

**UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
ÁREA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**EFFECTO DE LA COLONIZACIÓN ENDOFÍTICA DE *Beauveria*
bassiana Y *Metarhizium anisopliae* EN QUINUA SOBRE EL CICLO
DE VIDA DE *Helicoverpa quinoa* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE)**

Por:

Cristhian Condori Vera

EL ALTO – BOLIVIA

Noviembre, 2025

UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
ÁREA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

EFFECTO DE LA COLONIZACIÓN ENDOFÍTICA DE *Beauveria bassiana* Y *Metarhizium*
anisopliae* EN QUINUA SOBRE EL CICLO DE VIDA DE *Helicoverpa quinoa
(LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE)

Tesis de Grado presentado
como requisito para optar el Título de
Ingeniero Agrónomo

Cristhian Condori Vera

Asesores:

Lic. Ing. Reinaldo Quispe Tarqui

Ing. Marco Antonio Pari Ramirez

Tribunal Revisor:

M. Sc. Lic. Ing. Luis Fernando Machicao Terrazas

Lic. Ing. Miguel Angel Gonzales Aldana

Lic. Ing. Jorge Washington Guzman Calla

Aprobada

Presidente Tribunal Examinador

DEDICATORIA:

Dedico este trabajo a Dios todo poderoso, por acompañarme y darme fortaleza en cada paso;

A mis padres Norah Vera y Oscar Condori, por su amor, sacrificio y ejemplo; a mis queridos hermanos, por estar siempre a mi lado;

A mis queridos tíos Rubén y Diego Vera, así como a todas las personas que me brindaron su apoyo en este camino, siendo parte esencial para alcanzar este logro.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso que es grande en misericordia, por darme la vida y su amor incomparable.

A mis padres Norah y Oscar, mis hermanos Edil, Favio, Aldrin y Gabriela.

A la Universidad Pública de El Alto (UPEA), Carrera de Ingeniería Agronómica, a su plantel de docentes por haber contribuido en mi formación profesional.

A la Fundación PROINPA, al M.Sc. Ing. Wilfredo Rojas Coordinador de la Regional Altiplano y al Ph.D. Alejandro Bonifacio Flores, responsable del Centro de Innovación Agrícola Alejandro Bonifacio (CIAAB), respectivamente, por haberme abierto las puertas de esta institución para realizar una pasantía y posteriormente el presente trabajo de tesis.

Al M.Sc. Ing. Reinaldo Quispe Tarqui investigador de la Fundación PROINPA y docente de Carrera de Ingeniería Agronómica de la UPEA, por el asesoramiento, guía, sugerencia en la elección del tema de tesis y los sabios consejos brindados en elaboración del perfil, redacción del documento final y por la confianza.

Al tribunal revisor: M.Sc. Ing. Luis Fernando Machicao Terrazas, M.Sc. Ing. Jorge Washington Guzman Calla, Ing. Miguel Angel Gonzales Aldana, por sus recomendaciones, colaboración y sugerencias en la conclusión de tesis de grado.

Al Ing. Marco Antonio Pari Ramírez, Ing. Beatriz Hilda Ortiz Fernández, Ing. Ivan Nina Cruz, Ing. Ruth Casa Mamani, Ing. Nela Pacosillo, por brindarme su apoyo, consejos, tiempo y asesoramiento para la culminación del presente trabajo.

A mis compañeros y amigos de estudio, con quienes compartí muchas experiencias.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x

ÍNDICE DE TEMAS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Planteamiento del problema.....	2
1.3. Justificación.....	3
1.4. Objetivos	3
1.4.1. Objetivo general	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Hipótesis.....	4
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Cultivo de quinua.....	5
2.1.1. Descripción taxonómica	5
2.2. Plagas de la quinua	5
2.2.1. Complejo noctuidae	7
2.2.2. <i>Helicoverpa quinoa</i>	7
2.2.3. Daños causados por <i>Helicoverpa quinoa</i>	8
2.2.4. Clasificación taxonómica de <i>Helicoverpa quinoa</i>	8
2.2.5. Ciclo biológico de <i>Helicoverpa quinoa</i>	9
2.2.6. Descripción de <i>Helicoverpa quinoa</i>	9

2.2.6.1. Adulto	9
2.2.6.2. Huevo	10
2.2.6.3. Larva.....	10
2.2.6.4. Pre pupa	11
2.2.6.5. Pupa	11
2.2.7. Cría de insectos en laboratorio.....	11
2.2.7.1. El alimento natural en los insectos	12
2.2.7.2. Dieta artificial	12
2.3. Endófitos	13
2.3.1. Clasificación de los endófitos	13
2.3.2. Mecanismos de colonización endofítica	13
2.3.3. Funciones y beneficios de los endófitos.....	14
2.3.4. Importancia de los endófitos en la agricultura	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1. Localización.....	16
3.1.1. Ubicación geográfica	16
3.2. Materiales	16
3.2.1. Materiales biológicos	16
3.2.2. Material de laboratorio.....	16
3.2.3. Material de invernadero.....	17
3.2.4. Material de gabinete	17
3.3. Metodología.....	18
3.3.1. Cría de <i>Helicoverpa quinoa</i>	18
3.3.1.1. Ajuste de ambiente de cría.....	18
3.3.1.2. Prueba preliminar de cría de <i>H. quinoa</i>	18
3.3.1.3. Provisión del material experimental.....	18

3.3.1.4. Protocolo de alimentación de larvas de <i>H. quinoa</i> con dieta artificial y dieta natural (hojas y panoja de quinoa)	19
3.3.1.4.1. Dieta artificial para la cría de <i>H. quinoa</i>	19
3.3.1.4.2. Procedimiento de alimentación de las larvas	20
3.3.1.4.3. Manejo de estadios de desarrollo	21
3.3.2. Cultivo de plantas	21
3.3.2.1. Semillas	21
3.3.2.2. Preparación del sustrato	21
3.3.2.3. Siembra y manejo de invernadero	22
3.3.3. Hongos entomopatógenos	22
3.3.4. Métodos de inoculación de los hongos entomopatógenos a las plantas ...	22
3.3.4.1. Inoculación mediante tratamiento de semilla	22
3.3.4.2. Inoculación por vía foliar	23
3.3.5. Colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en plantas de quinua inoculadas con estos microorganismos	23
3.3.5.1. Muestreo de hojas, tallos y raíces	23
3.3.5.2. Esterilización superficial	24
3.3.5.3. Siembra en medio PDA	24
3.3.5.4. Incubación y evaluación	24
3.3.5.5. Cálculo del porcentaje de colonización	24
3.3.6. Efecto de la colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en plantas de quinoa sobre el desarrollo el ciclo de vida de <i>H. quinoa</i>	25
3.3.6.1. Condiciones del ensayo	25
3.3.6.2. Tratamientos evaluados	25
3.3.6.3. Obtención y manejo de larvas	25
3.3.6.4. Diseño experimental	26
3.3.6.4.1. Matriz de contrastes ortogonales	27
3.3.6.4.2. Variables evaluadas	27

3.3.7.	Efecto de la colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en plantas de quinua sobre la preferencia de oviposición de hembras de <i>H. quinoa</i>	28
3.3.7.1.	Material vegetal y diseño del ensayo.	28
3.3.7.2.	Condiciones del experimento	28
3.3.7.3.	Procedimiento de liberación de insectos	28
3.3.7.4.	Alimentación de adultos durante la prueba	29
3.3.7.5.	Registro de oviposición	29
3.3.7.6.	Variables de respuesta	29
3.3.8.	Análisis estadístico	30
3.3.8.1.	Análisis de varianza (ANOVA).....	30
3.3.8.2.	Prueba de medias de Duncan	30
3.3.8.3.	Análisis de preferencia de oviposición	30
4.	RESULTADOS Y DISCUSION	31
4.1.	Colonización endofítica de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua.....	31
4.2.	Efecto de la colonización endofítica de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua sobre el desarrollo de <i>Helicoverpa quinoa</i>	33
4.2.1.	Ciclo de vida de <i>Helicoverpa quinoa</i>	33
4.2.2.	Supervivencia de <i>Helicoverpa quinoa</i>	37
4.3.	Efecto de la colonización endofítica de <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua sobre la preferencia de oviposición de <i>Helicoverpa quinoa</i>	39
5.	CONCLUSIONES	42
6.	RECOMENDACIONES	43
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	44
8.	ANEXOS	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Insectos fitófagos asociados al cultivo de la quinua (ordenados en base a la mayor frecuencia de especies por orden)	6
Cuadro 2. Complejo "noctuidae" género y especie	7
Cuadro 3. Ingredientes para la elaboración de dieta artificial para la cría de <i>H. quinoa</i> . 19	
Cuadro 4. Descripción de los tratamientos para evaluar la mortalidad en larvas	25
Cuadro 5. Porcentajes de colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en hojas, tallo y raíces de plantas de quinua bajo dos métodos de inoculación.	31
Cuadro 6. Efecto de la colonización endofítica con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua sobre el desarrollo de <i>Helicoverpa quinoa</i>	34
Cuadro 7. Análisis de varianza para la duración de estadios de <i>Helicoverpa quinoa</i> en plantas de quinua inoculadas con <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y un testigo. 35	
Cuadro 8. Contrastes ortogonales aplicados para evaluar diferencias entre grupos de tratamientos en la duración de estadios de <i>Helicoverpa quinoa</i>	36
Cuadro 9. Efecto de la colonización endofítica con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua sobre la supervivencia (%) de <i>Helicoverpa quinoa</i>	37
Cuadro 10. Porcentaje de oviposición de <i>H. quinoa</i> en plantas de quinua inoculadas con hongos entomopatógenos endofíticos.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentajes de colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en hojas, tallo y raíces de plantas de quinua bajo dos métodos de inoculación.....	31
Figura 2. Efecto de la colonización endofítica con <i>Beauveria bassiana</i> y <i>Metarhizium anisopliae</i> en plantas de quinua sobre el desarrollo de <i>Helicoverpa quinoa</i>	34
Figura 3. Tendencia de supervivencia acumulada de <i>H. quinoa</i> bajo tratamientos con <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> y un testigo.....	37
Figura 4. Porcentaje de oviposición de <i>H. quinoa</i> en plantas de quinua inoculadas con <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> , y un testigo sin inoculación.	40

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Siembra de las plantas del tratamiento semilla	51
Anexo 2.	Inoculación del tratamiento foliar	52
	Alimentación con dieta artificial a las larvas de <i>H. quinoa</i>	52
Anexo 3.	52
Anexo 4.	Desinfección de la dieta natural	53
Anexo 5.	Alimentación con dieta natural a las larvas de <i>H. quinoa</i>	54
Anexo 6.	Manejo de larvas de <i>H. quinoa</i>	55
Anexo 7.	Muerte de larvas de <i>H. quinoa</i>	55
Anexo 8.	Evaluación la colonización endofítica de <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i> en plantas de quinua	56
Anexo 9.	Preferencia de oviposición de <i>H. quinoa</i> en plantas de quinua inoculadas con <i>B. bassiana</i> y <i>M. anisopliae</i>	57

ABREVIATURAS

Msnm	Metros sobre el nivel del mar
cm, mm, μm	Centímetro, Milímetro, Micrómetro
$^{\circ}\text{C}$	Grados Centígrados
h.	Horas
d.	Días
Msnm	Metros sobre el nivel del mar
%	Porcentaje
cm^3	Centímetro cubico
g, mg	Gramo, miligramo
<i>H.quinoa</i>	<i>Helicoverpa quinoa</i>
<i>B. bassiana</i>	<i>Beauveria Bassiana</i>
<i>M. anisopliae</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
♀	Hembra
♂	Macho
PDA	Potato Dextrose Agar
PROINPA	Promoción e Investigación de Productos Andinos

RESUMEN

En el altiplano boliviano, la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es atacada por varios insectos plaga, entre los cuales destaca *Helicoverpa quinoa* (Lepidóptera; Noctuidae) por los daños directos que ocasiona al grano y la disminución del rendimiento. Una alternativa sostenible para su manejo es el uso de hongos entomopatógenos con capacidad endofítica, como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, los cuales, además de infectar insectos, pueden colonizar tejidos vegetales y generar efectos directos o indirectos sobre los herbívoros. Con el objetivo de evaluar el efecto de la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en quinua sobre el desarrollo de *H. quinoa*, se realizó el presente estudio en invernadero y laboratorio del Centro de Innovación Agrícola Alejandro Bonifacio-CIAAB, (Viacha, La Paz). Se inocularon plantas de quinua mediante tratamiento de semilla y aspersión foliar a una dosis de 300 gr/ha. La colonización endofítica fue verificada en laboratorio a las dos semanas de la inoculación. Posteriormente, las plantas colonizadas se utilizaron como alimento para larvas de *H. quinoa* criadas en laboratorio, evaluándose la duración del ciclo de vida, la supervivencia y la preferencia de oviposición de adultos. Los resultados mostraron que *B. bassiana* logró establecerse como endófito en los tejidos de plantas de quinua, principalmente a través del tratamiento de semilla, mientras que *M. anisopliae* no fue recuperado en los tejidos analizados. El desarrollo del ciclo de vida de *H. quinoa* se redujo de 56 días en el testigo a 43 y 45 días en plantas inoculadas con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, respectivamente. Asimismo, la colonización endofítica disminuyó significativamente la supervivencia en larva y pupa, con mayor efecto en las plantas inoculadas por semilla. La preferencia de oviposición de hembras adultas de *H. quinoa* se redujo drásticamente en plantas inoculadas, concentrándose más del 65 % de los huevos en el testigo. Estos resultados evidencian que la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en quinua constituye una estrategia promisorio para el manejo sostenible de *H. quinoa* en sistemas de producción del altiplano boliviano.

ABSTRACT

In the Bolivian Altiplano, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is attacked by several insect pests, among which *Helicoverpa quinoa* (Lepidoptera; Noctuidae) stands out due to the direct damage it causes to the grain and the consequent yield reduction. A sustainable alternative for its management is the use of entomopathogenic fungi with endophytic capacity, such as *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, which, in addition to infecting insects, can colonize plant tissues and generate direct or indirect effects on herbivores.

With the objective of evaluating the effect of endophytic colonization by *B. bassiana* and *M. anisopliae* in quinoa on the development of *H. quinoa*, the present study was conducted in the greenhouse and laboratory of the Centro de Innovación Agrícola Alejandro Bonifacio (CIAAB), Viacha, La Paz. Quinoa plants were inoculated through seed treatment and foliar spraying at a dose of 300 g/ha. Endophytic colonization was verified in the laboratory two weeks after inoculation. Subsequently, the colonized plants were used as food for *H. quinoa* larvae reared under laboratory conditions, evaluating life cycle duration, survival, and adult oviposition preference.

The results showed that *B. bassiana* successfully established as an endophyte in quinoa plant tissues, mainly through seed treatment, whereas *M. anisopliae* was not recovered from the analyzed tissues. The life cycle duration of *H. quinoa* was reduced from 56 days in the control to 43 and 45 days in plants inoculated with *B. bassiana* and *M. anisopliae*, respectively. Likewise, endophytic colonization significantly decreased larval and pupal survival, with a stronger effect in seed-inoculated plants. The oviposition preference of *H. quinoa* adult females was drastically reduced in inoculated plants, with more than 65% of eggs laid on the control plants.

These results demonstrate that endophytic colonization of quinoa by *B. bassiana* and *M. anisopliae* represents a promising strategy for the sustainable management of *H. quinoa* in production systems of the Bolivian Altiplano.

1. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es una especie andina de gran relevancia alimentaria, cultural y económica, reconocida por su alto valor nutricional y su capacidad de adaptarse a condiciones agroclimáticas adversas (Tapia, 2015; Bazile *et al.*, 2016). Tradicionalmente cultivada por comunidades indígenas en zonas altoandinas de Sudamérica, en las últimas décadas ha experimentado un incremento notable en su demanda y superficie cultivada a nivel mundial, debido principalmente a su elevada calidad proteica y ausencia de gluten (Tapia *et al.*, 1979; FAO, 2011).

