

GÉNERO *Bacillus* COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE PLAGUICIDAS COMERCIALES PARA EL CONTROL DE *Tecia solanivora*, EN CULTIVO DE *Solanum tuberosum* cv Parda pastusa.



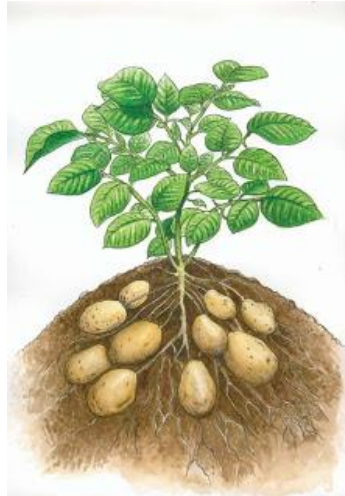
Presentado por:
ANGIE CAROLINA ACEVEDO LOPEZ
LAURA CAMILA BERMUDEZ HERRERA

LIGIA CONSUELO SANCHEZ MS.c
Asesora

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, D.C., 2019

Introducción

Producción de papa



Primeros cultivos aproximadamente 10,000 años atrás

<http://porqueparaquedecomuando.blogspot.com/2009/09/historia-de-la-papa.html>



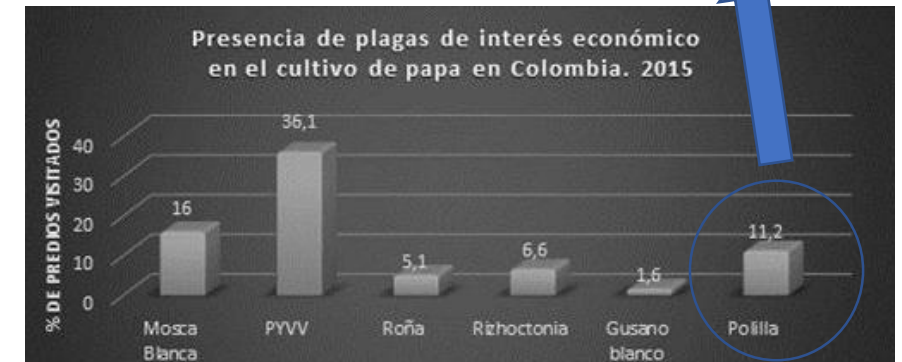
1,077,222 Toneladas reportadas en el año 2018

133.865 hectáreas en el país al año

<http://regionesylimitesdecolombia2017.blogspot.com/2017/10/region-andina.html>

Afectación por plagas

Tecia solanivora



Presencia de plagas de interés económico en el cultivo de papa. Tomado del Instituto Colombiano Agropecuario.

INSECTICIDAS BIOLÓGICOS



<https://cogolandia.com/insecticidas-y-fungicidas/>

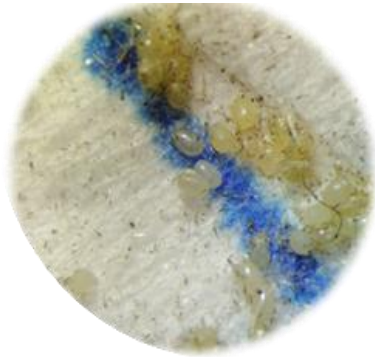
Alternativa

INSECTICIDAS QUÍMICOS

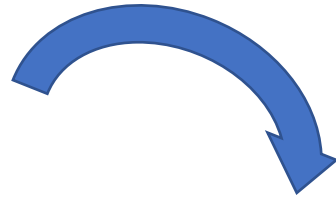


<https://cogolandia.com/insecticidas-y-fungicidas/>

Tecia solanivora



HUEVOS :Forma ovoide color blanco perlado



Larva 1: 1-2 mm
Larva 2: 7-9 mm
Larva 3: 12-14 mm
Larva 4: 14-16 mm



PUPA: su tamaño es de 7.3 a 9.0
15 a 18 días en salir



ADULTO: su tamaño es de 10 a 15 mm

Marco teórico

Primero casos
Tecia solanivora
1956



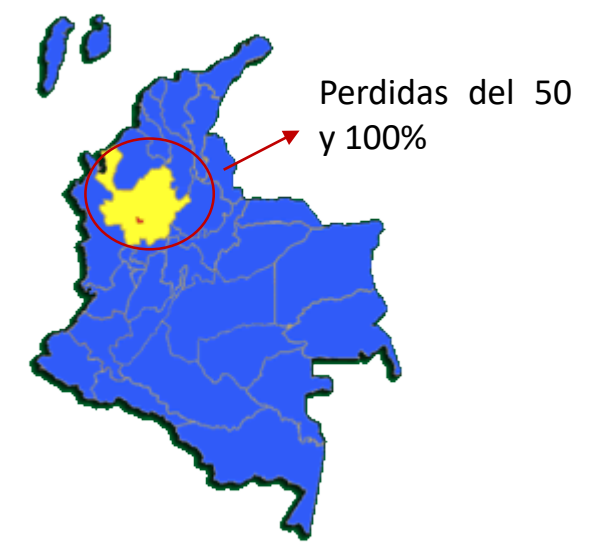
<https://mx.depositphotos.com/18738193/stock-illustration-republic-of-guatemala-vector-map.html>



<http://publicaciones.poscosecha.com/es/cultivo/308-polilla-guatemalteca-de-la-papa-tecia-solanivora-identificacion-y-control.html>



<http://mapa-de-colombia.blogspot.com/2013/04/croquis-mapa-de-colombia.html>



https://www.turiscolumbia.com/medellin_antioquia.htm

ANTECEDENTES

2015

Kheder y Colaboradores Estudia el control biológico de *Bacillus subtilis* en *Rhizoctonia solani*.

