y tasas de aplicación del granulovirus usado para el control biológico de las polillas de la papa *Phthorimaea operculella* y *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). Bol. Sanidad Vegetal, Plagas 29: 659-667.

Fecha de recepción: 25-09-2009. Fecha de aceptación: 09-04-2010.