En Bolivia, la quinua constituye un pilar de la seguridad alimentaria y es el principal producto agrícola de exportación del altiplano, cultivado mayoritariamente bajo sistemas de producción orgánica, especialmente en la ecorregión del altiplano sur (suroeste de Oruro y Potosí). Sin embargo, su producción enfrenta a limitaciones debido al ataque de insectos plaga, principalmente noctuidos polífagos como *Helicoverpa quinoa*, *Copitarsia incommoda* y *Agrotis ipsilon* (Saravia y Quispe, 2005; Gómez y Aguilar, 2016a). De los mencionados, destaca *Helicoverpa quinoa* (Lepidóptera: Noctuidae), especie recientemente descrita y considerada plaga clave del cultivo (Ramos-Ticona *et al.*, 2024). Las larvas de esta especie presentan una elevada voracidad por hojas y panojas, provocando pérdidas económicas significativas.

Ante esta problemática, resulta prioritario desarrollar estrategias de manejo sostenible, especialmente en sistemas orgánicos. En este contexto, los hongos entomopatógenos con capacidad endofítica, como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, representan una alternativa promisorio. Estos microorganismos, además de su conocida acción entomopatógena, pueden colonizar tejidos vegetales sin causar síntomas visibles, ejerciendo efectos antagónicos sobre insectos fitófagos que se alimentan de ellos (Bamisile *et al.*, 2018; Vega, 2018a). Investigaciones previas han demostrado que la colonización endofítica puede modificar el comportamiento alimenticio y reproductivo de insectos plaga, afectar su longevidad y fecundidad, e incluso influir en la preferencia de oviposición de las hembras (Akutse *et al.*, 2013; González-Mas *et al.*, 2021).

No obstante, los estudios que evalúan la interacción entre plantas de quinua colonizadas por estos hongos y su plaga *H. quinoa* son aún limitados, particularmente en lo referente a su ciclo de vida y comportamiento de oviposición.

1.1. Antecedentes

Los hongos endófitos, como *B. bassiana* y *M. anisopliae*, poseen la capacidad de colonizar tejidos vegetales sin provocar síntomas visibles en la planta hospedera (Goettel *et al.*, 1997; Vidal y Jaber, 2015). Además de su papel como entomopatógenos, se consideran endófitos funcionales con potencial para inducir resistencia en las plantas y afectar negativamente el desarrollo de insectos herbívoros (Sanchez *et al.*, 2013).

En diversos cultivos, por ejemplo el maíz, se ha logrado su introducción mediante aplicaciones foliares o tratamientos de semillas, alcanzando tasas de colonización superiores al 70% (vía foliar) y provocando efectos adversos sobre plagas como *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae), al reducir su tasa de desarrollo, fecundidad y viabilidad (Altaf *et al.*, 2023). En el Perú, se ha evaluado el efecto de hongos endófitos en el cultivo de quinua para el control de insectos plaga: *Trichoderma* sp. endófito y microorganismos eficaces (EM-1) demostraron capacidad para reducir la incidencia de la polilla kcona kcona (*Eurysacca* sp.) y mejorar el rendimiento del cultivo (León Ttacca *et al.*, 2021).

1.2. Planteamiento del problema

La producción de quinua en el altiplano boliviano enfrenta una amenaza creciente debido al daño ocasionado por larvas de *H. quinoa*, plaga clave del cultivo que puede reducir el rendimiento y la calidad del grano hasta en un 20 % (PROINPA., 2014; Ramos-Ticona *et al.*, 2024). En los últimos años, su incidencia y distribución geográfica se han visto favorecidas por las condiciones climáticas del Altiplano (altas temperaturas y baja precipitación), lo que puede permitir varias generaciones por año (2–3 según reportes técnicos locales). Esta dinámica poblacional eleva los costos de control (Saravia *et al.*, 2014 a; Ramos-Ticona *et al.*, 2024). El manejo actual de *H. quinoa* presenta limitaciones, principalmente por la baja eficacia de las herramientas disponibles y por el acceso restringido a insumos de control (insecticidas y bioinsecticidas). Esta situación es más crítica en sistemas orgánicos, predominantes en el altiplano sur, donde el uso de insumos sintéticos está prohibido.

1.3. Justificación

Fortalecer el manejo orgánico de la quinua mediante estrategias agroecológicas que incorporen microorganismos entomopatógenos con capacidad endofítica representa una vía prometedora (Altaf *et al.*, 2023). El término “endófita” fue acuñado por Anton de Bary en 1866 para describir microorganismos que viven dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas visibles (Vinha *et al.*, 2023). Estos microorganismos pueden actuar mediante dos vías: 1) mecanismos indirectos/químicos producción de metabolitos primarios y secundarios, enzimas y compuestos orgánicos volátiles que inducen antibiosis, competencia o resistencia sistémica y 2) mecanismos directos/físicos interacciones de contacto como el micoparasitismo (Card *et al.*, 2016).

La colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en quinua podría contribuir al control de *H. quinoa*, combinando el efecto entomopatógeno con la protección endógena de la planta. Evaluar su eficacia y optimizar los métodos de inoculación no solo permitirá avanzar en el conocimiento científico, sino que también ofrecerá herramientas prácticas para una producción más sostenible de la quinua en el altiplano boliviano.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la colonización endofítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en quinua sobre el ciclo de vida de *Helicoverpa quinoa* (Lepidóptera: Noctuidae).

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua inoculadas con estos microorganismos.
- Evaluar el efecto de la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua sobre el desarrollo de *H. quinoa*.
- Cuantificar el efecto de la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua sobre la preferencia de oviposición de hembras de *H. quinoa*.

1.5. Hipótesis

- Las plantas de quinua inoculadas con *B. bassiana* y *M. anisopliae* no presentan colonización endofítica significativa en comparación con el testigo.
- La colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua no afecta significativamente el desarrollo ni la duración de los estadios del ciclo de vida de *H. quinoa* en comparación con el testigo.
- La colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua no modifica significativamente la preferencia de oviposición de hembras de *H. quinoa* en comparación con el testigo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultivo de quinua

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es reconocida por su alta calidad nutricional, debido a su equilibrio de aminoácidos esenciales, alto contenido de proteínas y su capacidad de adaptación a condiciones ambientales adversas (Bazile *et al.*, 2016). Es un cultivo que puede desarrollarse en suelos pobres y con escasa disponibilidad hídrica, mostrando resistencia a sequías, heladas y salinidad (Tapia, 2015). Su cultivo es viable desde el nivel del mar hasta más de 4000 msnm, en distintos pisos ecológicos, lo que lo convierte en una alternativa estratégica frente al cambio climático (Mujica, 2001; FAO, 2011).

2.1.1. Descripción taxonómica

Según Avendaño (2023), la quinua presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Caryophyllales
Familia: Amaranthaceae
Subfamilia: Chenopodioideae
Género: *Chenopodium*
Especie: *Chenopodium quinoa* Willd.

La quinua es una planta anual adaptada a diferentes condiciones agroecológicas, con un ciclo de crecimiento que oscila entre 120 y 250 días, dependiendo del genotipo y las condiciones ambientales. Además, muestra una gran diversidad genética y morfológica que permite su cultivo en altitudes que van desde los 2,500 hasta más de 4,000 metros sobre el nivel del mar (Gandarillas *et al.*, 2015).

2.2. Plagas de la quinua

En el cultivo de quinua, *H. quinoa* causa daños severos, reduciendo el rendimiento y calidad del grano. Esta plaga afecta principalmente las hojas y panojas, provocando pérdidas económicas de hasta 45% en regiones altoandinas. Su impacto es más grave durante la

floración y llenado de granos, siendo considerada una de las plagas clave del cultivo (Gómez y Aguilar, 2016a).

Según Saravia *et al.* (2014d), los insectos plaga son organizados en distintas categorías, tal como se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Insectos fitófagos asociados al cultivo de la quinua (ordenados en base a la mayor frecuencia de especies por orden)

Orden	Familia	Genero	Especie
Lepidóptera	Gelechidae	<i>Eurysacca</i>	<i>E. melanocampta</i> Meyrick
			<i>E. quinoa</i> Povolny
	Geometridae	<i>Perizoma</i>	<i>P. sordescens</i> Dognin
		<i>Agrotis</i>	<i>A. ipsilon</i> (Hufnagel)
			<i>C. decolora</i> Guende
			<i>C. incomoda</i> Walker
		<i>Copitarsia</i>	<i>C. turbata</i> Herrich-Schaeffer
			<i>D. graminivora</i> Walker
			<i>D. acanthus</i> Herrich-Schaeffer
		<i>Dargida</i>	<i>F. experta</i> Walker
		<i>Feltia</i>	<i>H. quinoa</i>
			<i>H. titicacae</i> Hardwick
			<i>H. atacamae</i>
		<i>Heliothis</i>	<i>H. zea</i> (Boddie)
			<i>H. titicaquensis</i>
		<i>Peridroma</i>	<i>P. saucia</i> (Hubner)
		<i>Pseudaletia</i>	<i>P. unipunctata</i> Haworth
			<i>P. interrupta</i> Maassen
		<i>Spodoptera</i>	<i>S. eridamia</i> (Cramer)
			<i>S. frugiperda</i> (J. E. Smith)
	Pyraliadae	<i>Herpetogramma</i>	<i>H. bipunctalis</i> (Fabricius)
		<i>Spoladea</i>	<i>S. recurvalis</i> (Fabricius)
		<i>Pachyancia</i>	<i>Pachyancia</i> sp.
		<i>Hymenia</i>	<i>Hymenia</i> sp.
Coleóptera	Bruchidae	<i>Acanthoscelides</i>	<i>A. diasanus</i> (Pic)
	Chrysomelidae	<i>Acalymma</i>	<i>A. demissa</i>
		<i>Calligrapha</i>	<i>C. curvilinear</i> Stal
		<i>Diabrotica</i>	<i>Diabrotica</i> spp.
			<i>Diabrotica specios</i>
		<i>Epitrix</i>	<i>E. subcrinita</i> Leconte
			<i>E. yanazara</i> Bechyne
	Curculionidae	<i>Adiovistus</i>	<i>Adioristus</i> sp.

	Meloidae	<i>Epicauta</i>	<i>E. latitarsis</i> Haag
			<i>E. marginata</i> Fabricius
			<i>E. willei</i> Denier
	Tenebrionidae	<i>Meloe</i>	<i>Meloe</i> sp.
		<i>Pilobalia</i>	<i>Pilobalia</i> sp.

Fuente: (Saravia M. *et al.*, 2014)

2.2.1. Complejo noctuidae

Aunque se mencionan plagas *noctúideas* como *Helicoverpa armigera*, *Copitarsia decolora* y *Agrotis ipsilon* por su amplio espectro alimenticio, la evidencia específica sobre su incidencia en quinua andina es limitada. En Bolivia, estudios como Gómez y Aguilar (2016b) y otros posteriores han identificado especies propias del altiplano que sí afectan seriamente el cultivo: *Helicoverpa titicacae*, *Copitarsia incommoda* y *Agrotis andina* (localmente referidos como el complejo 'ticona'), cuyas larvas provocan corte de tallos jóvenes, defoliación y destrucción de órganos reproductivos (Saravia y Quispe, 2005). Estos lepidópteros completan dos ciclos generacionales durante el periodo de cultivo: el primero coincide con el desarrollo vegetativo temprano (8–10 hojas) y el segundo, con la fase de floración (Quispe *et al.*, 2020). La clasificación taxonómica detallada de estas especies se presenta en el Cuadro 2 del estudio de (Saravia *et al.*, 2014c).

Cuadro 2. Complejo "noctuidae" género y especie

Clase	Orden	Familia	Género	Especie
Insecta	Lepidóptera	Noctuidae	<i>Helicoverpa</i>	<i>H. quinoa</i> Pogue & Harp
			<i>Copitarsia</i>	<i>C. incommoda</i> Walker
			<i>Copitarsia</i>	<i>C. decolora</i> Guenée

Fuente: Saravia *et al.* (2014)

2.2.2. *Helicoverpa quinoa*

Estudios genéticos realizados por Pogue (2013), en colaboración con investigadores de PROINPA, mediante análisis de ADN mitocondrial, confirmaron que *Helicoverpa gelotopoeon* corresponde en realidad a *Helicoverpa quinoa* (Gandarillas *et al.*, 2014). Investigaciones posteriores han establecido que esta especie es un noctúideo de importancia económica en el cultivo de quinua, con una mayor incidencia en dos regiones estratégicas del Altiplano boliviano:

- Áreas próximas al Salar de Uyuni (Potosí)
- Zona norte del Lago Titicaca (La Paz)

Los daños ocasionados por *H. quinoa* afectan principalmente el desarrollo vegetativo de las plantas, lo que compromete el rendimiento final del cultivo (Saravia *et al.*, 2014b).

2.2.3. Daños causados por *Helicoverpa quinoa*

H. quinoa es considerada una de las plagas más perjudiciales del cultivo de quinua en la región andina. Según estudios de Gandarillas A. *et al.* (2014), esta especie puede provocar pérdidas de rendimiento que oscilan entre el 30 % y el 70 %, afectando tanto las fases vegetativas como reproductiva del cultivo. La magnitud del daño varía en función de la densidad poblacional de la plaga y de las condiciones agroclimáticas propias de cada zona de producción.

Las larvas recién eclosionadas (estadios L1–L2) se alimentan principalmente de tejidos tiernos, incluyendo brotes apicales y hojas jóvenes. (Santibáñez L., 2016b), reporta que, en esta fase inicial, también pueden dañar las inflorescencias en desarrollo, comprometiendo la formación normal de las panojas. Conforme avanzan a estadios larvales más desarrollados (L3–L5), incrementan notablemente su capacidad de consumo, llegando a defoliar entre 25 y 40 cm² por larva a lo largo de su desarrollo.

Durante la fase reproductiva, el daño se intensifica porque las larvas consumen granos en formación; el estado de grano lechoso es especialmente crítico por el impacto directo en rendimiento y calidad (PROINPA., 2014).

2.2.4. Clasificación taxonómica de *Helicoverpa quinoa*

Según Saravia *et al.* (2014a), la clasificación taxonómica es la siguiente:

Clase: Insecta

Orden: Lepidoptera

Suborden: Frenatae

Familia: Noctuidae

Subfamilia: Cuculliinae

Género: *Helicoverpa*

Especie: *Helicoverpa quinoa* Pogue & Harp

2.2.5. Ciclo biológico de *Helicoverpa quinoa*

El ciclo biológico de un insecto comprende el tiempo total desde la cópula y fertilización del óvulo hasta la etapa adulta, incluyendo la longevidad en esta última fase, y también se conoce como tiempo de sobrevivencia (Bravo M., 2004). Según Huamán G. (2023), las larvas de lepidópteros completan su desarrollo a través de seis a siete estadios larvales.

En el caso de *H. quinoa*, criado en el laboratorio de Entomología de PROINPA (Viacha, La Paz) bajo condiciones controladas de 25 °C y 60 % de humedad relativa, el ciclo de vida tiene una duración promedio de 223 ± 36 días, incluyendo la longevidad del adulto. El periodo de incubación dura aproximadamente 5 ± 1 días, la fase larval se extiende por 26 ± 3 días, el estado de pre-pupa dura 9 ± 1 días, y la pupa tiene una duración de 175 ± 29 días. Finalmente, el adulto vive entre 6 y 10 días en promedio (Saravia *et al.*, 2014a).

2.2.6. Descripción de *Helicoverpa quinoa*

2.2.6.1. Adulto

El adulto de *H. quinoa* es una especie polífaga de cuerpo robusto y hábitos principalmente crepusculares. Posee antenas filiformes y un aparato bucal tipo chupador, conformado por un sifón o espiritrompa. La longitud del cuerpo alcanza aproximadamente los 19 mm, con una de la envergadura alar que varía entre 35 y 45 mm (PROINPA., 2014; Saravia *et al.*, 2014d). Las alas anteriores en las hembras son de color pardo, presentan franjas oscuras y dos manchas pequeñas de forma circular. En los machos, en cambio, las alas son de tonalidad verdosa clara, con manchas menos evidentes que en las hembras. De manera general, las alas posteriores son blanquecinas con franjas o bordes distales oscuros en ambos sexos (Santibáñez L., 2016a).