2003

Martínez y colaboradores Efecto tóxico de las proteínas CryI de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas de *Tecia solanivora*.

2011

Layton y Colaboradores Revisan el efecto controlador de metabolitos de *Bacillus subtilis* y *Bacillus brevis* sobre *Fusarium oxysporum*.

2018

Yanes y Colaboradores evalúan el efecto del género *Bacillus* como controlador de antracnosis en semillas de lupino.

2017

Chinheya y Colaboradores estudian el control del nematodo *Meloidogyne javanica* por medio de *Bacillus isolates*.

Objetivos

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la acción entomopatógena de cepas del género *Bacillus* para el control de insectos plaga *Tecia solanivora*, presentes en cultivos de *Solanum tuberosum cv*

OBJETIVO ESPECIFICO

Caracterizar bacterias del género *Bacillus* con potencial acción entomopatógeno

Evaluar mediante bioensayos la eficacia de *Bacillus* para el control de la polilla Guatemalteca de la papa.

Establecer en qué estadio de desarrollo de *Tecia solanivora*, se observa el mayor número de daño o muerte por parte de cepas del género *Bacillus*.

Metodología

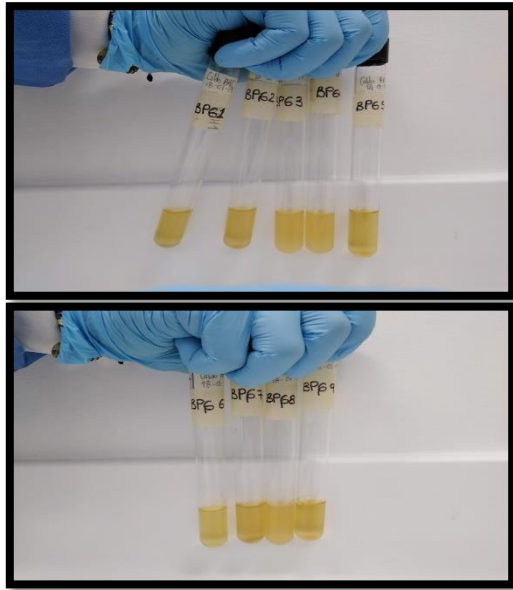
CEPA	GÉNERO-ESPECIE	NOMENCLATURA ASIGNADA
Bp01	<i>Bacillus pumilus</i> nativo del suelo	BPG01
BpC01	<i>Bacillus pumilus</i> ATCC 4884	BPG02
Bs01	<i>Bacillus sphaericus</i> nativo del suelo	BPG03
BSC01	<i>Bacillus sphaericus</i> ATCC 4525	BPG04
BI07	<i>Bacillus subtilis</i> aislada de cultivos de <i>Solanum quitoense</i>	BPG05
CH4	<i>Bacillus subtilis</i> aislada de chimeneas de restaurante de pollo	BPG06
U2-01	<i>Bacillus pumilus</i> aislada de plantas de cultivos de uchuva	BPG07
CH7B	<i>Bacillus pumilus</i> aislada de chimeneas de restaurantes de pollo	BPG08
BIO10	<i>Bacillus subtilis</i> aislada de cultivos de <i>Solanum quitoense</i>	BPG09
TB2	<i>Bacillus subtilis</i> con actividad antagónica frente a <i>Fusarium</i>	BPG10
Control TB2	<i>Bacillus subtilis</i> nativo del suelo	BPG11



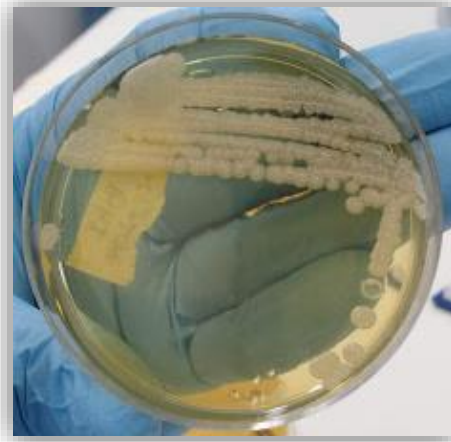
Se activan 11 cepas de *Bacillus spp* mediante su descongelación según el protocolo de Sánchez y Corrales 2005

Metodología

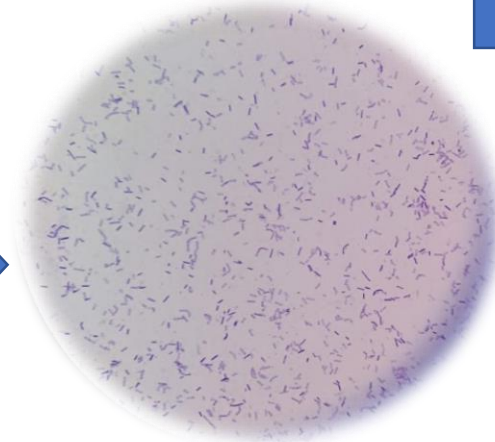
Fase 1. Desarrollo y Viabilidad de las Cepas



