

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA.  
FACULTAD DE AGRONOMIA.  
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL  
DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA.**

**TRABAJO DE DIPLOMA.**

**Patogenicidad y Virulencia de 12 aislados de  
*Beauveria bassiana* (Balls) vuill, sobre *Plutella  
xylostella* (L) (Lepidoptera : Plutellidae).**

**Autor : Br. Carlos Manuel López Aguirre.  
Asesor : Ing. Héctor Rodríguez Aburto.**

**Enero 1996  
Managua, Nicaragua**

## INDICE.

CONTENDO	Pags.
INDICE DE CUADROS .....	I
INDICE DE FIGURAS .....	II
DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTO .....	IV
RESUMEN .....	V
I INTRODUCCION .....	1
II OBJETIVOS.....	5
III MATERIALES Y METODOS .....	6
3.1 Ubicación del bioensayo .....	6
3.2 Cría de <i>Plutella xylostella</i> .....	6
3.3 Fuentes de Inóculo .....	7
3.4 Experimentación .....	7
3.5 Procedimiento del Bioensayo .....	8
3.6 Variables evaluadas.....	9
3.7 Procesamiento de los datos .....	9
IV RESULTADOS.....	10
V DISCUSION .....	15
VI CONCLUSIONES .....	20
VII RECOMENDACIONES .....	21
VIII BIBLIOGRAFIA .....	22

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Págs
1.- Porcentajes de mortalidad corregida y desviación estandar para 12 aislados <i>B. bassiana</i> sobre <i>P. xylostella</i> . cada valor es el promedio de 5 repeticiones.....	10
2.- Valores de tiempo letal medio (TL <sub>50</sub> ), límites fiduciales y sus ecuaciones de regresión, para 12 aislados de <i>B. bassiana</i> sobre <i>P. xylostella</i> .....	11
3.- Análisis de varianza realizado para los 12 aislados de <i>B. bassiana</i> sobre <i>P. xylostella</i> en el cultivo del repollo.....	12
4.- Prueba de rangos multiples para 12 aislados de <i>B. bassiana</i> en la mortalidad de larvas de <i>P. xylostella</i> a través de la separación de medias según Tukey, al 0.05%.....	13

## INDICE DE FIGURAS

Figura	págs.
1.- Probit de mortalidad de <i>P. xylostella</i> vrs Logaritmo de tiempo de los 12 aislados de <i>B. bassiana</i> (cada punto representa la suma de 5 repeticiones) .....	14

## **DEDICATORIA**

A Dios, por haberme provisto de las personas que apoyaron la finalización de este trabajo.

A mis queridos abuelitos: **Rosa Ramírez Bermúdez** y **José Aguirre Acevedo, (q.e.p.d.)**, quienes en vida, me heredaron valores morales, como la abnegación al trabajo y al estudio

A mi querida madre **María Aguirre Ramírez**, quien con esfuerzo y amor me ayudó ha alcanzar esta meta.

A mi Esposa **Vera Vargas Cantillano** y a nuestra hijita **María Alejandra** que sabran compartir el fruto de este trabajo y de mi esfuerzo.

A mis tíos: **Gregorio, Marina, Socorro, Bertha, y Arnulfo** quienes apoyaron en algunos momentos mi carrera.

A mis queridos **hermanos**, especialmente a **José Antonio** quien diera su vida en 1985, por llevar el pan de la enseñanza a los campesinos de la V región.

A todos los que dieron sus vidas por una educación gratuita para todos los Nicaragüenses, por lo que hoy, muchos hijos de obreros y campesinos tienen acceso a la educación superior.

## **AGRADECIMIENTO**

Mis sinceros agradecimientos a:

    Mi asesor **Ing.Héctor Rodríguez Aburto** por su colaboración para que este trabajo llegara a su conclusión.

    Los **Ing (s). Alvaro Benavides y Reynaldo Laguna** por sus ayudas y sugerencias.

Mis Amigos:   **Br. Ana maría Morán Palacios.**  
                  **Ing : Humberto Brenes.**  
                  **Ing : Gerardo Rodríguez**  
                  **Ing : Gioconda Poveda Malespin**

Téc. Sup. **Dilcia Ponce H.** por su apoyo en la cría de *Plutella xylostella*.

    Téc. **Dilma López** (responsable CEDOC-ESAVE/UNA), por su apoyo incondicional

**La Escuela de Sanidad Vegetal** por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

**Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Proyecto MIP-CATIE/INTA (NORAD-ASDI)**, por el suministro de los aislados.