Los adultos se observan activos durante el día y se alimentan del néctar de flores silvestres, desplazándose de una planta a otra. Las especies vegetales más frecuentemente visitadas incluyen el botón de oro o qillu-qillu (*Hymenoxys robusta*), la chachacoma (*Senecio eriophyton*) y la malva o qura (*Taras satenella*) (Gandarillas A. *et al.*, 2014; Saravia *et al.*, 2014d).

2.2.6.2. Huevo

Las hembras de *H. quinoa* ovipositan de manera aislada, preferentemente en el borde de las hojas, el envés foliar o en las panojas, dependiendo de la disponibilidad del sustrato vegetal (Santibáñez L., 2016b; Quispe, 2021), La capacidad de oviposición varía entre 1000 y 1800 huevos por hembra a lo largo de su ciclo reproductivo (Gandarillas A., 2015).

Los huevos son de forma esferoidal con superficie estriada radialmente, y presentan inicialmente un color blanquecino claro. A medida que se aproximan a la eclosión, desarrollan una tonalidad más oscura, con una franja ecuatorial rosada y una mancha rojiza o marrón en el área micropilar (Saravia *et al.*, 2014a; Areces, 2022). Miden aproximadamente 0,4 mm de altura × 0,5 mm de diámetro (Saravia M., 2020).

2.2.6.3. Larva

La fase larval de *H. quinoa* comprende seis estadios, siendo esta la etapa de mayor impacto económico en el cultivo debido al nivel de daño que ocasiona en hojas, tallos y panojas (Guzmán M. *et al.*, 2014; Navarro P., 2018). Las larvas recién eclosionadas pueden presentar comportamientos de canibalismo cuando existe una alta densidad poblacional, afectando la supervivencia entre individuos (Navarro P., 2018). A partir del cuarto estadio, las larvas comienzan a cortar hojas y brotes tiernos, generando caída de estructuras vegetativas y reproductivas de la planta (PROINPA., 2014).

Durante su desarrollo, las larvas presentan una coloración variable, que va desde el amarillo pálido hasta el verde claro y el negro. En el último estadio, alcanzan entre 30 y 35 mm de longitud, mostrando tres bandas dorsales oscuras y una banda lateral blanquecina característica (Cruces R. y Callohuari C., 2016). El reconocimiento de los diferentes estadios larvales puede realizarse mediante la medición del ancho de la cápsula cefálica y la distancia entre las setas frontales (Zúñiga S. y Huanca P., 2011).

En el primer estadio, el aparato digestivo es visible a través del tegumento, el último segmento abdominal es negro y se observa un punto oscuro entre dos anillos en los segmentos iniciales del cuerpo. En el segundo estadio, la coloración general se torna marrón y los tubérculos se hacen más prominentes. En el tercer estadio aparecen manchas blancas a los costados, y en el cuarto estadio la coloración se oscurece, los tubérculos se vuelven cónicos y se desarrollan tres bandas blancas dorsales. En el quinto estadio, el

cuerpo se aclara, mientras que la banda longitudinal dorsal se intensifica y los tubérculos pierden color y visibilidad (Guzmán *et al.*, 2014).

2.2.6.4. Pre pupa

La fase de pre-pupa representa la etapa final del desarrollo larval de *H. quinoa*, comprendida entre el momento en que la larva deja de alimentarse y el inicio de la pupación (Vélez, 1997; Ali *et al.*, 2009). Durante esta fase, la larva detiene completamente su actividad alimenticia, cesa sus movimientos y se prepara fisiológicamente para la metamorfosis. Morfológicamente, el cuerpo comienza a perder su coloración característica, volviéndose más pálido y presentando un aspecto corrugado, lo que indica el cese del crecimiento y la proximidad del estadio pupal (Guzmán *et al.*, 2014).

2.2.6.5. Pupa

La pupa de *H. quinoa* es de tipo obtecta, con una coloración naranja brillante y marcas oculares de color negro. Las divisiones intersegmentales son claramente visibles y el cremaster se caracteriza por presentar cuatro procesos en forma de espinas (PROINPA., 2014; Saravia *et al.*, 2014a). Durante esta etapa, se pueden observar distintos grados de desarrollo según el cambio de coloración: la pupa se oscurece progresivamente hasta la emergencia del adulto (Guzmán *et al.*, 2014).

Una característica relevante de esta fase es la posibilidad de diferenciar los sexos. El dimorfismo sexual es evidente en el estado pupal: las hembras presentan una abertura genital ubicada en el esternito del octavo segmento abdominal, mientras que en los machos el esternito está en el noveno segmento. Además, las pupas de hembras son generalmente de mayor tamaño y peso que las de los machos (Rincón y López, 2004). Esta etapa, por tanto, resulta fundamental para la determinación sexual de los individuos.

2.2.7. Cría de insectos en laboratorio

La cría de insectos en laboratorio se realiza con el objetivo de estudiar poblaciones bajo condiciones homogéneas de temperatura, humedad relativa y fotoperiodo, lo que permite obtener un alto número de individuos viables gracias a condiciones óptimas que reducen la mortalidad y favorecen su producción (Martiradonna *et al.*, 2009; Schowalter, 2011). Este proceso es fundamental para investigaciones relacionadas con la biología, desarrollo,

comportamiento, pruebas de bioinsecticidas y alternativas de control de plagas (Portilla y Streett, 2006).

Un aspecto importante en la cría es la dieta, que puede ser natural o artificial, ya que influye directamente en la fertilidad, tamaño de las larvas, proporción sexual y supervivencia (Schowalter, 2011). La velocidad de alimentación, así como la calidad y cantidad del alimento, determinan la tasa de crecimiento, peso final, supervivencia y fecundidad (Saravia *et al.*, 2014a). Las dietas artificiales han demostrado ser eficaces para facilitar el desarrollo de insectos en ambientes controlados (Cohen, 2018).

A nivel mundial, la cría de insectos también es una herramienta clave para programas de control biológico, usos médicos, y la producción de seda, miel, goma laca y cera. En el ámbito agrícola, permite estudiar con mayor profundidad plagas de interés económico. Investigaciones previas han demostrado que la cría de insectos del complejo noctuídeo, específicamente *C. incommoda* y *H. quinoa*, es factible en condiciones de laboratorio. Estos insectos, considerados plagas importantes del cultivo de quinua, pueden ser criados de forma masiva y permanente para desarrollar pruebas de laboratorio, evaluar bioinsecticidas y estudiar a profundidad su biología, comportamiento y mecanismos de control (PROINPA., 2014).

2.2.7.1. El alimento natural en los insectos

En condiciones naturales, los insectos obtienen su alimento directamente del entorno en el que habitan. Según el rol ecológico que cumplen, su dieta puede variar. Por ejemplo, los insectos fitófagos o herbívoros se nutren de diferentes partes de las plantas hospederas como raíces, tallos, hojas, frutos o semillas, las cuales les suministran los nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo (Schowalter, 2011).

2.2.7.2. Dieta artificial

Permiten estandarizar la alimentación, reducen el riesgo de contaminación y eliminan la dependencia de plantas hospederas, manteniendo una fuente constante de nutrientes durante el ciclo larval (Murúa *et al.*, 2003).

Generalmente, están compuestas por harinas vegetales (poroto, soja, maíz, alfalfa, germen de trigo), proteínas, lípidos, aminoácidos esenciales, agar, vitaminas, extractos vegetales y fagoestimulantes (Villacorta, 2001). Además de su valor nutritivo, funcionan como el medio

donde las larvas realizan sus procesos fisiológicos como la muda, excreción y respiración (Medina y Hernández, 2020).

2.3. Endófitos

Actualmente, los endófitos se definen como microorganismos, principalmente hongos y bacterias, que colonizan interna y asintóticamente diversos tejidos de la planta hospedera como raíces, tallos, hojas o semillas (Wilson, 1995; Hallmann *et al.*, 1997).

Este grupo microbiano ha sido reportado en casi todas las plantas estudiadas, siendo especialmente abundantes en especies tropicales y en ambientes con condiciones extremas (Arnold *et al.*, 2003). Su función ecológica puede variar desde relaciones mutualistas hasta comensalismo o latencia (Rodríguez *et al.*, 2009), dependiendo del tipo de microorganismo, la planta hospedera y las condiciones ambientales.

2.3.1. Clasificación de los endófitos

La clasificación más común distingue entre endófitos obligados (que requieren la planta para completar su ciclo) y facultativos (que pueden vivir de forma libre en el suelo) (Stone *et al.*, 2000). Según Saikkonen *et al.* (1998) se diferencian en su modo de transmisión: vertical (por semilla) o horizontal (por el ambiente).

En el caso de los hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, se ha demostrado su capacidad de establecerse como endófitos facultativos, colonizando tejidos vegetales sin causar síntomas y otorgando protección frente a insectos fitófagos (Vega, 2008; Bamisile *et al.*, 2018).

2.3.2. Mecanismos de colonización endofítica

Los hongos entomopatógenos colonizan a las plantas a través de múltiples vías: por las raíces, por las estomas o por heridas, y pueden ser inoculados mediante técnicas artificiales como la aspersión foliar, inmersión de semillas o inyección en tejido (Posada y Vega, 2007a; Ownley *et al.*, 2010). Una vez en el interior, pueden distribuirse de forma localizada o sistémica, dependiendo del hospedero y del hongo.

La eficiencia de colonización varía según la especie del microorganismo y la vía de entrada. *B. bassiana*, por ejemplo, muestra alta eficiencia cuando se inocula por semilla, colonizando

tejidos del tallo y las hojas (Akello y Sikora, 2012). Las condiciones ambientales, como humedad y temperatura, influyen significativamente en el éxito del proceso.

2.3.3. Funciones y beneficios de los endófitos

Además de actuar como agentes de control biológico al provocar la muerte directa del insecto hospedero, los endófitos entomopatógenos ejercen efectos subletales, tales como reducción en la oviposición, longevidad, desarrollo larval y fecundidad (Jaber y Vidal, 2010; Akello y Sikora, 2012). Estos efectos pueden alterar el comportamiento del insecto, incluso antes del contacto directo con el hongo.

La muerte del insecto ocurre principalmente cuando los conidios germinan sobre la cutícula o son ingeridos junto con el alimento, permitiendo la penetración de las hifas a través de la cutícula y su posterior colonización de la hemolinfa y tejidos internos. Este proceso provoca deshidratación, parálisis y colapso fisiológico, conduciendo a la muerte del hospedero. En el estudio de Altaf et al. (2023), las larvas alimentadas con hojas de maíz colonizadas por *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* presentaron síntomas típicos de infección fúngica, con cuerpos rígidos, encogidos y cubiertos de micelio blanco o verde, dependiendo de la especie del hongo. Adicionalmente, estos endófitos producen metabolitos secundarios como beauvericina, oosporeína y destruxinas, los cuales poseen propiedades insecticidas que alteran la digestión, la actividad enzimática y el sistema nervioso del insecto, reduciendo su supervivencia y capacidad reproductiva.

Por otra parte, la colonización endofítica puede inducir resistencia sistémica en la planta, mejorar la absorción de nutrientes y aumentar su tolerancia a estrés biótico y abiótico (Arnold et al., 2003). Esto convierte a estos microorganismos en aliados multifuncionales en la agricultura sostenible.

2.3.4. Importancia de los endófitos en la agricultura

El uso de hongos entomopatógenos endófitos constituye una herramienta eficaz en el manejo de *Helicoverpa spp.*, ya que actúan tanto por infección directa como mediante la modificación fisiológica de la planta, reduciendo su atractivo y aptitud para el insecto (Vega, 2018; Russo et al., 2020).

En la fase de huevo, la colonización endofítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* provoca una menor oviposición y viabilidad, debido a compuestos volátiles que

interfieren en el reconocimiento del hospedero (Vidal, 2018; Dicke et al., 2009). Durante la etapa larval, se observa alta mortalidad, menor crecimiento y retraso en el desarrollo, asociados a la infección micótica y a toxinas como destruxinas y beauvericinas que afectan la digestión y el sistema nervioso (Vianna, 2018; Lestari et al., 2022; Belezini et al., 2023). En la fase pupal, las infecciones subletales reducen la emergencia y el vigor de los adultos (Russo et al., 2019). Finalmente, los adultos emergidos de larvas alimentadas con tejidos colonizados presentan menor longevidad, fecundidad y preferencia de oviposición (Mwamburi, 2021; Sari et al., 2023).

En conjunto, estos hongos alteran todo el ciclo biológico de *Helicoverpa spp.*, disminuyendo la supervivencia, el desarrollo y la capacidad reproductiva, lo que los convierte en una alternativa prometedora para el manejo sostenible de *H. quinoa* en quinua bajo condiciones de invernadero.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

3.1.1. Ubicación geográfica

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos dependencias de la fundación PROINPA, la primera, corresponde al laboratorio de Entomología e invernadero, del Centro de innovación Agrícola Alejandro Bonifacio (CIAAB), ubicado a 4 Km de Viacha (Ingavi, La Paz), y a 16° 40' 30" Latitud Sur y 68° 17' 58" Longitud Oeste, y una altitud de 3.880 m.s.n.m. (Callizaya, 2017). La segunda, al laboratorio de biología molecular del centro de innovación Agrícola Antonio Gandarillas (AIAAAG), ubicado en El paso, a 5 Km de Quillacollo (Cochabamba), y a 17°18' de Latitud Sur y 66°14' de Longitud Oeste, a una altitud de 2.540 msnm (Gabriel *et al.*, 2013).

3.2. Materiales

3.2.1. Materiales biológicos

Los materiales biológicos empleados fueron un set de 30 pupas de *Helicoverpa quinoa* provenientes de una cría experimental del CIAAB, facilitadas por la Fundación PROINPA, y semilla de quinua de la variedad Jacha Grano (planta verde, panoja glomerulada y grano blanco con saponina). Esta variedad fue seleccionada por ser representativa del Altiplano Central de Bolivia, donde se cultiva ampliamente por su adaptación a las condiciones locales, grano grande y ciclo precoz, además de su uniformidad fenotípica y estabilidad bajo condiciones de invernadero, lo que garantiza homogeneidad experimental y pertinencia agronómica en la investigación (Bazile *et al.*, 2014; PROINPA, 2014).

3.2.2. Material de laboratorio

Entre los equipos ópticos y de control ambiental, se emplearon: un estereoscopio, un refrigerador marca Whirlpool, una cámara de incubación, lámparas, un humidificador con capacidad de 7 litros, un calefactor (calefón generador de calor), un ventilador, un termómetro de máxima y mínima, un termo hidrómetro y un sistema Arduino para el registro automatizado de temperatura y humedad por minuto. Asimismo, se utilizó una cámara de flujo laminar, un mechero, un autoclave y estantes metálicos de 2 x 1,20 metros.

Entre los materiales de cultivo y cría, se dispuso de recipientes plásticos transparentes de 1000 cm³ con tapas, recipientes de cría de 50 cm³ con tapas, bandejas de plástico de 5,1 cm de alto por 38,7 cm de largo y 25,1 cm de ancho, bandejas plásticas de 500 cm³, tapers plásticos de 500 ml, frascos de vidrio de 5 cm³ con tapa, vasos precipitados, cajas y placas Petri.

Para la manipulación y transferencia de muestras, se utilizaron pinceles (N° 00 y N° 000), pinzas metálicas, pinzas, bisturí y tijeras.

En cuanto a insumos biológicos y soluciones desinfectantes, se utilizaron miel de abeja, algodón, papel toalla (común y esterilizado), papel absorbente, papel secante, agua destilada, agua destilada estéril, DG-6, alcohol al 70 %, hipoclorito de sodio (NaClO) al 1,5 % y gentamicina.

Se utilizó también el medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA) de la marca Oxoid, para la propagación y desarrollo de los hongos entomopatógenos utilizados en los ensayos.