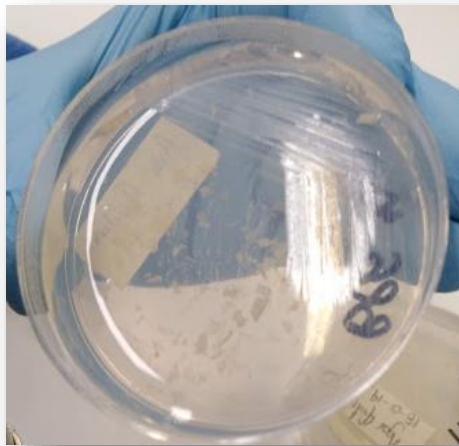
Incubación
37°C por 24h



Siembra por agotamiento
en Agar BHI

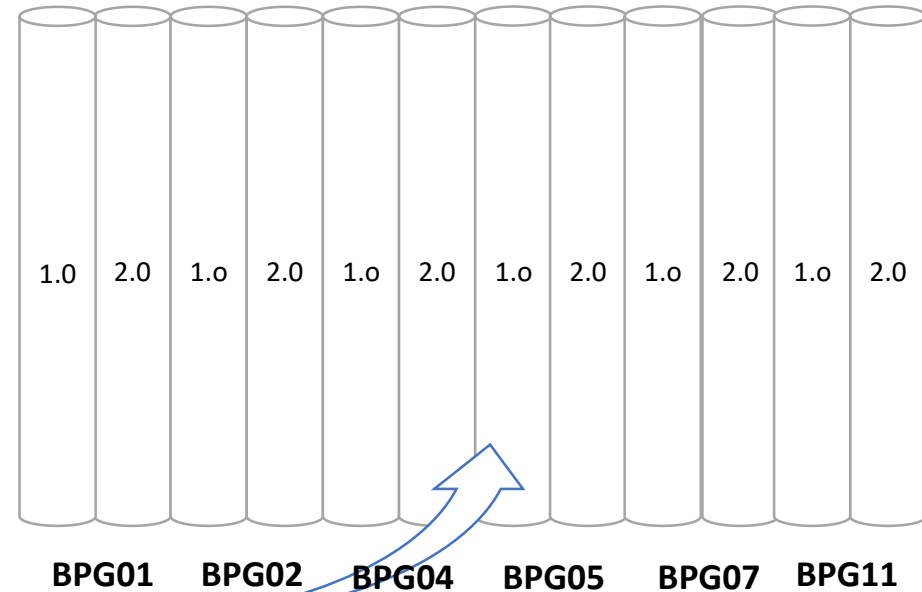


Evaluación de la viabilidad y
pureza por tinción de Gram.



Siembra por agotamiento
Agar Quitina

Fase 2. Activación de la
biomasa quitinolítica

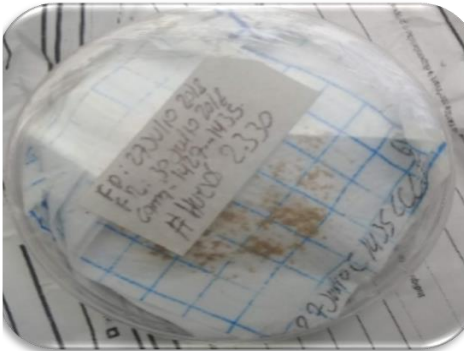


Suspensiones
bacterianas

Metodología

Cría de *Tecia solanivora*

Fase 3. Bioensayos



Los 2000 huevos se dejan 8 días



larvas L1 sensible a la luz



Montaje de larvas de *Tecia solanivora*



Pasadas tres semanas de haber realizado el montaje



La pupa dura de 15 a 18 días en salir



Montaje de cámara para recolección y clasificación



Cámara ovopositora con adultos de *Tecia solanivora*



Nuevos huevos de *Tecia solanivora*

Metodología

Bioensayos en huevos



230 huevos
producto de la cría



Se extrajo 20 huevos
producto de la cría



BPG 04
2.0 UFC/ml

BPG 05
2.0 UFC/ml

Cámara
húmeda con
papel filtro

Metodología

Bioensayos en larvas

210 huevos en cámara húmeda con agua destilada

8 días

Larvas neonatas L1.