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el laboratorio de control microbial de la Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. Para evaluar el control de 12 aislados de *Beauveria bassiana*, en larvas de *Plutella xylostella* (Balls).vuill. En el periodo comprendido, desde el mes de Enero al mes de Agosto de 1994. Los aislados evaluados fueron: 117/87, 118, 51/90, 110, 341536, CB-32, 341533, 67, 116/87, CB-55, 38/87, y 447. Los aislados evaluados fueron facilitados en tubos de ensayos por el laboratorio de hongos entomopatógenos del Proyecto MIP-CATIE/INTA (NORAD-ASDI). Se preparó una solución de  $10^8$  conidias/ml de cada aislado. Para el establecimiento de la cría, se recolecto insectos adultos, pupas y larvas, en el municipio de la Concepción departamento de Masaya, que luego fueron trasladados al laboratorio de crías de insectos. Las larvas, para su inoculación fueron sumergidas en platos petri conteniendo la solución  $10^8$  conidias/ml, las larvas testigo fueron sumergidas en platos petri conteniendo agua esteril. Cada larva fué puesta, junto con su alimento en vasos individuales de una onza. Los datos se tomaron cada dos días a partir del día de la inoculación, para la evaluación del porcentaje de mortalidad y el Tiempo Letal Medio(TL<sub>50</sub>) de *B. bassiana* en larvas de *P. xylostella*. El aislado de *Hypothenemus hampei* con codigo 341536 causó una mortalidad de (94.73%), en tanto el aislado CB-32 causó una mortalidad de 46.64%. Los valores de TL<sub>50</sub> variaron de 0.91-5.29, siendo el aislado 118 el que obtuvo el menor tiempo (0.91 días después de la inoculación), para el aislado CB-32 no se obtuvo el TL<sub>50</sub> esperado, ya que no alcanzo el 50% de mortalidad.

## INTRODUCCION

En Nicaragua las hortalizas tienen una considerable importancia en la alimentación de la población. Dentro de éstas, el repollo *Brassica oleraceae* (L) constituye un producto de consumo fresco y procesado. Es reportado como la segunda hortaliza de mayor demanda después del tomate, con un consumo per cápita de 9.1 Kg/año (MIDINRA, 1982).

Normalmente el repollo se produce en grandes cantidades en épocas de primera y en menor cantidad en postrera. Durante los meses de julio a agosto los mercados se observan llenos de este producto, comprándose a precios bajos, sin embargo en los meses de noviembre a mayo se escasea, alcanzando precios muy altos. La producción de este rubro está en manos de pequeños y medianos productores y cooperativas, sectores que no cuenta con los mejores medios para producir (UNA-ESAVE, 1990).

La mayor producción de ésta hortaliza se registra en zonas altas de la región norte (500-1000 msnm), pero se ha adaptado a zonas más bajas como el valle de Sébaco (Matagalpa) y La Concepción (Masaya), las que se han convertido en importantes zonas productoras (Barahona et al, 1989). El cultivo es adaptable a regiones tropicales con zonas de estación fresca, con un rango de temperatura entre 15-23 °C (Cáceres, 1984) y con un régimen de precipitación pluvial de 800 a 1,500 mm/año (MIDINRA, 1982).

Se estima que el costo de producción promedio por hectarea oscila entre \$ 800,00 a \$ 1,342.00 de los cuales se invierten entre 20% a 38% en el control de plagas, siendo la mayor parte de este porcentaje destinado al control de *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) (CATIE, 1990).

Esta especie ha sido reportada como plaga principal, en todas las zonas donde se produce este cultivo (Guharay, 1986). En el ciclo de producción 1983-1984, esta plaga llegó a provocar pérdidas económicas de hasta un 100% (Varela, 1987).

El ciclo biológico, desde huevo a adulto, tarda entre 15-40 días, dependiendo de las condiciones climáticas, principalmente la temperatura.

En los primeros estadios larvales el insecto se alimenta de la superficie inferior de las hojas, dejando ventanas en la superficie superior intacta. Las larvas mayores perforan las hojas haciendo muchos agujeros irregulares. El daño es mucho mayor cuando las larvas penetran en el corazón y otras partes comerciales de la planta ( King y Saunders, 1984 ).

La dinámica de la plaga está determinada por la altura sobre el nivel del mar, la temperatura y la precipitación, así como el manejo dado a los campos de repollo antes y después de la cosecha. La precipitación y la temperatura son factores determinantes para la incidencia de la plaga, y ésta varía de acuerdo a la época del año ( CATIE, 1990 ).