Adicionalmente, se emplearon materiales auxiliares como garrafa, cocina, olla de 8 litros, tela tul, telas tipo malla, atomizadores, bandas elásticas, guantes desechables y guardapolvo.

3.2.3. Material de invernadero

Se usaron: platines de quinua, regadera, pala, picota, sustrato, cernidor, macetas.

3.2.4. Material de gabinete

Lápices, marcadores, poliestireno expandido de 2 cm de grosor, masking, scotch, hojas bond, regla, tijeras, cuadernillo, cuaderno de registro, planillas de registro, calculadora, borrador, tablero, computadora e impresora, y para la redacción del documento se revisaron trabajos realizados, artículos científicos y revistas.

3.3. Metodología

3.3.1. Cría de *Helicoverpa quinoa*

3.3.1.1. Ajuste de ambiente de cría

Para la implementación y desarrollo de estudio, se procedió con la limpieza y desinfección de los ambientes destinados a la cría de *H. quinoa*. Se ajustaron las condiciones ambientales, estableciendo los rangos óptimos de temperatura y humedad relativa, así como un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Para dicho acondicionamiento, se utilizaron equipos como termómetros de máximas y mínimas, un vaporizador para mantener una humedad relativa de 60 ± 5 %, un termo ventilador, temporizadores (timers) para el control del ciclo de luz, un sistema Arduino y un radiador (Calefon). Finalmente, se efectuó el monitoreo y registro de la temperatura en cada ambiente de cría durante un periodo de 48 horas logrado estabilizar la temperatura a $27 \pm 1,5$ °C.

3.3.1.2. Prueba preliminar de cría de *H. quinoa*

Para fortalecer la metodología de cría de *H. quinoa*, se ejecutó una prueba preliminar empleando pupas suministradas por el Laboratorio de Entomología del CIAAB. Tras la emergencia de los adultos, estos fueron trasladados a cámaras de cópula y oviposición (22 cm de altura, 15 cm de ancho, 21 cm de profundidad y tapa de 12 cm de diámetro.), donde se les alimentó mediante una mota de algodón impregnada con solución de miel de abeja al 10 %. Se establecieron grupos de diez parejas (hembras y machos) por cámara de cópula. Al iniciarse la oviposición, los huevos fueron recolectados en recipientes transparentes (tapers plásticos de 500 ml) con tapa hermética. Luego de un periodo de incubación de siete días, las larvas neonatas eclosionaron y fueron individualizadas en recipientes de cría de 50 cm³, donde se suministró una dieta artificial en volumen de 1,5 cm³ hasta alcanzar la fase de pupa. Finalmente, se efectuaron procedimientos de limpieza, desinfección y sexado de las pupas, las cuales se destinaron para el inicio de la investigación.

3.3.1.3. Provisión del material experimental

Los huevos de *H. quinoa* se obtuvieron a partir de la prueba preliminar descrita anteriormente, que comenzó con 30 adultos (15♂ y 15♀) acondicionados en cámaras de

cópula y oviposición con dimensiones de 22 cm de altura, 15 cm de ancho, 21 cm de profundidad y tapa de 12 cm de diámetro. En el interior de las cámaras se colocaron verticalmente cuatro bandas de papel toalla, cada una con dimensiones de 20 x 8 cm, además de una banda de papel toalla en la parte superior con un pequeño orificio central para introducir una mota de algodón. Se preparó una solución de miel de abeja al 10 %, con la que se humedeció un pedazo de algodón que fue colocado en un recipiente circular pequeño ubicado en el centro de la cámara para alimentar a los adultos emergidos. La parte superior del recipiente fue cubierta con tela tul y asegurada con una banda elástica para evitar la fuga de los insectos. Posteriormente, las cámaras de cría y oviposición fueron ubicadas en estantes metálicos. Al iniciarse la oviposición, las bandas de papel toalla con los huevos fueron colectadas diariamente, reemplazando las usadas por otras nuevas. Los huevos recolectados fueron depositados en recipientes plásticos de 26 cm de largo, 16 cm de ancho y 3,5 cm de altura, con tapa. La investigación comenzó con la postura correspondiente al sexto día, debido a que en esa fecha se registró la máxima cantidad de posturas (huevos).

3.3.1.4. Protocolo de alimentación de larvas de *H. quinoa* con dieta artificial y dieta natural (hojas y panoja de quinoa)

3.3.1.4.1. Dieta artificial para la cría de *H. quinoa*

Para la alimentación de las larvas de *H. quinoa* se utilizó la dieta artificial, recomendada por (Ortiz, 2023), a base de frijol y germen de trigo, para su preparación se utilizó los siguientes ingredientes (Cuadro 3):

Cuadro 3. Ingredientes para la elaboración de dieta artificial para la cría de *H. quinoa*

Nº	Ingredientes	Cantidad
1	Frijol	165 g
2	Germen de trigo	80 g
3	Levadura	30 g
4	Ácido Ascórbico	5 g
5	Ácido Sorbido	3 g
6	Nipagin (metil partabeno)	7 g
7	Gentamicina o Tetraciclina	2 ml
8	Complejo B multivitaminas	1 ml

9	Formaldehido (40%)	3,5 ml
10	Carraginina (carralac Maprial)	17 g
11	Agua	1400 ml
<hr/>		
Fuente: Ortiz (2023)		

La dieta artificial se preparó con los siguientes pasos:

1. Se pesó 165 gramos de frijol carioca y se remojó en agua caliente durante 12 horas.
2. Se hizo hervir 1400 ml de agua.
3. Se pesó los ingredientes (2, 3, 4, 5, 6 y 10 del cuadro 3) y se mezcló en un recipiente plástico (indicar volumen/tamaño) desinfectado.
4. Se licuó el frijol durante cinco minutos con 500 ml de agua caliente, anteriormente hervido.
5. Se puso una olla de 8 litros a fuego lento para luego añadirlo el frijol licuado y con la ayuda de una paleta de madera se batió constantemente para evitar que se queme.
6. Luego, se licuó durante dos minutos la levadura, germen de trigo, ácido ascórbico, ácido sórbico, nipagin y carraginina con 600 ml del agua tibia previamente hervida.
7. Luego a los 15 minutos de haber echado a hervir el frijol, se añadió el licuado de la levadura, germen de trigo, etc. el resto del agua que sobra (300 ml) se añade a la olla limpiando los restos del licuado.
8. A los veinticinco minutos se le agregó el formaldehido, gentamicina y complejo B hasta que hirviera tres minutos.
9. Se vertió la mezcla en dos bandejas plásticas desinfectadas con alcohol al 70 %, para que enfrié y gelifique a temperatura ambiente durante media hora y, por último, se almaceno en el refrigerador.

3.3.1.4.2. Procedimiento de alimentación de las larvas

Una vez eclosionadas, las larvas neonatas (L1) de *H. quinoa* fueron individualizadas en recipientes de cría de 50 ml y alimentadas exclusivamente con dieta artificial (1,5 cm³ de dieta artificial). Una vez que alcanzaron el segundo estadio larval (L2), se realizó la transición alimenticia de dieta artificial a dieta natural (hojas frescas de quinua), siguiendo la recomendación de (Acatila *et al.*, 2004), quien sugieren un cambio progresivo para favorecer la aceptación y adaptación de las larvas a la nueva fuente alimenticia. Las hojas fueron suministradas según tres tratamientos planteados. El material vegetal se proporcionó

cada dos días para mantener su frescura y calidad nutricional. Además, se realizó la limpieza del recipiente de cría eliminando restos del alimento y las heces de las larvas. Por recomendación de (Yujra, j., 2021), desde el tercer estadio larval (L3) hasta el momento de la pre-pupa, las larvas fueron alimentadas diariamente con hojas frescas y panojas inmaduras de quinua correspondientes a cada tratamiento, también se realizó la limpieza correspondiente como en el anterior estadio larval.

Durante todo el periodo de alimentación, se mantuvieron condiciones ambientales constantes de temperatura ($27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa ($60\% \pm 5\%$), y se registraron observaciones relacionadas con la aceptación del alimento y el desarrollo larval.

3.3.1.4.3. Manejo de estadios de desarrollo

Para un manejo efectivo de los diferentes estados del insecto, se realiza un registro detallado del cambio de estadios mediante la colecta de cápsulas cefálicas. Estas cápsulas son estructuras del exoesqueleto de los insectos que permanecen después de la muda larval que permiten identificar y cuantificar el número de mudas ocurridas, facilitando el seguimiento del desarrollo larval sin necesidad de manipular directamente a los insectos, lo cual puede afectar su comportamiento o supervivencia. La recolección periódica de estas cápsulas ofrece una herramienta no invasiva para monitorear el avance del ciclo biológico en condiciones de laboratorio, principalmente.

3.3.2. Cultivo de plantas

3.3.2.1. Semillas

Las semillas de quinua variedad Jacha grano (fueron proporcionas por PROINPA) fueron esterilizadas sumergiéndolas en una solución de DG-6 (Piridonio Cloruro) durante dos minutos, seguido de un lavado con agua para luego secarlas en sombra.

3.3.2.2. Preparación del sustrato

El sustrato empleado consistió en una mezcla de tierra del lugar, abono ovino y turba en una proporción volumétrica de 2 partes de suelo, 1 parte de turba y 1 parte de guano ovino. Para controlar la presencia de patógenos y organismos no deseados, el sustrato fue esterilizado mediante el método de solarización, que consistió en la exposición al sol directo durante tres días, logrando la desinfección natural del medio. Posteriormente, el sustrato

fue embolsado en bolsas plásticas para plantines con dimensiones de 15 x 8 cm, adecuadas para el desarrollo inicial de las plántulas.

3.3.2.3. Siembra y manejo de invernadero

Las semillas esterilizadas se sembraron directamente en las bolsas con el sustrato preparado. El manejo en el invernadero contempló mantener las condiciones óptimas para la germinación y crecimiento de las plántulas. Se realizaron riegos periódicos para mantener la humedad del sustrato sin llegar a encharcar, y se aplicaron medidas de control fitosanitario (se realizaron aplicaciones foliares por asperjado con los bioinsumos Vigortop y Bacterial Mix (PROINPA), con una frecuencia de dos aplicaciones mensuales. Estas aplicaciones tuvieron como finalidad fortalecer el crecimiento y vigor de las plantas, promoviendo el desarrollo radicular, foliar y la sanidad vegetal.

3.3.3. Hongos entomopatógenos

Las cepas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* utilizadas en el estudio fueron obtenidas del laboratorio de microbiología de PROINPA. Estas cepas fueron formuladas en medio aceitoso con una concentración inicial de 1×10^9 conidios/mL. Estas suspensiones fueron almacenadas en condiciones controladas a 4 °C hasta su uso. La identificación y pureza de las cepas fueron verificadas mediante técnicas microscópicas y cultivo en medio selectivo, antes del envío de las cepas en el laboratorio de PROINPA.

3.3.4. Métodos de inoculación de los hongos entomopatógenos a las plantas

3.3.4.1. Inoculación mediante tratamiento de semilla

Las semillas de quinua, previamente esterilizadas superficialmente, fueron peletizadas con suspensiones conidiales de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Para ello, se trataron 50 gramos de semilla con 15 mL de la suspensión conidial de cada hongo, a una concentración de 1×10^9 conidios/mL, mediante inmersión de la semilla en la solución por 30 minutos.

Finalizado el tratamiento, las semillas fueron colocadas sobre una toalla de papel esterilizada y secada a la sombra hasta alcanzar una humedad superficial adecuada para la siembra, evitando la exposición directa a la luz solar para preservar la viabilidad de los conidios.

Las semillas tratadas se sembraron en macetas que contenían el sustrato previamente desinfectado, conforme a lo descrito en la sección 3.3.2.2. En el tratamiento control (testigo), las semillas fueron desinfectadas de igual manera, pero no recibieron inoculación con hongos; y estas se sembraron simultáneamente con los tratamientos.

3.3.4.2. Inoculación por vía foliar

Las semillas de quinua, previamente esterilizadas, fueron sembradas en macetas que contenían sustrato anteriormente desinfectado, conforme a lo descrito en el apartado 3.3.2.2. A los 14 días después de la siembra, cuando las plántulas se encontraban en la fase fenológica de desarrollo vegetativo inicial, con la aparición de las primeras hojas verdaderas, se procedió a la aplicación foliar de los tratamientos.

La aplicación se realizó mediante aspersión manual, utilizando un volumen promedio de 2,1 ml por planta de la suspensión conidial de cada hongo, preparada en agua esterilizada por ebullición y enfriada a temperatura ambiente. Para el tratamiento testigo, se aplicaron 2,1 ml de una solución compuesta por agua esterilizada más adherente, sin presencia de conidios. Cada tratamiento fue aplicado de forma directa sobre las plántulas de quinua, asegurando una cobertura uniforme.

Para evitar el escurrimiento del inóculo hacia el sustrato y garantizar su permanencia sobre la superficie foliar, la superficie del sustrato de cada maceta fue cubierta con papel aluminio durante la aplicación.

3.3.5. Colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua inoculadas con estos microorganismos

3.3.5.1. Muestreo de hojas, tallos y raíces

Para la confirmación de la colonización endofítica, se seleccionaron cuatro plántulas por tratamiento, las cuales fueron extraídas cuidadosamente del sustrato para evitar daños en los tejidos vegetales. Posteriormente, se procedió con el lavado de hojas, tallos y raíces, realizándolo tres veces con agua destilada y estéril.

3.3.5.2. Esterilización superficial

Los tejidos fueron seccionados con bisturí estéril en fragmentos de aproximadamente 1 cm de longitud. Luego, se sometieron a un proceso de desinfección superficial en tres pasos: 1) inmersión en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1,5% durante 2 minutos, 2) seguida de una inmersión en etanol al 70% durante 2 minutos, y 3) finalmente tres lavados consecutivos con agua destilada y estéril, con una duración de 2 minutos cada uno. Los fragmentos fueron colocados sobre papel absorbente estéril y se dejaron secar durante 1 minuto dentro de una cámara de flujo laminar.

3.3.5.3. Siembra en medio PDA

De cada tratamiento se obtuvieron 9 fragmentos de hoja, 9 de tallo y 9 de raíz, conformando tres repeticiones por tipo de tejido. Los fragmentos fueron sembrados en medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA) con la adición de gentamicina (30 µL por tejido) para inhibir el crecimiento bacteriano. En cada placa de Petri se colocaron tres fragmentos correspondientes a un mismo tratamiento, distribuidos en forma triangular y con su respectiva identificación.

3.3.5.4. Incubación y evaluación

Las placas inoculadas fueron incubadas a 28 °C durante 3 días. Finalizado este periodo, se procedió a la evaluación del crecimiento fúngico a partir de los tejidos, considerando la morfología macroscópica de las colonias emergentes para identificar la presencia de los hongos endófitos (Altaf et al., 2023).

3.3.5.5. Cálculo del porcentaje de colonización

El porcentaje de colonización endofítica se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Colonización (\%)} = \frac{\text{fragmentos con crecimiento}}{\text{fragmentos sembrados}} \times 100$$

3.3.6. Efecto de la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinoa sobre el desarrollo el ciclo de vida de *H. quinoa*.

3.3.6.1. Condiciones del ensayo

La investigación se desarrolló bajo condiciones ambientales controladas, con temperatura constante de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa descrita en la sección 2.3 y un fotoperiodo de 12:12 (luz: oscuridad) proporcionado mediante iluminación fluorescente, garantizando un entorno adecuado para el desarrollo del estudio.

3.3.6.2. Tratamientos evaluados

Los tratamientos en estudio se describen en el cuadro 4.

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos para evaluar la mortalidad en larvas

N°	Tratamiento	Descripción
1	Testigo	Quinoa inoculada con agua
2	<i>B. bassiana</i> , trat. Semilla	Quinoa inoculada c/ <i>B. bassiana</i> , trat. Semilla
3	<i>B. bassiana</i> , via foliar	Quinoa inoculada c/ <i>B. bassiana</i> , via foliar
4	<i>M. anisopliae</i> , trat. Semilla	Quinoa inoculada c/ <i>M. anisopliae</i> , trat. Semilla
5	<i>M. anisopliae</i> , via foliar	Quinoa inoculada c/ <i>M. anisopliae</i> , via foliar

Las aplicaciones de hongos se realizaron siguiendo los procedimientos descritos en las secciones 3.3.4.1. y 3.3.4.2., con una concentración de 1×10^9 conidios/mL.