12 larvas

Control Positivo
Fipronil

Control Negativo

12 larvas c/u

BPG01
1.0 2.0

BPG04
1.0 2.0

BPG07
1.0 2.0

BPG02
1.0 2.0

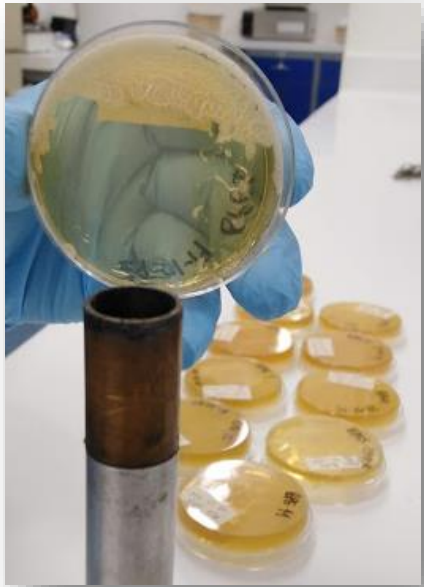
BPG05
1.0 2.0

BPG11
1.0 2.0

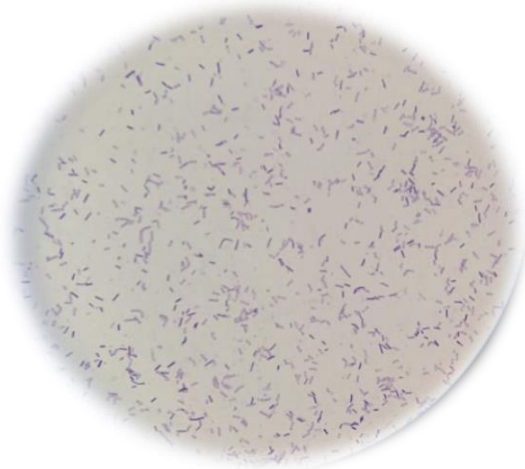


Resultados y discusión

Fase 1. Desarrollo y Viabilidad de las Cepas



Características Macroscópicas



Características Microscópicas, Tinción de Gram



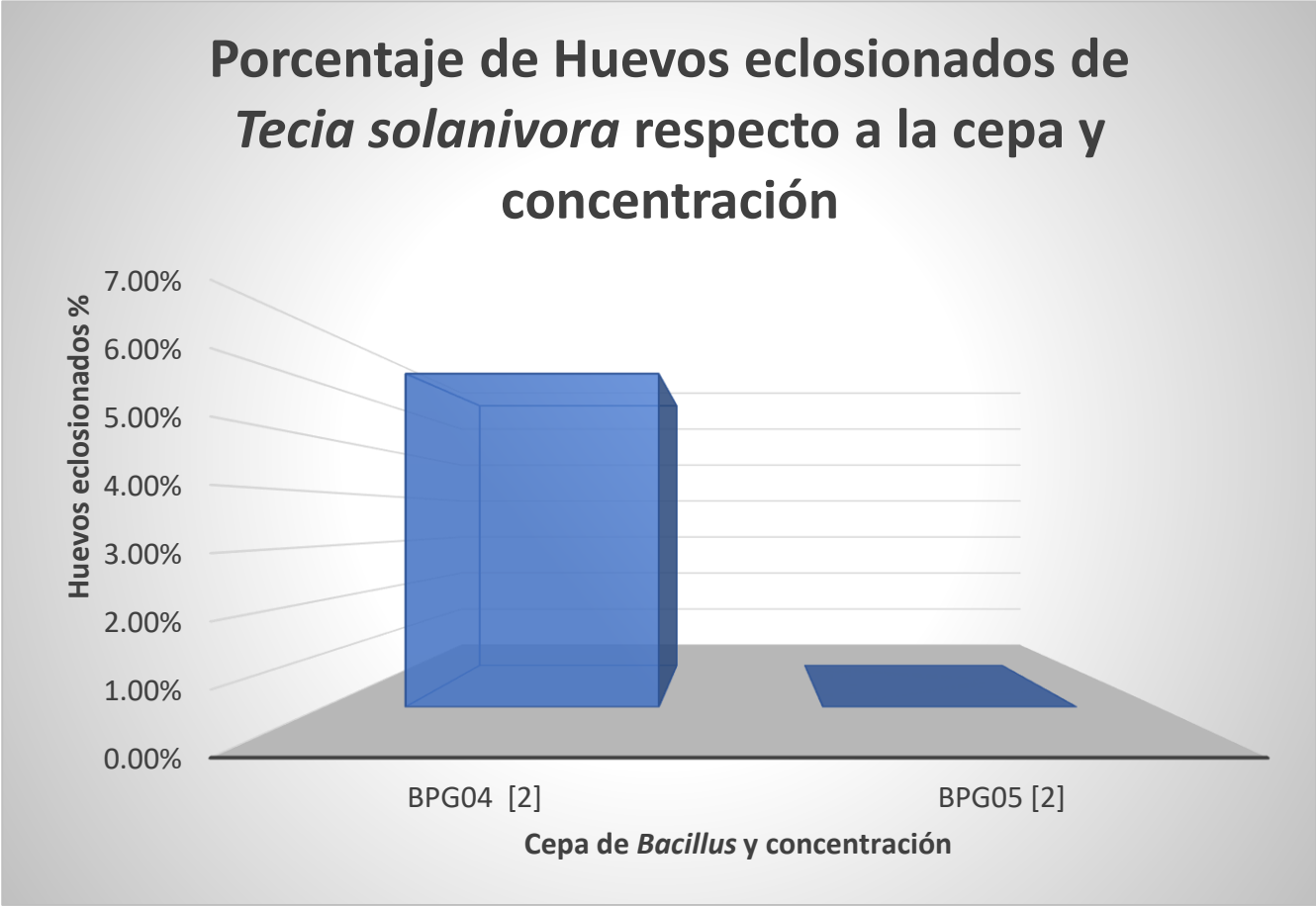
Tasharrofi y colaboradores en 2011 hablan de la afectación en la producción de quitinasas de *Bacillus pumilus* por compuestos como MgSO4 y FeSO4 en el medio.