Tradicionalmente se han aplicado contra este insecto una gran cantidad de insecticidas como Deltametrina, Metomil, Metamidofos, Permetrina, Acefato, Malation, y DDT entre otros, los que han sido aplicados solos o en combinación, y en dosis elevadas, haciéndose evidente el abuso de insecticidas ( UNA-ESAVE, 1990 ).

Varela ( 1987 ), evaluó la efectividad de Metomil, *Bacillus thuringiensis*, Metamidofos y Deltametrina, de los cuales el único efectivo fue *B. thuringiensis*, sin embargo se ha reportado que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a *Bacillus thuringiensis* sub-especie *Kurstaki* ( Tabashnik et al, 1990 ).

El control de *P. xylostella* es aún más difícil por su tipo de alimentación críptica, la cerosidad de la hoja, que hace menos eficiente la aplicación, la alta proliferación de la plaga, sus generaciones cortas, su capacidad de desarrollo de resistencia a insecticidas y capacidad migratoria ( Andrews, 1984 ).

La lluvia es un importante factor de mortalidad de larvas en sus primeros estadios, principalmente cuando el repollo es cultivado en invierno. La lluvia también influye sobre la mortalidad de los adultos, debido al ahogamiento cuando éstos son atrapados por el agua que se almacena en las hojas.

Otro factor de mortalidad de larvas es el parásito *Diadegma insularis* ( Hymenóptera : Ichneumonidae ), que parasita larvas del segundo y tercer estadio. Otro enemigo natural es la avispa del genero *Polybia* (Hymenóptera : Vespidae), que es un depredador generalista que también causa mortalidad de larvas ( CATIE, 1990 ).

Una posible alternativa de manejo para *P. xylosteella* es el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balls) vuill, el cual a nivel de ensayos de campo, ha mostrado ser promisorio para el control de plagas de los órdenes Lepidóptera y Coleóptera.

Lacayo ( 1994 )<sup>1</sup>, ha encontrado altas infestaciones de larvas de *P. xylosteella*, con el hongo *B. bassiana*, siete días después de aplicaciones de este, en la zona de Carazo.

Rodríguez ( 1995 )<sup>2</sup>, encontró infestaciones de *P. xylosteella*, con el mismo hongo, una semana después de ser aplicado en plantaciones de repollo, en la zona de Jinotega.

*B. bassiana* Pertenece a la clase: Deuteromycetes, Orden: Moniliales. Es un grupo establecido, que comprende los hongos donde solo se conoce la propagación asexual.

En Nicaragua se han realizado estudios para conocer su incidencia

1 Lacayo 1994 Infestacion de *p xylosteella* por *B. bassiana* (Comunicación personal )

2 Rodríguez 1995. Infestacion de *p xylosteella* por *B. bassiana* (Comunicación personal )

sobre *P. xylocastella*, como la mezcla de *B. bassiana* mas Nu-Film 17, provocando una mortalidad de 85% en el método por inmersión ( Gutierrez, 1991 )

López ( 1993 ), obtuvo porcentajes de mortalidad de 82%, 70%, y 38% para los aislados ( 64-88, CB-32, 116-87 ) de *B. bassiana*, y un  $TL_{50}$  de 3.6, 5.86 y 23 días respectivamente, contra larvas de *P. xylocastella*.

En la evaluación del efecto de la temperatura y métodos de aplicación, sobre la patogenicidad del aislado 38/87 de *B. bassiana* contra larvas de *P. xylocastella*, se obtuvieron resultados promisorios, causando porcentajes de mortalidad de 73.46% para el método de inmersión y un  $TL_{50}$  de 0.72 días después de la inoculación ( Rodríguez, 1995 )

Steinhaus ( 1968 ), citado por López ( 1993 ), describió la sintomatología de *B. bassiana* sobre diferentes géneros del orden Lepidóptera. Una larva infectada se vuelve perezosa en sus movimientos, no responde a la mayoría de estímulos externos, y con frecuencia toma un color ligeramente rosado. La larva permanece blanda y flexible hasta que el micelio ha crecido a través del cuerpo del insecto. En seguida, el insecto se pone rígido momificado y el contenido del cuerpo es blando y polvoso. Cuando se expone al aire libre húmedo, los conidióforos rompen el integumento y aparece el micelio blanco sobre la superficie del insecto. Después de uno a dos días se producen los conidios los cuales dan al insecto una apariencia harinosa polvosa.

Con este estudio investigamos aislados de *Beauveria bassiana* más específicos para el control de *Plutella xylocastella*, como una alternativa para reducir el uso de agroquímicos que no resuelven el problema y más bien lo agravan, provocando insecto-resistencia, contaminación ambiental y otros efectos colaterales negativos.