3.3.6.3. Obtención y manejo de larvas

Cuando las larvas neonatas eclosionaron, se procedió a su individualización en recipientes de cría de 50 mL. En el fondo de cada uno se colocó papel toalla (3×3 cm) para absorber el exceso de humedad de la dieta. A continuación, se introdujo un cubo de dieta artificial ($1,5 \times 1,5 \times 1,5$ cm) y, con ayuda de un pincel N.º 00, se colocó una larva neonata al azar sobre la dieta, cerrando inmediatamente el recipiente para evitar su escape. Los recipientes fueron agrupados en bandejas de poliestireno expandido y organizados en estantes metálicos dentro de un ambiente con temperatura controlada de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

El seguimiento de la cría fue diario, cuando las larvas alcanzaron el segundo estadio larval (L2), se sustituyó la dieta artificial por hojas de quinoa. Estas hojas fueron previamente recolectadas y sometidas a un proceso de desinfección: se sumergieron en una solución

de agua con DG-6, luego se enjuagaron con agua previamente hervida y enfriada, finalmente se secaron con papel toalla. Este procedimiento se aplicó a todas las hojas, independientemente del tratamiento correspondiente. Las larvas de segundo y tercer estadio fueron alimentadas exclusivamente con hojas, mientras que aquellas en cuarto, quinto y sexto estadio recibieron panojas de quinua como fuente alimenticia, siguiendo el protocolo de alimentación propuesto por Yujra (2021). A partir del tercer estadio (L3), se combinaron hojas y panojas en la alimentación. Las hojas se reemplazaron cada dos días, al igual que el papel absorbente del recipiente.

Para la determinar la duración del estado larval, se realizó un registro diario desde la eclosión de la larva neonata hasta su entrada en fase de pre-pupa. El cambio de estadio larval se verificó mediante la observación de cápsulas cefálicas y exuvias dejadas por las larvas tras cada muda. En los primeros tres estadios, la observación se llevó a cabo con estereoscopio, mientras que en los últimos fue posible mediante observación directa. Las cápsulas cefálicas recolectadas fueron almacenadas en frascos de vidrio de 5 ml con alcohol al 70 %. Se individualizaron 100 larvas por tratamiento, totalizando 600 larvas para toda la investigación.

3.3.6.4. Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar para estudiar el efecto de tratamientos (*B. bassiana* y *M. anisopliae* y formas de inoculación) en larvas de *H. quinoa* con 10 repeticiones, considerando en conjunto de 10 larvas como unidad experimental. El modelo lineal aditivo es el siguiente Fisher (1935) citado por (Ochoa, 2009).

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} observación específica.

μ media general del experimento.

α_i efecto del i-ésimo tratamiento (*Beauveria bassiana*: semilla y foliar, *Metarhizium anisopliae*: semilla y foliar, grupo de control).

ϵ_{ij} error experimental asociado con la observación Y_{ij} .

3.3.6.4.1. Matriz de contrastes ortogonales

C1: todos los tratamientos con el grupo de control.

C2: los tratamientos con *B. bassiana* versus *M. anisopliae*.

C3: aplicaciones a semilla versus aplicaciones foliares dentro de *B. bassiana*.

C4: aplicaciones a semilla versus aplicaciones foliares dentro de *M. anisopliae*.

COMPARACIONES	testigo	<i>B. bassiana</i>		<i>M. anisopliae</i>	
		<i>Via foliar</i>	<i>Trat. Semilla</i>	<i>Via foliar</i>	<i>Trat. Semilla</i>
C1	-4	1	1	1	1
C2	0	1	1	-1	-1
C3	0	-1	1	0	0
C4	0	0	0	1	-1

El uso de contrastes ortogonales permitió realizar comparaciones independientes y dirigidas entre los tratamientos experimentales, con el fin de evaluar los efectos específicos establecidos en los objetivos del estudio. Dichos contrastes se definieron para analizar el impacto global de la colonización endofítica frente al testigo (C1), las diferencias entre especies de hongos entomopatógenos (C2) y la eficiencia de las vías de inoculación (semilla y foliar) en la acción de cada hongo (C3 y C4). Este enfoque estadístico contribuyó a una interpretación más precisa de los resultados y a la determinación del tratamiento con mayor efecto sobre la supervivencia de *H. quinoa*.

3.3.6.4.2. Variables evaluadas

Días de duración del estado larval: Número de días transcurridos desde la eclosión de las larvas neonatas hasta su transformación en pre-pupa en cada uno de los tratamientos y en el testigo.

Días del estado de pre-pupa: Número de días desde que la larva se vuelve inactiva y forma el capullo hasta que inicia la etapa de pupa, medido en los tratamientos y testigo.

Días del estado de pupa: Número de días desde la formación completa de la pupa hasta la emergencia del adulto, evaluado en los tratamientos y testigo.

Número de adultos: Conteo total de adultos que emergen de las pupas en cada tratamiento y en el testigo.

Longevidad de los adultos: Número de días transcurridos desde la emergencia hasta la muerte de los adultos, registrado para en cada tratamiento y testigo.

Mortalidad: Registro acumulado de individuos muertos en cada etapa del desarrollo (huevo, larva, pre-pupa, pupa y adulto), consignado para cada tratamiento y testigo.

3.3.7. Efecto de la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua sobre la preferencia de oviposición de hembras de *H. quinoa*

3.3.7.1. Material vegetal y diseño del ensayo.

Las plantas de quinua utilizadas en este ensayo fueron inoculadas previamente con los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, siguiendo los procedimientos de inoculación foliar y tratamiento de semilla detallados en apartados anteriores. Las plantas se mantuvieron en condiciones controladas de invernadero y fueron expuestas a los adultos de *H. quinoa* a los 45 días después de la inoculación.

El diseño experimental consistió en la instalación de dos cámaras de copula y oviposiciones independientes de 50 cm × 50 cm × 100 cm, con los laterales cubiertos con tela tul para permitir la ventilación y la parte superior con vidrio para una mejor observación, mientras que la base era de madera. En una de las jaulas se evaluaron los tratamientos por tratamiento en semilla: *B. bassiana* (semilla), *M. anisopliae* (semilla) y testigo (sin inoculación). En la segunda jaula se evaluaron los tratamientos por inoculación foliar: *B. bassiana* (foliar), *M. anisopliae* (foliar) y testigo.

3.3.7.2. Condiciones del experimento

Las jaulas fueron instaladas dentro del invernadero del Centro de Innovación Agrícola "Alejandro Bonifacio" (CIAAB) de PROINPA.

3.3.7.3. Procedimiento de liberación de insectos

Las pupas utilizadas para esta evaluación fueron entregadas por el Laboratorio de Entomología del CIAAB, provenientes de su cría continua de *H. quinoa*. La emergencia de adultos ocurrió de manera asincrónica en un lapso de dos días. Para asegurar el

apareamiento, los adultos recién emergidos fueron colocados en una jaula adicional donde permanecieron juntos durante dos días. Posteriormente, se seleccionaron 10 adultos por jaula (5♂ y 5♀), los cuales fueron liberados en cada una de las cámaras mencionadas anteriormente.

3.3.7.4. Alimentación de adultos durante la prueba

Debido a que las plantas de quinua aún no se encontraban en estado de floración al momento del ensayo, se colocó en cada jaula una mota de algodón impregnada con una solución de miel diluida como fuente alimenticia para los adultos, siguiendo la misma técnica previamente descrita para la cría en laboratorio.

3.3.7.5. Registro de oviposición

Cada 48 horas se procedió al cambio de las plantas de quinua correspondientes a los tratamientos en evaluación en cada cámara copula y oviposición. Se contabilizaron los huevos ovipositados en cada planta de quinua, diferenciando las posturas localizadas en la hoja (haz y envés) y tallo de cada planta. Esta metodología se mantuvo durante el tiempo de vida útil de las hembras de *H. quinoa* en cada ensayo. Este tipo de prueba de preferencia de oviposición ha sido utilizado en trabajos previos, como en el estudio de Vidal y Jaber (2015), quienes evaluaron la elección de oviposición de lepidópteros sobre plantas colonizadas por endófitos entomopatógenos.

3.3.7.6. Variables de respuesta

Distribución de huevos por tratamiento: Promedio de huevos ovipositados por tratamiento (foliar, semilla y testigo), calculado a partir del total de huevos por planta. Se expresa como media \pm desviación estándar.

Preferencia de oviposición (%): Porcentaje del total de huevos depositados que corresponde a cada tratamiento, calculado con base en el número total de huevos observados en la unidad experimental (jaula).

3.3.8. Análisis estadístico

3.3.8.1. Análisis de varianza (ANOVA)

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los promedios por repetición de las variables: duración del estado larval, duración del estado de pre-pupa, duración del estado de pupa, longevidad de adultos y mortalidad de *H. quinoa*.

3.3.8.2. Prueba de medias de Duncan

Para identificar diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de medias de Duncan al 5 % sobre los promedios obtenidos en las variables evaluadas. Análisis de contrastes ortogonales

Se emplearon contrastes ortogonales para comparar:

C1: comparar todos los tratamientos versus el testigo,

C2: comparar *B. bassiana* versus *M. anisopliae*

C3: comparar aplicaciones a semilla versus aplicaciones foliares dentro de *B. bassiana*.

C4: comparar aplicaciones a semilla versus aplicaciones foliares dentro de *M. anisopliae*.

3.3.8.3. Análisis de preferencia de oviposición

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar el promedio de huevos ovipositados por planta entre los tratamientos (inoculación foliar, inoculación en semilla y testigo). Además, se calculó el porcentaje de preferencia de oviposición por tratamiento.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Colonización endofítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua.

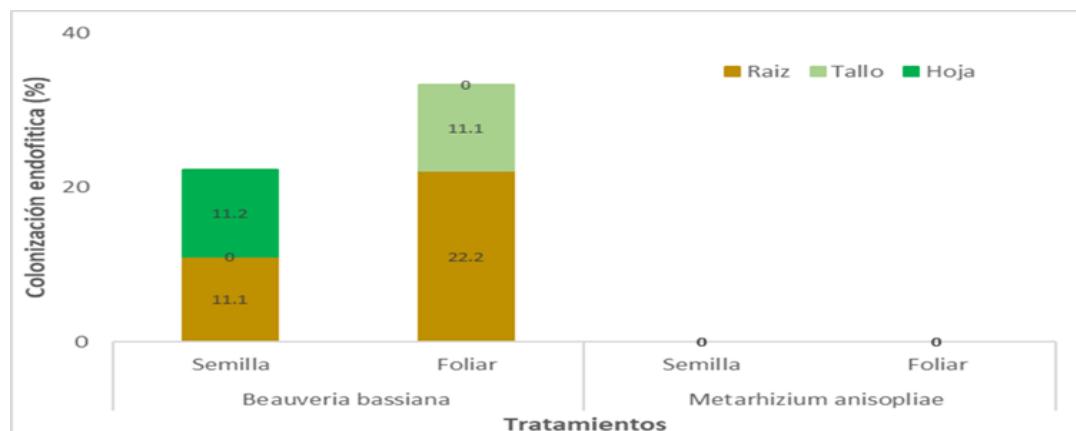
La figura 1. muestra que ambos hongos entomopatógenos (*B. bassiana* y *M. anisopliae*) lograron establecerse como microorganismos endófitos en los tejidos de plantas de quinua, aunque con diferencias según la especie del microorganismo y el método de inoculación. *B. bassiana* logró establecerse en los tejidos vegetales, alcanzando porcentajes totales de colonización de 22,3 % mediante inoculación en semilla y de 33,3 % por aplicación foliar. En ambos casos, la colonización se registró principalmente en raíces y hojas, mientras que el tallo presentó presencia endofítica únicamente en el tratamiento foliar (11,1 %). Sin embargo, *M. anisopliae* no presentó colonización en ninguno de los tejidos evaluados, independientemente del método de inoculación empleado.

Cuadro 5. Porcentajes de colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en hojas, tallo y raíces de plantas de quinua bajo dos métodos de inoculación.

N°	Tratamiento	Colonización endofítica (%)			
		Raíz	Tallo	Hoja	Total
1	<i>Beauveria bassiana</i> -semilla	11,1	0	11,2	22,3
2	<i>Beauveria bassiana</i> -foliar	22,2	11,1	0	33,3
3	<i>Metarhizium anisopliae</i> -semilla	0	0	0	0
4	<i>Metarhizium anisopliae</i> -foliar	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Porcentajes de colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en hojas, tallo y raíces de plantas de quinua bajo dos métodos de inoculación.



Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos evidencian que *B. bassiana* posee mayor capacidad de establecerse como endófito en tejidos de quinua en comparación con *M. anisopliae*. La colonización de *B. bassiana* fue más eficiente cuando se aplicó vía foliar (33,3 %) que por inoculación en semilla (22,3 %), mostrando afinidad por raíces y hojas, con menor presencia en tallos. Este patrón coincide con reportes previos en otros cultivos, donde la colonización foliar resulta en una distribución más amplia en tejidos aéreos (Posada y Vega, 2007b; Vega, 2018b).

La ausencia de la colonización recuperable de *M. anisopliae* en quinua podría atribuirse a diferencias en la capacidad de penetración, adaptación al hospedero o a la interacción con metabolitos de defensa de la planta. Estudios comparativos han señalado que *M. anisopliae* presenta menor frecuencia de colonización en ciertos cultivos frente a *B. bassiana* (Greenfield *et al.*, 2016), lo que sugiere que la compatibilidad planta-hongo es un factor determinante.

El método de inoculación demostró ser determinante, el tratamiento de semilla favoreció una colonización más sistémica, alcanzando hojas y raíces, en concordancia con lo descrito en revisiones recientes donde se indica que este método incrementa la probabilidad de recuperación del hongo en múltiples órganos de la planta (Panwar y Szczepaniec, 2024). En cambio, la inoculación foliar resultó en colonización más localizada y de menor extensión, lo que podría sugerir que el sitio de contacto del hongo condiciona su éxito de establecimiento (Vidal y Jaber, 2015).

En este contexto, la mayor colonización de *B. bassiana* en quinua abre perspectivas para su aprovechamiento como herramienta de control biológico endofítico frente a insectos plagas clave del cultivo de la quinua. Sin embargo, la falta de colonización de *M. anisopliae* resalta la necesidad de explorar condiciones de inoculación alternativas o seleccionar cepas mejor adaptadas al agroecosistema del Altiplano. Además, estos resultados refuerzan que la colonización endofítica no siempre debe interpretarse únicamente como presencia detectable del hongo, sino también como la suma de interacciones fisiológicas y químicas en la planta que pueden contribuir al control de plagas.

4.2. Efecto de la colonización endofítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua sobre el desarrollo de *Helicoverpa quinoa*

4.2.1. Ciclo de vida de *Helicoverpa quinoa*

La colonización endofítica con *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua influyó en la duración del ciclo de vida de *H. quinoa* (Cuadro 6 y Figura 2). En general, los tratamientos con *M. anisopliae* presentaron mayores tiempos de desarrollo larval, especialmente en los estadios L2 y L3, donde la duración fue significativamente más prolongada en comparación con el testigo y los tratamientos con *B. bassiana*. Sin embargo, los tratamientos con *B. bassiana* (tanto en aplicación foliar como en semilla) tendieron a mostrar periodos larvales más cortos y próximos al control. En el estadio de pupa, las diferencias fueron más notorias: el tratamiento testigo presentó la mayor duración (19,28 días), seguido por *B. bassiana* inoculación foliar (15,58 días), mientras que *M. anisopliae* inoculada a través del tratamiento de semilla registró la menor duración (12,31 días). De manera similar, el periodo adulto fue más largo en *M. anisopliae* inoculación foliar (10,25 días) y más reducido en el testigo (9,10–9,53 días en promedio con *B. bassiana* y *M. anisopliae* tratamiento de semilla). En cuanto al ciclo total, el testigo alcanzó la mayor duración (56,31 días), significativamente superior a los tratamientos con endófitos. Los valores más bajos se registraron en *B. bassiana* inoculación foliar y semilla (43,32–43,13 días), seguidos por *M. anisopliae* tratamiento de semilla (45,14 días) y *M. anisopliae* inoculación foliar (48,44 días).