Fase 2. Activación de la Biomasa quitinolítica

Cepa	24 horas	48 horas	72 horas	Nomenclatura
Bp01	-	-	-	BPG 01
BpC01	-	-	-	BPG 02
Bs01	-	-	-	BPG 03
BSC01	-	++	++	BPG 04
BI07	-	++	++	BPG 05
CH4	-	-	-	BPG 06
U2-01	-	-	-	BPG 07
CH7B	-	-	-	BPG 08
BIO10	-	-	-	BPG 09
TB2	-	-	-	BPG 10
Control TB2	-	-	-	BPG 11

Resultados y discusión

Bioensayos en Huevos



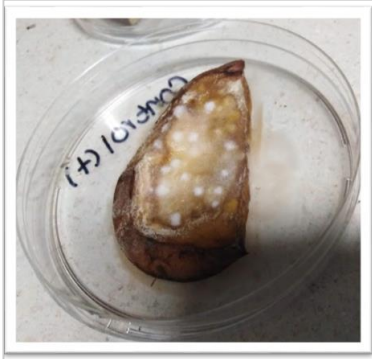
Cepa	Porcentaje de eclosión
BPG04 [2]	6.2%
BPG05 [2]	0%

Determinación de la viabilidad de los huevos para confirmación de los resultados

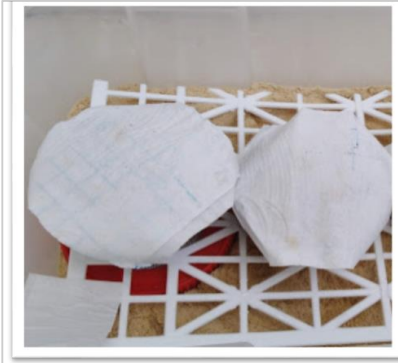
Bioensayo en Larvas

Resultados y discusión

SEMANA 1



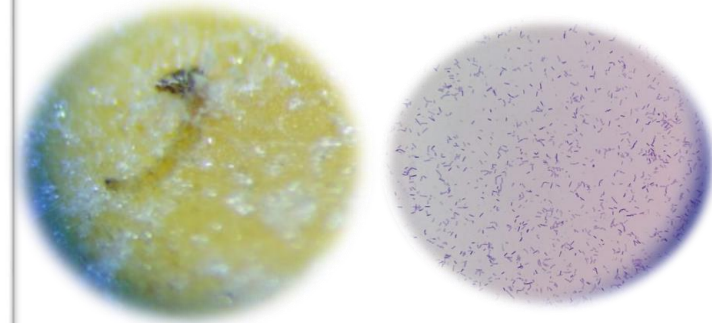
Control Positivo



Control Negativo

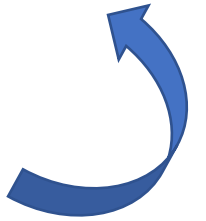
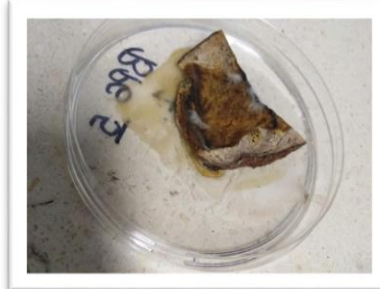
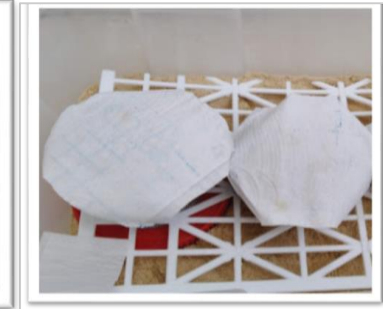


Cepa BPG 05

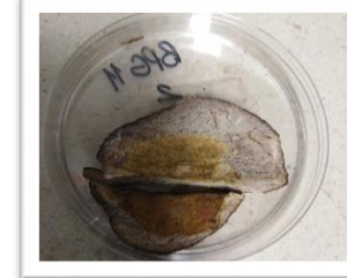


Cepas BPG 01 y BPG11

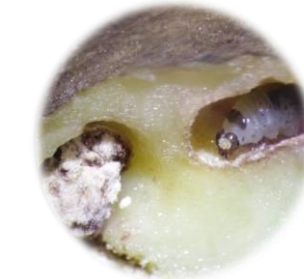
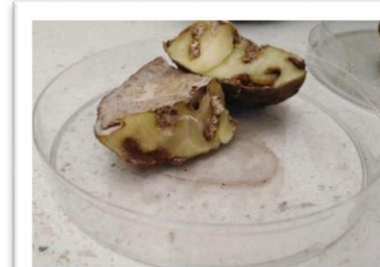
SEMANA 2