## OBJETIVOS

- 1 Investigar aislados más específicos de *B. bassiana* , para el control de *P. xylocostella*
- 2 Determinar el efecto de la patogenicidad de 12 aislados de *B. bassiana* en el control de *P. xylocostella* .
- 3 Calcular el porcentaje de mortalidad, causado por cada aislado de *B. bassiana* ,en el control de *P. xylocostella* .
- 4 Calcular el Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>), de cada aislado de *B. bassiana* en el control de *P. xylocostella* .

## MATERIALES Y METODOS.

### 3.1 Ubicación del bioensayo.

Los bioensayos fueron realizados en el laboratorio de control microbial, de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria, (U.N.A), ubicada en el kilómetro 12 1/2, carretera norte, Managua-Nicaragua. En el periodo comprendido, desde el mes de enero hasta el mes agosto de 1994.

### 3.2 Cría de *Plutella xylostella*.

Insectos en estado adulto, pupas y larvas fueron recolectados en campos de repollo en el municipio de la Concepción, departamento de Masaya y luego trasladados al Laboratorio de crías de insectos de la Universidad Nacional Agraria, (U.N.A), en donde se estableció la cría.

Los adultos fueron puestos en jaulas, donde se les alimentó con una solución de miel de abejas, vitamina E y levadura de cerveza. Para la oviposición y la alimentación de larvas, se establecieron semilleros de repollo, variedad King-cole, que luego se sembraron en maceteras pequeñas de barro, las cuales se mantuvieron en el invernadero. La alimentación de las larvas se cambió cada dos días, trasladando las larvas de las plantas viejas a plantas nuevas, teniendo el cuidado de revisar y limpiar las jaulas, para evitar que arañas y hormigas llegaran a devorar larvas.

Las plantas en las jaulas de oviposición eran revisadas cada dos días, cuando las plantas presentaban un porcentaje 40% de oviposición de *P. xylostella*, éstas se trasladaban a jaulas de crías de larvas y se reponían por plantas frescas.

### 3.3 Fuentes de inóculo.

Los aislados de *B. bassiana* evaluados en este trabajo, fueron facilitados en tubos de ensayos, por el laboratorio de hongos entomopatógenos del Proyecto MIP-CATIE/INTA (NORAD-ASDI). En la búsqueda de aislados, este centro realiza viajes a varias zonas del país y a diferentes cultivos donde se colectan muestras de insectos y suelo, de estas muestras se obtienen los aislados de *B. bassiana* ( Balls) vuill. (Gerdeman 1990; citado por Quiroz. I y Jimenez. C. 1994).

### 3.4 Experimentación.

Los aislados de *B. bassiana* utilizados en esta investigación se presentan en el siguiente cuadro.

Código del aislado	Aislado de	Lugar de Procedencia
117/87	<i>Diabulus maidis</i>	Managua
110	<i>Pantomorus sp</i>	Posoltega, Chinandega
CB-32	Insecto	Cuba
CB-55	Insecto	Cuba
51/90	Suelo	Nicaragua
341536	<i>Hypothenemus hampei</i>	Honduras
38/87	<i>Coleopterus sp</i>	Managua
447	Insecto	Brazil
341533	<i>Hypothenemus hampei</i>	Honduras
118	<i>Pantomorus sp</i>	Leon
67	<i>Flutella xylostellia</i>	Jinotega
116/87	<i>Colaspis sp</i>	Chinandega

La colecta y el aislamiento del hongo, fueron realizados por técnicos del laboratorio de hongos entomopatógenos del Proyecto MIP-CATIE/INTA (NORAD-ASDI), basándose en la metodología descrita por Alvés ( 1986 ).

### **3.5 Procedimiento del bioensayo.**

Los bioensayos se realizaron de acuerdo al procedimiento descrito por el Grupo Nacional de Control Microbial ( Proyecto MIP-Nicaragua, 1993), en el laboratorio de control microbial de la Escuela de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Agraria, (U.N.A).

Los tratamientos fueron 12 aislados de *B. bassiana*, más un testigo tratado con agua esteril; con 5 repeticiones cada uno. La concentración de conidias usadas, fué de  $10^8$  conidias /ml. Se utilizaron 30 larvas de *P. xylostella* por cada repetición.

La alimentación de las larvas se desinfectó y consistió en discos de hojas de repollo, lavados y desinfectados con alcohol al 90%. Luego se dejó secar al aire para evitar daños a las larvas.