Cuadro 6. Efecto de la colonización endofítica con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua sobre el desarrollo de *Helicoverpa quinoa*

Estado	Tratamientos				
Larva	<i>B.b.</i> foliar	<i>B.b.</i> semilla	<i>M.a.</i> foliar	<i>M.a.</i> semilla	Testigo
L2	2,51±1,22 d	3,38±2,28 c	5,19±2,38 a	5,36±1,94 a	3,96±1,45 b
L3	2,83±1,47 c	2,71±1,69 c	4,85±1,80 a	4,77±1,61 a	3,51±1,29 b
L4	3,29±1,72 b	3,76±2,16 ab	4,28±1,02 a	4,43±0,89 a	3,85±1,23 ab
L5	3,39±2,21 a	3,54±1,91 a	4,26±0,69 a	4,17±0,62 a	3,94±1,73 a
L6	3,00±1,80 a	2,48±1,11 a	2,57±0,68 a	2,72±0,89 a	2,98±1,52 a
Prepupa	3,49±3,11 a	3,46±2,20 a	2,33±0,80 a	2,28±0,46 a	3,54±2,96 a
Pupa	15,58±3,48 b	14,27±3,58 b	14,71±3,21 b	12,31±2,10 c	19,28±3,03 a
Adulto	9,23±2,75 b	9,53±2,50 b	10,25±0,97 b	9,10±0,74 b	15,25±4,76 a
Total	43,32 c	43,13 c	48,44 b	45,14 b	56,31 a

Fuente: Elaboración propia

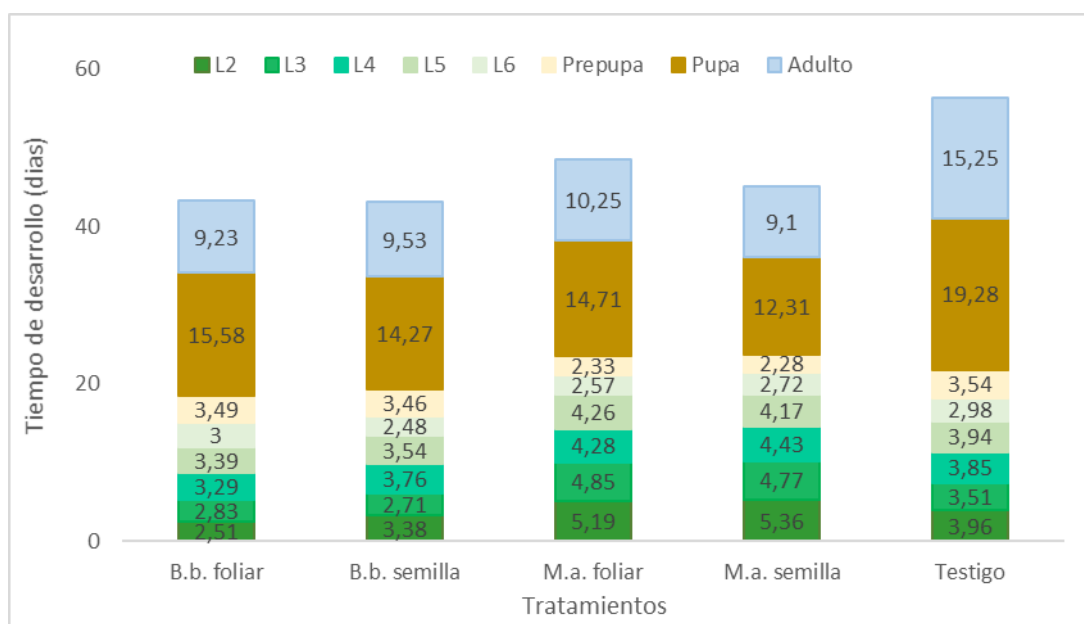


Figura 2. Efecto de la colonización endofítica con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua sobre el desarrollo de *Helicoverpa quinoa*.

Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre tratamientos en los estadios larvales tempranos (L2, L3 y L4), así como en pupa y adulto de *H. quinoa* (Cuadro 7). En L5 las diferencias fueron significativas a un nivel menor ($p < 0,05$), mientras que en L6 y prepupa no se detectaron diferencias estadísticas ($p > 0,05$). El coeficiente de determinación (R^2) varió entre 0,27 y 0,71, lo que indica que los tratamientos explicaron entre un nivel moderado y alto de la variabilidad observada. El

coeficiente de variación (CV %) osciló entre 4,22 y 8,15, valores aceptables que reflejan precisión experimental.

Cuadro 7. Análisis de varianza para la duración de estadios de *Helicoverpa quinoa* en plantas de quinua inoculadas con *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y un testigo.

FV	GL	L2		L3		L4		L5	
		CM	p	CM	P	CM	P	CM	p
Tratamiento	4	32,49	<0,0001**	13,47	<0,0001**	10,40	0,0021**	5,94	0,0181*
Error	95	0,79		1,28		1,07		1,22	
R ²		0,58		0,64		0,63		0,48	
CV (%)		4,22		5,83		5,11		6,27	

FV	GL	L6		PRE PUPA		PUPA		ADULTO	
		CM	p	CM	P	CM	p	CM	p
Tratamiento	4	2,15	0,1480 ns	0,93	0,469 ns	15,32	<0,0001**	15,36	<0,0001**
Error	95	1,35		1,00		1,12		0,94	
R ²		0,43		0,27		0,67		0,71	
CV (%)		7,02		8,15		6,03		5,48	

Fuente: Elaboración propia

*=Significativo ($p < 0,05$)

**=Altamente significativo

ns = No significativo

CV = Coeficiente de variación

Los resultados registrados fueron corroborados mediante los contrastes ortogonales (Cuadro 8). El contraste testigo vs inoculados fue altamente significativo en L2, L3 y L4 ($p < 0,001$), lo que confirma el efecto negativo de la colonización endofítica sobre el desarrollo de la plaga. En L5 también se observó significancia ($p < 0,05$). El contraste B. bassiana vs. M. anisopliae fue significativo en la fase adulta ($p = 0,0155$), demostrando que *M. anisopliae* redujo en mayor medida la emergencia de adultos. El contraste B. bassiana inoculación foliar vs. tratamiento de semilla mostró diferencias significativas en L2 y L3 ($p < 0,001$), indicando que la aplicación por semilla tuvo un mayor impacto en los estadios tempranos. Finalmente, *M. anisopliae* inoculación foliar vs. tratamiento de semilla fue significativo en L2, L3 y adulto, destacando que la vía de inoculación por semilla redujo de manera más marcada la supervivencia y la emergencia de adultos.

Los valores del coeficiente de determinación (R^2), que oscilaron entre 0,27 y 0,71, respaldan la consistencia del modelo estadístico empleado, evidenciando que los tratamientos explicaron entre el 27 % y el 71 % de la variabilidad observada en las diferentes fases del desarrollo de *H. quinoa*. Los valores más altos se registraron en las fases pupal y adulta, lo que indica un buen ajuste del modelo y una alta influencia de los tratamientos en dichas etapas.

Cuadro 8. Contrastes ortogonales aplicados para evaluar diferencias entre grupos de tratamientos en la duración de estadios de *Helicoverpa quinoa*

Estadio	Contraste	gl	SC	CM	F	p-valor
L2	Testigo vs inoculados (T1 vs T2–T5)	1	279,75	279,75	88,52	<0,0001
	B.B. vs M.A. (T2–T3 vs T4–T5)	1	10,71	10,71	3,39	0,0663
	B.B. foliar vs semilla (T2 vs T3)	1	111,40	111,40	35,25	<0,0001
	M.A. foliar vs semilla (T4 vs T5)	1	79,85	79,85	25,27	<0,0001
L3	Testigo vs inoculados	1	83,70	83,70	37,58	<0,0001
	B.B. vs M.A.	1	7,08	7,08	3,18	0,0753
	B.B. foliar vs semilla	1	109,14	109,14	49,00	<0,0001
	M.A. foliar vs semilla	1	50,51	50,51	22,68	<0,0001
L4	Testigo vs inoculados	1	34,55	34,55	14,38	0,0002
	B.B. vs M.A.	1	0,61	0,61	0,25	0,6154
	B.B. foliar vs semilla	1	5,19	5,19	2,16	0,1424
	M.A. foliar vs semilla	1	6,93	6,93	2,89	0,0901
L5	Testigo vs inoculados	1	17,51	17,51	5,36	0,0212
	B.B. vs M.A.	1	0,79	0,79	0,24	0,6226
	B.B. foliar vs semilla	1	8,92	8,92	2,73	0,0992
	M.A. foliar vs semilla	1	0,80	0,80	0,24	0,6214
L6	Testigo vs inoculados	1	4,65	4,65	2,19	0,1397
	B.B. vs M.A.	1	3,45	3,45	1,63	0,2031
	B.B. foliar vs semilla	1	0,14	0,14	0,07	0,7976
	M.A. foliar vs semilla	1	1,09	1,09	0,51	0,4748
Pre-pupa	Testigo vs inoculados	1	15,99	15,99	2,19	0,1399
	B.B. vs M.A.	1	0,00	0,00	0,00	0,9807
	B.B. foliar vs semilla	1	19,76	19,76	2,71	0,1009
	M.A. foliar vs semilla	1	25,92	25,92	3,55	0,0604
Pupa	Testigo vs inoculados	1	5,62	5,62	0,57	0,4514
	B.B. vs M.A.	1	37,81	37,81	3,83	0,0515
	B.B. foliar vs semilla	1	1,96	1,96	0,20	0,6564
	M.A. foliar vs semilla	1	583,69	583,69	59,09	<0,0001
Adulto	Testigo vs inoculados	1	42,53	42,53	3,42	0,0678
	B.B. vs M.A.	1	75,83	75,83	6,09	0,0155
	B.B. foliar vs semilla	1	3,42	3,42	0,28	0,6012
	M.A. foliar vs semilla	1	302,58	302,58	24,32	<0,0001

Fuente: Elaboración propia

Estos resultados muestran que la colonización endofítica, independientemente del hongo utilizado, redujo el tiempo total de desarrollo de *H. quinoa* respecto al testigo, aunque con variaciones según la especie del microorganismo endófito y el método de inoculación.

4.2.2. Supervivencia de *Helicoverpa quinoa*

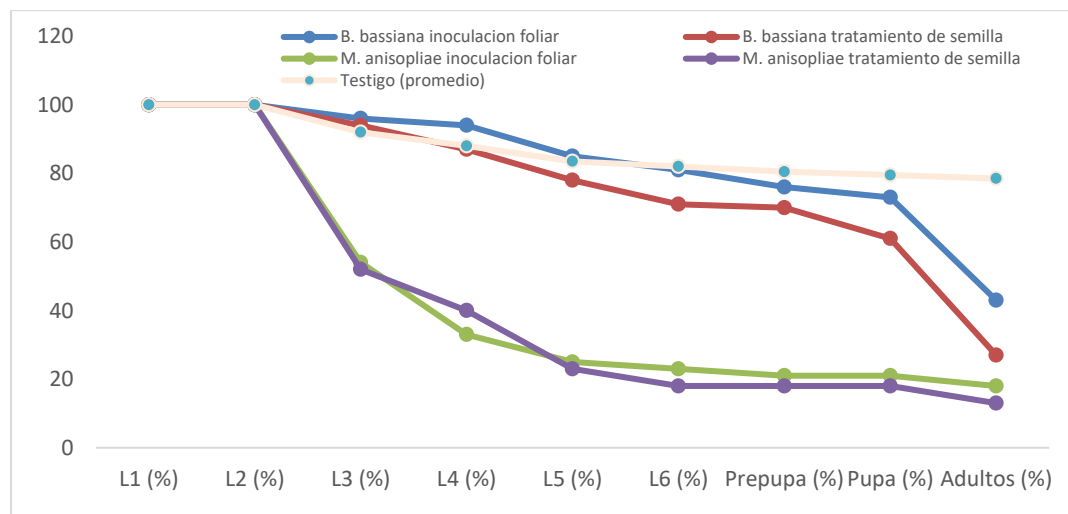
La supervivencia acumulada de *H. quinoa* disminuyó progresivamente en los tratamientos con hongos entomopatógenos endofíticos en comparación con el testigo (Cuadro 8, Figura 2). Al llegar a la fase adulta, sobrevivió un 78,5 % en el testigo, frente a un 43 % en *B. bassiana* inoculación foliar, 27 % en *B. bassiana* tratamiento de semilla, 18 % en *M. anisopliae* inoculación foliar y apenas 13 % en *M. anisopliae* tratamiento de semilla. Estos resultados indican que *M. anisopliae* generó un impacto más drástico en la supervivencia, mientras que *B. bassiana* presentó un efecto más moderado pero consistente en todas las etapas.

Cuadro 9. Efecto de la colonización endofítica con *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua sobre la supervivencia (%) de *Helicoverpa quinoa*

Tratamientos	Supervivencia (%)								
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	Prepupa	Pupa	Adultos
<i>B. bassiana</i> foliar	100	100	96	94	85	81	76	73	43
<i>B. bassiana</i> semilla	100	100	94	87	78	71	70	61	27
<i>M. anisopliae</i> foliar	100	100	54	33	25	23	21	21	18
<i>M. anisopliae</i> semilla	100	100	52	40	23	18	18	18	13
Testigo	100	100	92	88	83,5	82	80,5	79,5	78,5

Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Tendencia de supervivencia acumulada de *H. quinoa* bajo tratamientos con *B. bassiana*, *M. anisopliae* y un testigo.



Fuente: Elaboración propia

Sari *et al.* (2023) reportaron que la colonización endofítica de *B. bassiana* reduce significativamente la viabilidad larval en noctuidos, lo cual concuerda con lo observado en este estudio. En la Figura 3 se aprecia que la supervivencia acumulada de *H. quinoa* fue notablemente mayor en el testigo (superior al 80 % hasta L5 y más del 40 % en adultos), en comparación con los tratamientos con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, donde la supervivencia descendió por debajo del 30 % desde L4 y fue menor al 15 % en la fase adulta. Estas diferencias reflejan el impacto directo de la colonización endofítica en la mortalidad larval y pupal, así como en la reducción de la emergencia de adultos.

Los resultados obtenidos muestran que la colonización endofítica con *B. bassiana* y *M. anisopliae* puede ser considerada como un método de control biológico dentro del Manejo Integrado de Plagas (MIP) en quinua, ya que provoca una disminución significativa de la supervivencia en etapas críticas del ciclo de vida del insecto, acompañada de un acortamiento general del desarrollo (Vidal, 2018; Sari *et al.*, 2023; Vinha *et al.*, 2023).

El hecho de que la inoculación por semilla haya mostrado mayor eficacia en la reducción de la supervivencia y longevidad adulta sugiere que esta estrategia puede incorporarse como método preventivo, al permitir la colonización temprana de los tejidos vegetales. Este hallazgo coincide con lo señalado por Vega (2018), quien destaca que los hongos entomopatógenos endófitos incrementan la persistencia del control biológico y mejoran la respuesta de defensa vegetal.

Asimismo, la disminución de la longevidad adulta de *H. quinoa* implica una reducción de la fecundidad y del potencial poblacional, lo que favorece un control sostenido y menos dependiente de plaguicidas químicos. Resultados similares fueron obtenidos por Mwamburi (2021) y Russo *et al.* (2019), quienes demostraron que el establecimiento endofítico de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en solanáceas y maíz redujo drásticamente la supervivencia de *Spodoptera frugiperda*, reforzando la aplicabilidad de estos resultados en quinua.