SEMANA 3

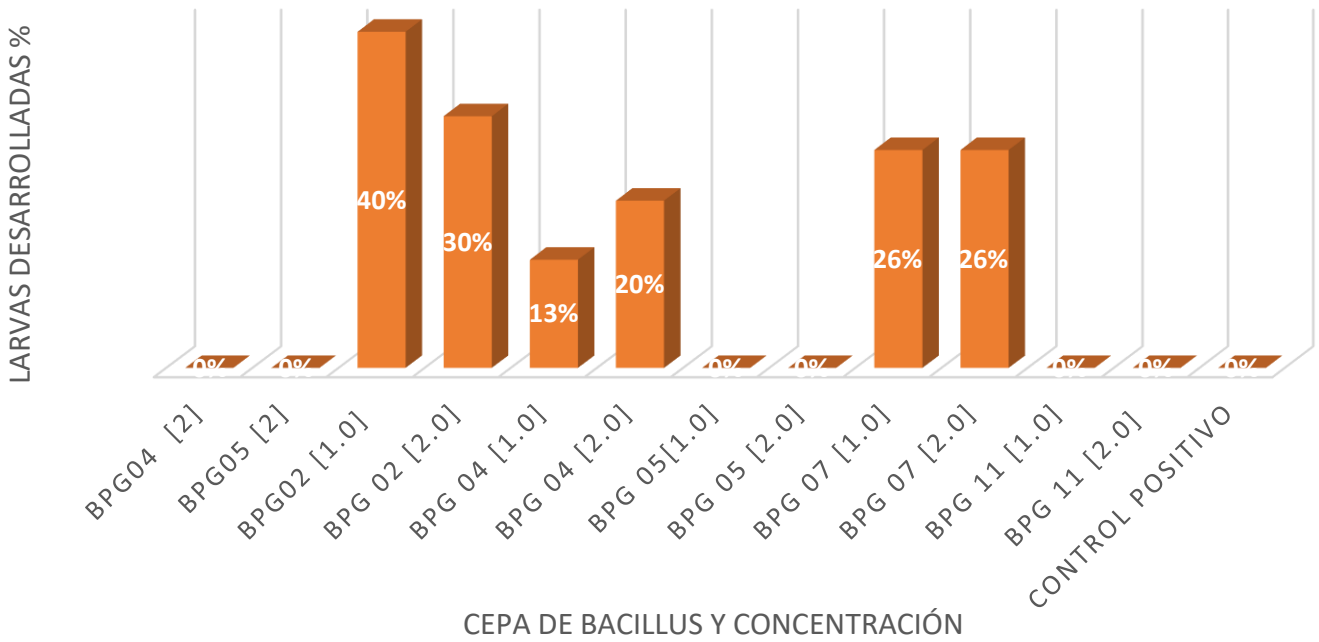


SEMANA 4



Cepa	Porcentaje de desarrollo
BPG01 [1.0]	0%
BPG01 [2.0]	0%
BPG02 [1.0]	40%
BPG 02 [2.0]	30%
BPG 04 [1.0]	13%
BPG 04 [2.0]	20%
BPG 05[1.0]	0%
BPG 05 [2.0]	0%
BPG 07 [1.0]	26%
BPG 07 [2.0]	26%
BPG 11 [1.0]	0%
BPG 11 [2.0]	0%
Control Positivo	0%

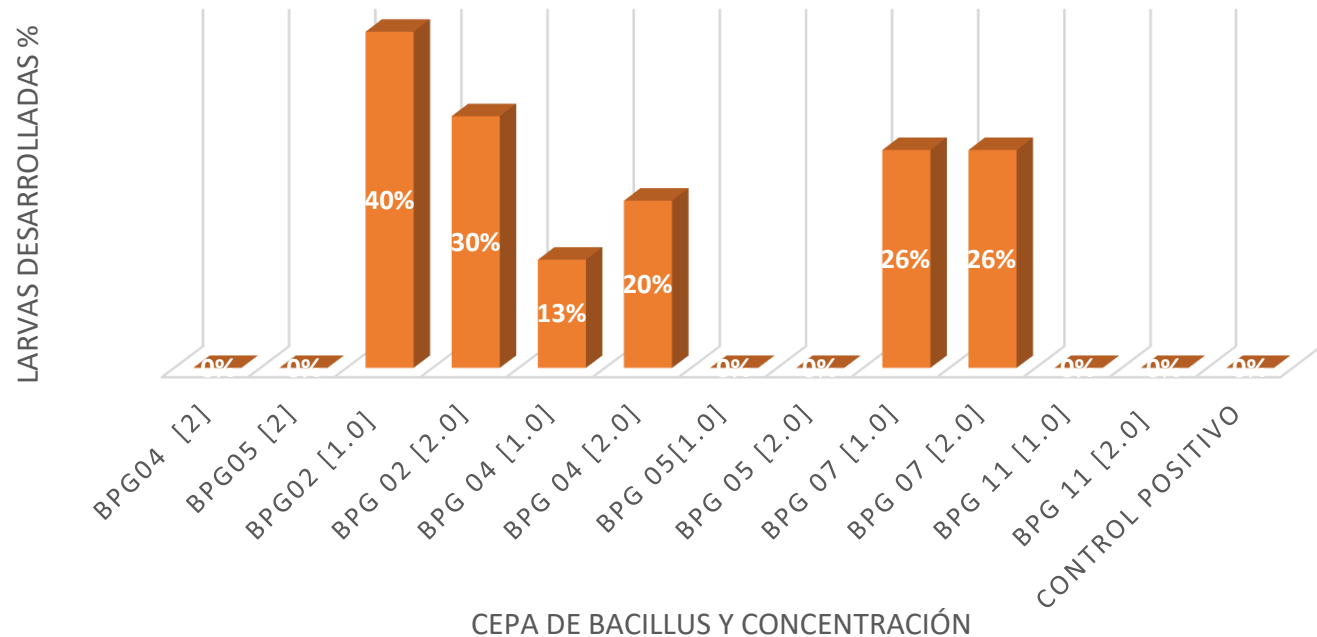
PORCENTAJE DE LARVAS DESARROLLADAS DE *TECIA SOLANIVORA* RESPECTO A LA CEPA Y CONCENTRACIÓN



Martínez y Colaboradores en 2003 por el método de inmersión obtuvieron valores promedio de mortalidad de 68,3 ug/ml y 91,4 ug/ml

Cepa	Porcentaje de mortalidad
BPG01 [1.0]	0%
BPG01 [2.0]	0%
BPG02 [1.0]	40%
BPG 02 [2.0]	30%
BPG 04 [1.0]	13%
BPG 04 [2.0]	20%
BPG 05[1.0]	0%
BPG 05 [2.0]	0%
BPG 07 [1.0]	26%
BPG 07 [2.0]	26%
BPG 11 [1.0]	0%
BPG 11 [2.0]	0%
Control Positivo	0%

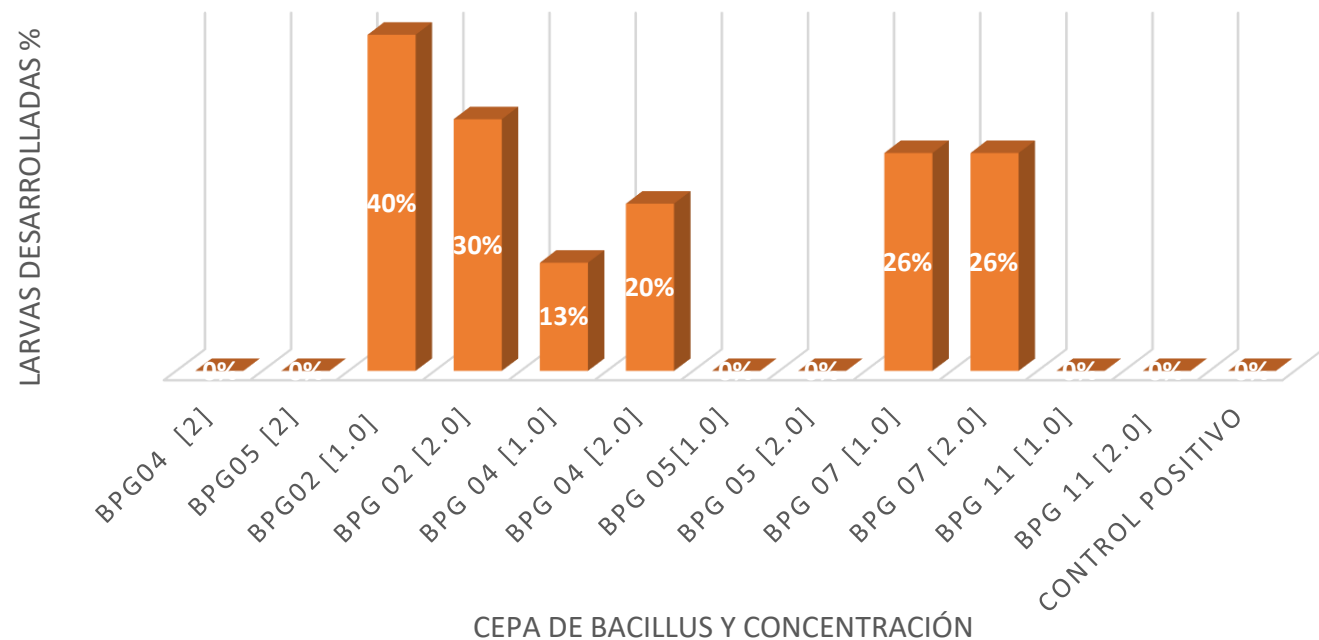
PORCENTAJE DE LARVAS DESARROLLADAS DE TECIA SOLANIVORA RESPECTO A LA CEPA Y CONCENTRACIÓN



Kheder y Colaboradores en 2015 en el control de *Rhizoctonia solani* por medio de *Bacillus subtilis* V26, redujeron la infección fúngica inoculando la bacteria V26 24 horas antes de la infección con el hongo, generando una acción de protección por la segregación de los diferentes lipopeptidos producidos por la bacteria.

Cepa	Porcentaje de mortalidad
BPG01 [1.0]	0%
BPG01 [2.0]	0%
BPG02 [1.0]	40%
BPG 02 [2.0]	30%
BPG 04 [1.0]	13%
BPG 04 [2.0]	20%
BPG 05[1.0]	0%
BPG 05 [2.0]	0%
BPG 07 [1.0]	26%
BPG 07 [2.0]	26%
BPG 11 [1.0]	0%
BPG 11 [2.0]	0%
Control	0%
Positivo	