En conjunto, la integración de hongos entomopatógenos endófitos en el MIP de quinua ofrece una alternativa eficaz y sostenible frente a *H. quinoa*, alineada con la necesidad de reducir el uso de plaguicidas sintéticos y mantener el equilibrio ecológico del agroecosistema andino (Vega, 2018; Bamisile *et al.*, 2018).

4.3. Efecto de la colonización endofítica de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en plantas de quinua sobre la preferencia de oviposición de *Helicoverpa quinoa*.

El análisis de la preferencia de oviposición mostró diferencias marcadas entre los tratamientos evaluados (Cuadro 10, Figura 4). En el testigo, las hembras depositaron el 65,9 % de los huevos, lo que evidencia una clara preferencia por las plantas no inoculadas. En contraste, la oviposición se redujo significativamente en los tratamientos con hongos endofíticos: *B. bassiana* tratamiento de semilla (19,0 %), *B. bassiana* inoculación foliar (16,7 %), *M. anisopliae* inoculación foliar (20,9 %) y, de manera más drástica, *M. anisopliae* tratamiento de semilla (11,5 %). Estos resultados indican que la colonización endofítica disminuyó la atracción de las plantas hacia las hembras de *H. quinoa*.

Cuadro 10. Porcentaje de oviposición de *H. quinoa* en plantas de quinua inoculadas con hongos entomopatógenos endofíticos.

Tratamiento	Oviposición	
	Huevos	%
<i>B.b.</i> Tratamiento semilla	16	19,0
<i>B.b.</i> Inoculación foliar	14	16,7
Testigo	54	64,3
total	84	100
<i>M.a.</i> Tratamiento semilla	22	11,5
<i>M.a.</i> inoculación foliar	40	20,9
Testigo	129	65,5
total	191	100

Fuente: Elaboración propia

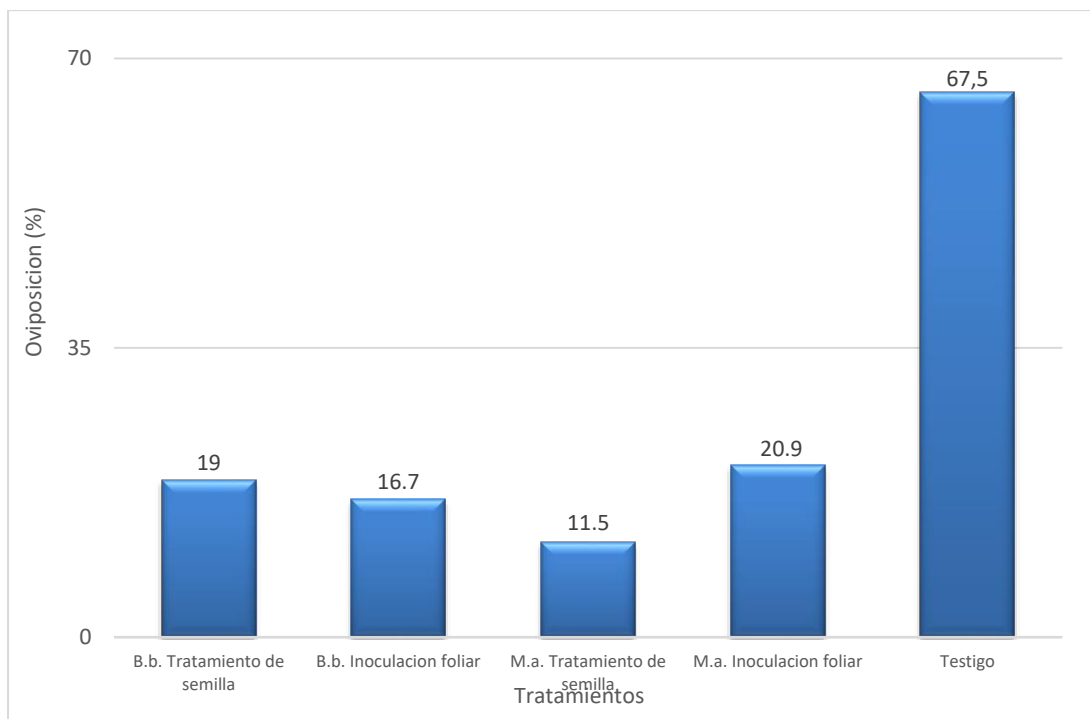


Figura 4. Porcentaje de oviposición de *H. quinoa* en plantas de quinua inoculadas con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, y un testigo sin inoculación.

Los resultados evidencian que la colonización endofítica con *B. bassiana* y *M. anisopliae* redujo de manera significativa la preferencia de oviposición de *H. quinoa*, en comparación con las plantas no inoculadas. La reducción más drástica se observó en *M. anisopliae* tratamiento de semilla (11,5 %), lo que sugiere que la colonización temprana mediante la semilla puede inducir cambios más profundos en la fisiología o en la emisión de compuestos volátiles de la planta, haciendo a estas menos atractivas para la oviposición.

Estos hallazgos coinciden con los resultados obtenidos en otros lepidópteros. Russo *et al.* (2019), reportaron que *Spodoptera frugiperda* redujo su oviposición en maíz colonizado por hongos endofíticos, mientras que Mwamburi (2021), observó disminución de la oviposición de *S. frugiperda* en tomate tratado con *B. bassiana* y *M. anisopliae*. Asimismo, Belezini *et al.* (2023) demostraron que hembras de *Chrysodeixis includens* y *Spodoptera cosmioides* evitaron ovipositar en maní colonizado por hongos entomopatógenos.

El hecho de que las hembras de *H. quinoa* prefirieran ovipositar en el testigo concuerda con lo planteado por Vega (2008) y Dicke (2009), quienes señalan que la colonización endofítica puede modificar las señales químicas y físicas de la planta, reduciendo su reconocimiento como hospedero adecuado.

En este sentido, la inoculación endofítica, particularmente por semilla, se perfila como una estrategia prometedora dentro del manejo sostenible de plagas en quinua, al disminuir la preferencia de oviposición.

5. CONCLUSIONES

Según los objetivos planteados y los resultados obtenidos en el presente estudio, nos permite sustentar las siguientes conclusiones:

- *Beauveria bassiana* logró establecerse como endófito en plantas de quinua, principalmente mediante la inoculación a través del tratamiento de semilla, mientras que *Metarhizium anisopliae* no fue recuperado en los tejidos analizados.
- El ciclo de vida de *H. quinoa* disminuyó de 56 días en el testigo a 43 y 45 días en plantas inoculadas con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, respectivamente.
- La colonización endofítica redujo significativamente la supervivencia de *H. quinoa* en comparación con el testigo. Los tratamientos con *M. anisopliae*, especialmente aplicados por semilla, presentaron la mayor mortalidad en larva y pupa, además de reducir la emergencia de los adultos.
- La emergencia de adultos y la longevidad se redujeron en todos los tratamientos con hongos endofíticos respecto al testigo. Mientras que en el testigo emergió el 90 % con una longevidad de 15 días, en los tratamientos con hongos la longevidad disminuyó a 9–10 días.
- La preferencia de oviposición de *H. quinoa* se redujo drásticamente en las plantas inoculadas. En el testigo se depositó más del 65 % de los huevos, mientras que en *M. anisopliae* semilla apenas un 11,5 %, demostrando que la colonización endofítica modifica las señales de la planta, disminuyendo su atractivo como hospedero.
- En conjunto, los resultados evidencian que la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* constituye una opción prometedora dentro del control biológico de insectos plaga en quinua, ya que altera el ciclo de vida, reduce la supervivencia y disminuye la oviposición de *H. quinoa*, contribuyendo a sistemas agrícolas más sostenibles en el Altiplano.

6. RECOMENDACIONES

En base a los objetivos, resultados y conclusiones del presente trabajo, se pueden formular las siguientes recomendaciones:

- Profundizar en estudios de colonización endofítica de *M. anisopliae* en quinua, evaluando diferentes cepas, métodos de inoculación y condiciones de campo, dado que en este trabajo no se logró recuperar colonización en tejidos.
- Realizar bioensayos adicionales para determinar si los metabolitos secundarios producidos por *M. anisopliae*, como destruxinas, contribuyen a los efectos observados en la biología de *H. quinoa*, aun en ausencia de colonización detectable.
- Validar en condiciones de campo los efectos obtenidos en invernadero sobre supervivencia, ciclo de vida y oviposición de *H. quinoa*, con el fin de confirmar la aplicabilidad práctica de los hongos endofíticos en sistemas productivos de quinua del Altiplano.
- Explorar la integración de *B. bassiana* y *M. anisopliae* como parte del control biológico de insectos plaga en quinua, combinando la inoculación endofítica con otras estrategias como el uso de variedades resistentes, control cultural y conservación de enemigos naturales.
- Evaluar la persistencia de la colonización endofítica a lo largo del ciclo fenológico de la quinua y su interacción con factores de estrés abiótico (temperatura, sequía), a fin de optimizar la eficacia del método de control.
- Probar diferentes dosis de inóculo de los hongos para determinar la concentración óptima que asegure una colonización efectiva y un mayor impacto en la plaga.
- Evaluar el uso de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en el control de otras plagas de la quinua de importancia económica, como *Eurysacca quinoae*, *Copitarsia* sp. y *Agrotis* sp., con el fin de ampliar su aplicabilidad.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acatila, C.;Bautista, N.;Vera, J.;Romero, J. y Calyecac, H. 2004. Ciclo biológico y tasas de supervivencia y reproducción de *Copitarsia incommoda* en cinco dietas artificiales. Tesis En Memorias del Colegio de Postgraduados 2004. Texcoco, México. 355-363 p.
- Akello, J. y Sikora, R. A. 2012. Systemic acropetal influence of endophytic *Beauveria bassiana* on above-ground *Botrytis cinerea* infection in tomato. Biological Control. Place Published, 207-214. 10.1016/j.biocontrol.2012.04.005
- Akutse, K.;Maniania, N.;Fiaboe, K.;Van den Berg, J. y Ekesi, S. 2013. Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the life-history parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Fungal Ecology. 6 293–301. 10.1016/j.funeco.2013.01.003
- Ali, A.;Choudhury, R. A.;Ahmad, Z. y Rahman, F. 2009. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. Journal of Agricultural Science and Technology (JAST). Place Published, 123–132.
- Altaf, N.;Ullah, M. I.;Afzal, M.;Arshad, M.;Ali, S.;Rizwan, M.;Al-Shuraym, L.;Alhelaify, S. y Sayed, S. 2023. Endophytic Colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Maize Plants Affects the Fitness of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). microorganisms. Place Published. Disponible en <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041067>
- Areces, F. 2022. *Helicoverpa gelatopoeon* (gusano cogollero sudamericano).
- Arnold, A. E.;Mejía, L. C.;Kyllo, D.;Rojas, E. I.;Maynard, Z.;Robbins, N. y Herre, E. A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. PNAS. 100(26): 15649-15654. 10.1073/pnas.2533483100
- Avendaño, N. 2023. Antecedentes de la quinua. Place Published. Disponible en <https://es.scribd.com/document/248241741/Antecedentes-de-la-Quinua>
- Bamisile, B. S.;Dash, C. K.;Akutse, K. S.;Keppanan, R.;Afolabi, O. G.;Hussain, M.;Qasim, M. y Wang, L. 2018. Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: An insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants. Microbiological Research. Place Published, 34-50. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501318303288> <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.016>
- Bazile, D.;Jacobsen, S.-E. y Verniau, A. 2016. The Global Expansion of Quinoa: Trends and Limits. Place Published. Disponible en <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2016.00622> 10.3389/fpls.2016.00622
- Belezini, L. N.;Almeida, J. E. M.;Lima, A. F.;Godoy, D. N.;Batista, F. R. C. y Pimentel, I. C. 2023. Negative effects on the development of *Chrysodeixis includens* and *Spodoptera cosmioides* fed by peanut plants inoculated with entomopathogenic fungi. Journal of Applied Entomology. Place Published.
- Bravo M., R. 2004. Entomología básica: conceptos sobre ciclos biológicos de insectos plaga. LIMA, Editorial Agropecuaria. 320 p.
- Callizaya, F. 2017. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de *Copitarsia incommoda* Walker (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del cultivo de la quinua, en condiciones controladas. Universidad Pública de El Alto (UPEA). 77 p.
- Card, S. D.;Walter, M.;Jaspers, M. V.;Szoke, S.;Sutherland, P. W. y Reglinski, T. 2016. Antifungal activity of endophytic bacteria towards apple pathogens and their ability to induce host defence. FEMS Microbiology Ecology. 92(8): 10.1093/femsec/fiw114

- Cohen, A. C. 2018. insect diets: Science and technology. 2nd ed.
- Cruces R., M. y Callohuari C., Y. 2016. Morfometría larval comparada de *Helicoverpa quinoa* y *Copitarsia incommoda* (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos andinos. Journal of Andean Crop Science. Place Published, 22-35. 10.23456/jacs.2016.5.1.22
- Dicke, M. 2009. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. Berlin, Germany, Springer-Verlag. (Plant Relationships, The Mycota V).
- FAO. 2011. Quinoa: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1. ed. 162 p. Disponible en <https://www.fao.org/quinoa>
- Gabriel, J.;Sanabria, D.;Veramendi, S.;Plata, G.;Angulo, A. y Crespo, M. 2013. RESISTENCIA GENÉTICA DE HÍBRIDOS DE TOMATE [*Solanum lycopersicum* L. (MILL.)] AL VIRUS DEL BRONCEADO (TSWV). Revista Agronomía Costarricense. 9.
- Gandarillas A., H.;Saravia N., R. y Copa R., M. 2014. Interacciones planta-insecto en agroecosistemas quinueros del Altiplano sur: un enfoque etnoentomológico. Ecología Aplicada (Revista indexada en Latindex/SciELO). 13 45-60. <https://doi.org/10.21704/rea.v13i2.456>
- Gandarillas A., H. 2015. Capacidad reproductiva de las principales plagas insectiles del cultivo de quinua en el Altiplano sur. 34-47 p.
- Gandarillas, H.;Saravia, R.;Quispe, T. y Pogue, M. 2014. Integración de datos moleculares y morfológicos para la identificación de *Helicoverpa quinoa*. Avances en el Manejo Integrado de Plagas en Quinoa. 3 45-87.
- Gandarillas, H.;Pinto, M. y Rojas, F. 2015. Características agronómicas y productivas de la quinua en altitudes elevadas. Revista Científica de Cultivos Andinos. 10(1) 12_25.
- Goettel, M. S.;Inglis, G. D. y Wraight, S. P. 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: Manual of Techniques in insect Pathology. academic Press. 213-249. Disponible en https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4020-5933-9_10
- Gómez, L. y Aguilar, J. 2016a. Nuevos registros de lepidópteros plaga en quinua en Bolivia. Revista Boliviana de Entomología. 29 33-40.
- Gómez, R. y Aguilar, P. 2016b. Plagas clave en quinua: Biología y control. Lima, Perú, Editorial Agropecuaria.
- González-Mas, N.;Gutiérrez-Sánchez, F.;Sánchez-Ortiz, A.;Grandi, L.;Turlings, T. C. J.;Manuel Muñoz-Redondo, J.;Moreno-Rojas, J. M. y Quesada-Moraga, E. 2021. Endophytic Colonization by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria Bassiana* Affects Plant Volatile Emissions in the Presence or Absence of Chewing and Sap-Sucking Insects. Frontiers in Plant Science. Place Published. Disponible en <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2021.660460>
- Greenfield, M.;Gómez-Jiménez, M. I.;Ortiz, V.;Vega, F. E.;Kramer, M. H. y Parsa, S. 2016. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. Biological Control. Place Published. doi:10.1016/j.biocontrol.2016.01.002.
- Guzmán, D.;Rodríguez, J.;Sandra, J. y Valencia, C. 2014. Identificación de caracteres diagnósticos del ciclo de vida Identificación de caracteres diagnósticos del ciclo de vida de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). . CIAT. Place Published. Disponible en [http://ciat-library.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Identificacion_de_caracteres diagnosticos del ciclo de vida de Helicoverpa zea.pdf](http://ciat-library.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Identificacion_de_caracteres_diagnosticos_del_ciclo_de_vida_de_Helicoverpa_zea.pdf)
- Guzmán M., R.;Quispe C., T. y Flores B., J. A. 2014. Desarrollo larval de *Helicoverpa quinoa* (Dyar, 1921) (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones controladas: patrones morfológicos y duración de estadios. Revista Peruana de Entomología Agrícola. 12 45-60. 10.21704/rpea.v12i2.123