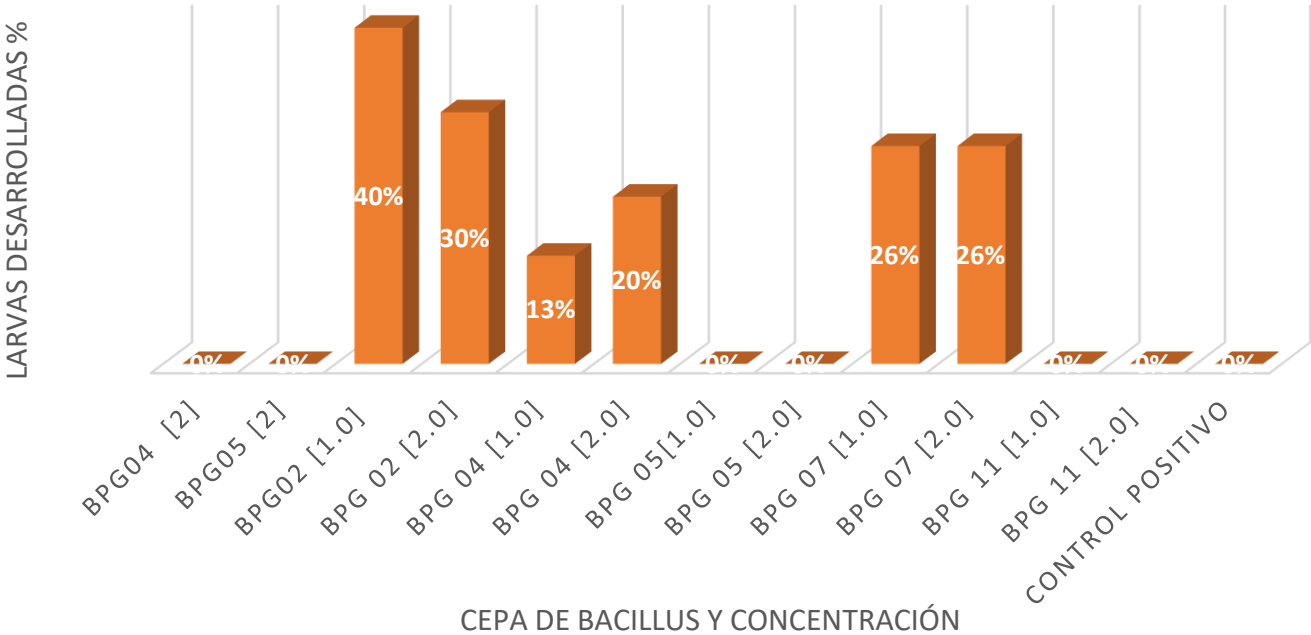
PORCENTAJE DE LARVAS DESARROLLADAS DE TECIA SOLANIVORA RESPECTO A LA CEPA Y CONCENTRACIÓN



Villareal M y Colaboradores en 2017 reportan la resistencia a plagas del tabaco como *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora nicotianae* por medio de la respuesta sistémica inducida, activando los genes PR2 que codifica para β -1,3 glucanasa y PR3 codifica para una quitinasa.

Cepa	Porcentaje de mortalidad
BPG01 [1.0]	0%
BPG01 [2.0]	0%
BPG02 [1.0]	40%
BPG 02 [2.0]	30%
BPG 04 [1.0]	13%
BPG 04 [2.0]	20%
BPG 05[1.0]	0%
BPG 05 [2.0]	0%
BPG 07 [1.0]	26%
BPG 07 [2.0]	26%
BPG 11 [1.0]	0%
BPG 11 [2.0]	0%
Control	0%
Positivo	

PORCENTAJE DE LARVAS DESARROLLADAS DE TECIA SOLANIVORA RESPECTO A LA CEPA Y CONCENTRACIÓN



Narvaez y Colaboradores en 2012 evaluaron la persistencia de los plaguicidas mas utilizados en Colombia en el ambiente y su ecotoxicidad, donde los valores mas altos se presenta en compuestos como Cipermetrina, Cloropirifios y Diazinon

Conclusiones

- Se logró producción de biomasa quitinolítica en dos de las once cepas *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus sphaericus* BPG04 y BPG05 por medio de su crecimiento en el Medio Quitina
- El control generado por parte de las cepas con producción de biomasa quitinolítica BPG4 y BPG05 en huevos de *Tecia solanivora* representa el 86% y 100% respectivamente al impedir su eclosión, sin embargo, los resultados deben ser confirmados con la evaluación de la viabilidad de los huevos.
- De las seis cepas seleccionadas para los bioensayos, BPG01 concentraciones 1.0 y 2.0 UFC/ml y BPG11 concentración 1.0 y 2.0 UFC/ml representaron los mejores resultados, teniendo un 100% de efectividad, al impedir la metamorfosis de los insectos sobre el tubérculo y la acción protectora sobre la papa impidiendo su pudrición. De esta manera, se demostró que hay un efecto insecticida presentado por *Bacillus* que podría estar relacionado con la producción de algún metabolito con acción protectora .
- Los resultados obtenidos confirman el uso de bacterias del género *Bacillus* como posible alternativa para el control de *Tecia solanivora*.

Recomendaciones



- ✓ Se recomienda implementar nuevos estudios que permitan confirmar el uso de *Bacillus spp* como agente insecticida, sin generar efectos colaterales en el cultivo o durante su manejo en el agricultor.
- ✓ Por otra parte, implementar bioensayos que permitan un control adecuado desde el estadio de huevos de *Tectia solanivora*, con el fin de controlar el desarrollo de esta plaga sobre los cultivos de papa pastusa.

Agradecimientos



M.Sc. Liliana Cely Pardo
M.Sc. Sthepanie Numa Vergel
M.Sc. Juan Camilo Ovalle



M.Sc. Ligia Consuelo Sánchez
Leal