- Hallmann, J.;Quadt-Hallmann, A.;Mahaffee, W. F. y Kloepper, J. W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43 895-914. 10.1139/m97-131
- Huamán G., L. A. 2023. Análisis morfométrico de estadios larvales en Lepidoptera: aplicación para *Helicoverpa quinoa*. *Revista de Investigación Entomológica (Perú)*. 12 15-30. Disponible en <https://doi.org/10.15446/rientom.v12i2.98765>
- Jaber, L. R. y Vidal, S. 2010. Fungal endophyte colonization of plants and its effects on herbivory. *Arthropod-Plant Interactions*. Place Published, 231-238. 10.1007/s11829-010-9099-y
- León Ttacca, B.;Mendoza Coari, P.;Soto Gonzales, J. L. y Borja Loza, Y. R. 2021. richoderma sp. endófito y microorganismos eficaces en el control de Kcona Kcona (*Eurysacca* sp.) y mejora del rendimiento de *Chenopodium quinoa*. *ALFA. Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*. 4(14): 346–355. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v5i14.122>
- Martiradonna, A.;Urbaneja, A. y Pérez-Hedo, M. 2009. Mass rearing of beneficial insects for biological control: Conditions and diet optimization. *Journal of Applied Entomology*. Place Published, 700-710. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2009.01468.x>
- Medina, M. y Hernández, E. 2020. Dietas artificiales: evolución, retos y tendencias. *Memorias del Programa Moscafrut SENASICA-SADER 2020*. 421-434.
- Mejía, M. 2012. Desarrollo de metodologías de cría para *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa gelatopoeon* (plagas de cultivos andinos). Universidad Mayor de San Simón.
- Mujica, A. 2001. Agronomía del cultivo de la quinua. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) – Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Place Published.
- Murúa, G.;Virla, E. y Defagó, V. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides. 43-51 p. (Boletín de Sanidad Vegetal).
- Mwamburi, L. A. 2021. Endophytic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* confer control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in two tomato varieties. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. Place Published.
- Ochoa, R. 2009. Diseños experimentales. 1a. Ed. La Paz, Bolivia, 188 p.
- Ortiz, B. 2023. Evaluación de tres dietas artificiales para la cría masiva de *Helicoverpa quinoa* (Lepidoptera: Noctuidae), plaga del cultivo de la quinua, bajo condiciones controladas. El Alto, Bolivia. Universidad publica de el alto. 65 p.
- Ownley, B. H.;Wedge, D. E.;Butler, K. C.;Dee, M. M.;Klingeman, W. E.;Quigley, N. B. y Gwinn, K. 2010. Multiple roles of *Beauveria bassiana* in plant protection. *In*. 2010. *Microbial Control of Pests and Plant Diseases* (Ed. B. Akhurst). Tohoku University Press. p. 233-245
- Ownley, B. H., Griffin, M.R., Klingeman, W.E., Gwinn, K.D., Moulton, J.K., & Pereira, R.M. 2008. Induction of systemic resistance in cotton by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Journal of Entomological Science*. Place Published, 135-149.
- Panwar, N. y Szczepaniec, A. 2024. Endophytic entomopathogenic fungi as biological control agents of insect pests. *Pest Management Science*. 80(12): <https://doi.org/10.1002/ps.8322>
- Pogue, M. G. 2013. A revision of the genus *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) in South America. Washington, D.C.: USDA Agricultural Research Service. Place Published, 65-72.

- Portilla, M. y Streett, D. 2006. Laboratory rearing techniques for noctuid pests. *In*. 2006. p. 45–67.
- Posada, F. y Vega, F. E. 2007a. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.). *Mycologia*. Place Published, 1195-1200. 10.3852/mycologia.97.6.1195
- Posada, F. y Vega, F. E. 2007b. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). *Mycologia*. Place Published, 185-193.
- PROINPA. 2014. Manual de identificación morfológica de lepidópteros plaga en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el Altiplano boliviano. 3ª edición ed. Fundación PROINPA. 45-47 p. (Viacha, La Paz, Bolivia).
- Quispe, R. 2021. Desarrollo, Metamorfosis y Reproducción de los Insectos. 27.
- Quispe, T.; Mamani, A.; Huanca, P.; Vargas, J. y Cruz, R. 2020. Dinámica poblacional de *Helicoverpa quinoa* en el altiplano central. *Revista de Protección Vegetal*. 15 112-125. 10.12345/rpv.2020.15.2.112
- Ramos-Ticona, V.; Rebaudo, F.; Quispe Tarqui, R. y Loza-Murguía, M. 2024. Identificación y distribución geográfica del complejo noctuideo (Lepidoptera: Noctuidae) plaga del cultivo de la quinua en el Altiplano Norte y Centro de Bolivia. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 15 75-89. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/383709362_Identificacion_y_distribucion_geografica_del_complejo_noctuideo_Lepidoptera_Noctuidae_plaga_del_cultivo_de_la_quinua_en_el_Altiplano_Norte_y_Centro_de_Bolivia10.36610/j.jsars.2024.15.0200075
- Rincón, L. y López, J. 2004. Identificación de sexo en pupas de lepidópteros plaga. Bogotá, Colombia, 56 p p.
- Rodriguez, R. J.; White Jr, J. F.; Arnold, A. E. y Redman, R. S. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*. 182 314-330. 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x
- Russo, M. L.; Pelizza, S. A.; Cabello, M. N.; Stenglein, S. A. y Scorsetti, A. C. 2019. Endophytic effects of *Beauveria bassiana* on corn (*Zea mays*) and its herbivore *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects*. Place Published.
- Saikkonen, K.; Faeth, S. H.; Helander, M. y Sullivan, T. J. 1998. Fungal endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 29 319-343. 10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319
- Sanchez, R.; Sanchez, B.; Sandoval, Y.; Ulloa, A.; Armendariz, B.; Garcia, C. y Macias, M. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. Disponible en https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006
- Santibáñez L., F. J. 2016a. Biología reproductiva de noctuidos andinos: patrones de actividad y su relación con variables climáticas. *Neotropical Entomology*. 45 234-245. 10.1007/s13744-016-0365-2
- Santibáñez L., F. J. 2016b. Biología y comportamiento alimenticio de *Helicoverpa quinoa* (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones controladas. *Revista de Protección Vegetal*. 31 27-30. <https://doi.org/10.15446/rpv.v31i1.56789>
- Saravia, D.; Arequipa, C. y Rojas, P. 2014a. Morfología y biología de *Helicoverpa* sp. en condiciones de laboratorio. La Paz, Bolivia, (PROINPA).
- Saravia M., R.; Quispe C., T. y Flores B., J. A. 2014. Bioecología de *Helicoverpa quinoa* (Dyar, 1921) en condiciones de laboratorio: implicaciones para su manejo. *Andean*

- Agriculture (Bolivia). Place Published, 55-70. Disponible en <https://doi.org/10.23456/jandagri.2014.8.1.55>
- Saravia M., R. 2020. Atlas morfológico de huevos de Lepidoptera de importancia económica en cultivos andinos. Editorial UMSA (Universidad Mayor de San Andrés). 120 p.
- Saravia, R. y Quispe, R. 2005. Principales insectos que afectan el cultivo de quinua en Bolivia La Paz, Bolivia, PROINPA. (Publicación técnica).
- Saravia, R.; Crespo, L.; Quispe, R. y Villca, M. 2014b. Síntesis y desarrollo de feromonas sexuales para dos noctuidos, plagas clave del cultivo de la quinua REVISTA DE AGRICULTURA. 54 100. Disponible en https://www.proinpa.org/publico/Revista_agricultura_espanol/files/res/downloads/download_0063.pdf
- Saravia, R.; Plata, G. y Gandarillas, A. 2014c. plagas y enfermedades del cultivo de quinua. Fundacion Proinpa. 148. Disponible en <https://www.proinpa.org/web/pdf/Quinua/Plagas%20de%20la%20quinua/Plagas%20y%20enfermedades%20del%20cultivo%20de%20quinua.pdf>
- Saravia, R.; Reynaldo, Q. y Crespo, L. 2014d. Lepidópteros asociados al cultivo de la quinua en el Altiplano Boliviano: Actualización taxonómica. REVISTA DE AGRICULTURA. Place Published, 100. Disponible en https://www.proinpa.org/publico/Revista_agricultura_espanol/files/res/downloads/download_0047.pdf
- Sari, R. A.; Lestari, F.; Hidayat, P. y Taniwiryono, D. 2023. Effect of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae on the growth of Spodoptera frugiperda by seed inoculation. Egyptian Journal of Biological Pest Control. Place Published.
- Schowalter, T. D. 2011. insect ecology: An ecosystem approach. 3rd ed ed.
- Stone, J. K.; Polishook, J. D. y White Jr, J. F. 2000. Endophytic fungi. In: 2000. The Mycota. Springer-Verlag. p. 241-270. 10.1007/978-3-662-10372-9_12
- Tapia, M.; Gandarillas, H.; Alandia, S.; Cardozo, A.; Mujica, A.; Ortiz, R.; Otazu, V.; Rea, J.; Salas, B. y Zanabria, E. 1979. Quinua y Kañiwa: cultivos andinos. CIID / IICA. Place Published.
- Tapia, M. 2015. Cultivos andinos: Sabiduría y sostenibilidad para enfrentar la pobreza y la desnutrición. Fundación Andes. Place Published, 316 p. Disponible en <https://es.scribd.com/document/466813389/M-Tapia-Cultivos-andinos-pdf>
- Vega, F. E. 2008. Insect pathology and fungal endophytes. Journal of Invertebrate Pathology. Place Published, 277-279. 10.1016/j.jip.2008.01.008
- Vega, F. E. 2018a. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: A review. Mycologia. 110 Disponible en <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1418578>
- Vega, F. E. 2018b. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. Mycologia. Place Published, 4-30.
- Vélez, M. 1997. Biología y comportamiento de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones de laboratorio. Revista Colombiana de Entomología (Sociedad Colombiana de Entomología). 32 25-32.
- Vidal, S. y Jaber, J. 2015. Entomopathogenic fungi as endophytes: plant-endophyte-herbivore interactions and prospects for use in biological control. Current Science. Place Published. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/281762577_Entomopathogenic_fungi_as_endophytes_Plant-endophyte-herbivore_interactions_and_prospects_for_use_in_biological_control
- Vidal, S. 2021. Endophytic entomopathogenic fungi: Plant-insect interactions and potential for biocontrol. Current Science. Place Published.
- Villacorta, A. 2001. Fundamentos en la preparación de dietas para insectos.

- Vinha, F. B.;Rojas, L. A. C.;Ramos Sales, C.;Monteiro Lima, N. S.;Nascimento, J. D.;De Carvalho, L. A. L. y Lemos, E. G. D. M. 2023. Negative effects on the development of *Chrysodeixis includens* and *Spodoptera cosmioides* fed by peanut plants inoculated with entomopathogenic fungi. *Frontiers in Fungal Biology*. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2022.968528>
- Wilson, D. 1995. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos*. 73 274–276. 10.2307/3545919
- Yujra, j. 2021. EFECTO DE LA TEMPERATURA Y DEL ALIMENTO SOBRE PARAMETROS BIOLOGICOS DE *Copitarsia incommoda* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE) PLAGA DEL CULTIVO DE QUINUA. EL ALTO – BOLIVIA. Universidad Publica de El Alto.
- Zúñiga S., A. y Huanca P., M. 2011. Claves morfométricas para la identificación de estadios larvales en *Helicoverpa spp.* (Lepidoptera: Noctuidae) de Sudamérica. *Neotropical Entomology*. Place Published, 701-710. 10.1590/S1519-566X2011000600006

8. ANEXOS

Anexo 1. Siembra de las plantas del tratamiento semilla



Anexo 2. Inoculación del tratamiento foliar



Anexo 3. Alimentación con dieta artificial a las larvas de *H. quinoa*



Anexo 4. Desinfección de la dieta natural



Anexo 5. Alimentación con dieta natural a las larvas de *H. quinoa*



Anexo 6. Manejo de larvas de *H. quinoa*



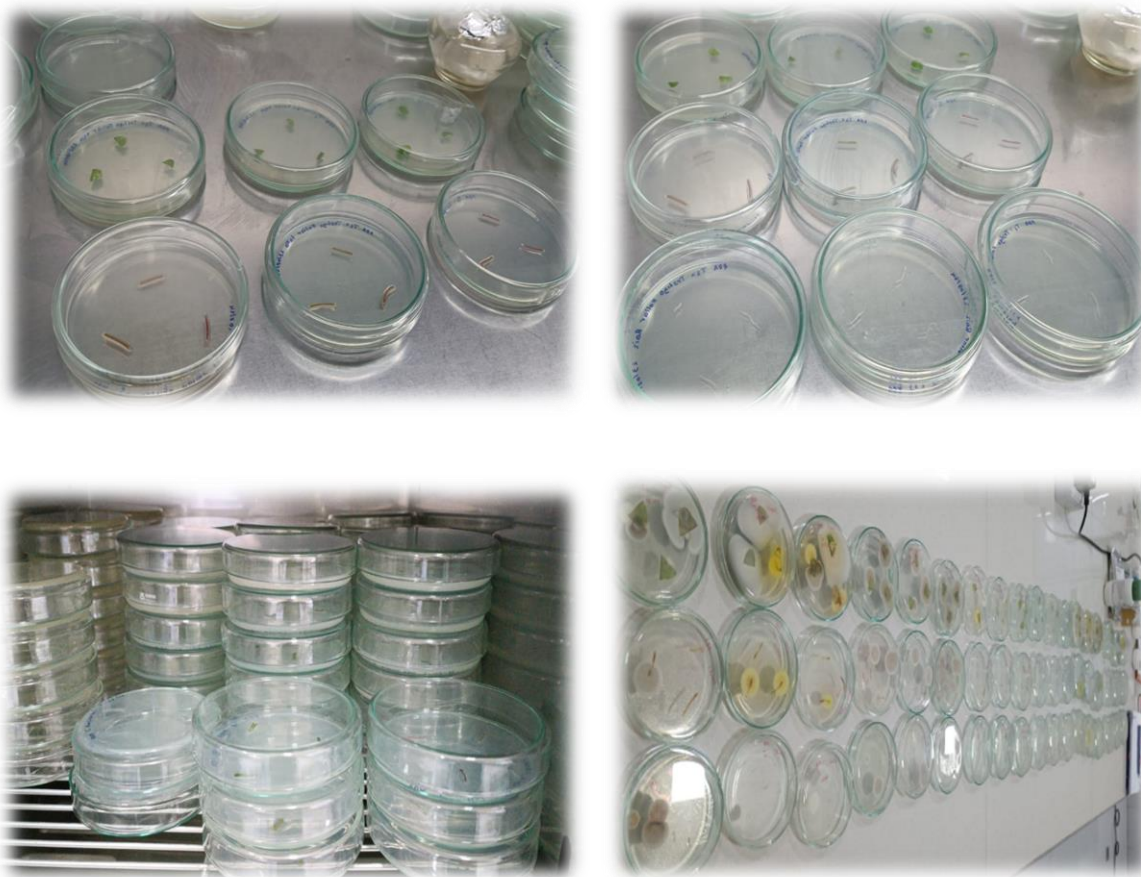
Anexo 7. Muerte de larvas de *H. quinoa*





Anexo 8. Evaluación la colonización endofítica de *B. bassiana* y *M. anisopliae* en plantas de quinua





Anexo 9. Preferencia de oviposición de *H. quinoa* en plantas de quinua inoculadas con *B. bassiana* y *M. anisopliae*