Se preparó una solución, a una concentración de  $10^8$  conidias/ml de cada aislado, los cuales estaban en tubos de ensayos. La solución se preparó usando el procedimiento de lavado de esporas. Para el conteo de las conidias de la solución madre, se utilizó la cámara de conteo Neubauer.

Para la inoculación de las larvas, estas fueron sumergidas en platos petri conteniendo la solución de  $10^8$  conidias/ml, sacándolas inmediatamente y puestas en papel filtro. Cada larva se colocó junto con su alimento en vasos individuales de una onza, previamente desinfectados con alcohol al 90%. Para el testigo, las larvas se sumergieron en platos petri conteniendo agua esteril. Los datos se tomaron cada dos días a partir del día de la inoculación, procediendo también al cambio de la alimentación.

### **3.6 Variables evaluadas.**

- 1 Porcentajes de mortalidad de *P. xylostella* causada por *B. bassiana*
- 2 Tiempo Letal Medio (TL<sub>50</sub>) de cada aislado.

### **3.7 Procesamiento de los datos.**

Los datos fueron procesados en el centro de computos, de la Escuela de Sanidad Vegetal en la Universidad Nacional Agraria (U.N.A) haciéndose correcciones en la mortalidad observada con la formula de Abotts. El análisis de los datos se hizo a través de los siguientes programas:

- a) Frances Dose Letale (version 4.0) mediante el cual se obtuvo resultado de TL<sub>50</sub>, para cada aislado, sus ecuaciones de regresion y limites de confianza.
- b) Cricket graph para realizar las figuras probit de mortalidad vs logaritmo de tiempo.

## RESULTADOS

Los 12 aislados evaluados de *B. bassiana* resultaron ser patogénicos a larvas de *P. xylocostella*, causando porcentajes de mortalidad que variaron de 46.64-94.74%

**Cuadro 1.** Porcentajes de mortalidad corregida y desviación estandar para 12 aislados de *B. bassiana* sobre *P. xylocostella* (cada valor es el promedio de 5 repeticiones ).

Aislados	Porcentaje de mortalidad	Desviacion estandar(+/-)
341536	94.74	3.68
67	82.82	11.03
110	82.15	8.94
447	81.48	4.33
118	78.78	12.22
38/87	74.44	5.17
341533	73.10	12.86
116/87	71.59	13.37
CB-55	68.81	6.53
117/87	62.24	8.28
51/90	54.06	23.93
CB-32	46.64	14.86

Corregido por mortalidad en el testigo, segun formula de Abbotts.

$$\% \text{ respuesta corregida} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

a = % sin respuesta en el testigo.

b= % sin respuesta en el tratamiento.

Las diferentes especies de *B. bassiana* varían en su patogenicidad con respecto a las distintas especies de insectos (GOMEZ, 1968). Los valores de tiempo letal medio  $TL_{50}$  para cada aislado variaron considerablemente desde 0.91-5.29 días. (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Valores del tiempo letal medio ( $TL_{50}$ ), límites fiduciales y sus ecuaciones de regresión, para 12 aislados de *B. bassiana* sobre *P. xylocstella*

Aislados	$TL_{50}$ Días	Ecuacion de Regresión	Limite inferior	Limite superior
118	0.91	$y=5.454+1.002 x$	0.35	1.08
341536	1.08	$y=4.892+3.010 x$	0.49	2.40
110	1.11	$y=5.112+1.687 x$	0.81	1.373
341533	1.46	$y=4.754+1.474 x$	0.56	3.78
117/87	1.59	$y=4.745+1.255 x$	0.56	4.53
51/90	1.64	$y=4.827+0.812 x$	0.91	2.91
CB-55	1.64	$y=4.733+1.235 x$	1.11	2.42
447	1.98	$y=3.697+4.362 x$	1.78	2.21
116/87	2.07	$Y=4.484+1.629 x$	0.80	5.30
67	2.13	$y=5.113+1.190 x$	0.87	3.66
38/87	2.66	$y=3.022+4.650 x$	2.45	2.88
CB-32	5.29	$y=3.954+1.444 x$	4.58	6.11

El análisis de varianza de los 12 aislados demuestra que existen diferencias significativas entre los aislados evaluados de *B. bassiana* al control de *P. xylocostella*. (cuadro. 3)

**Cuadro 3.** Análisis de varianza realizado para los 12 aislados de *B. bassiana* sobre *P. xylocostella* en el cultivo de repollo.

Fuente	Gl	S.de C.	CM	Fc	Ft	significancia
Cepa	11	9733.47	884.86	6.31	1.99	*
Error	48	6728.83	140.18			
Total	59	16462.3				

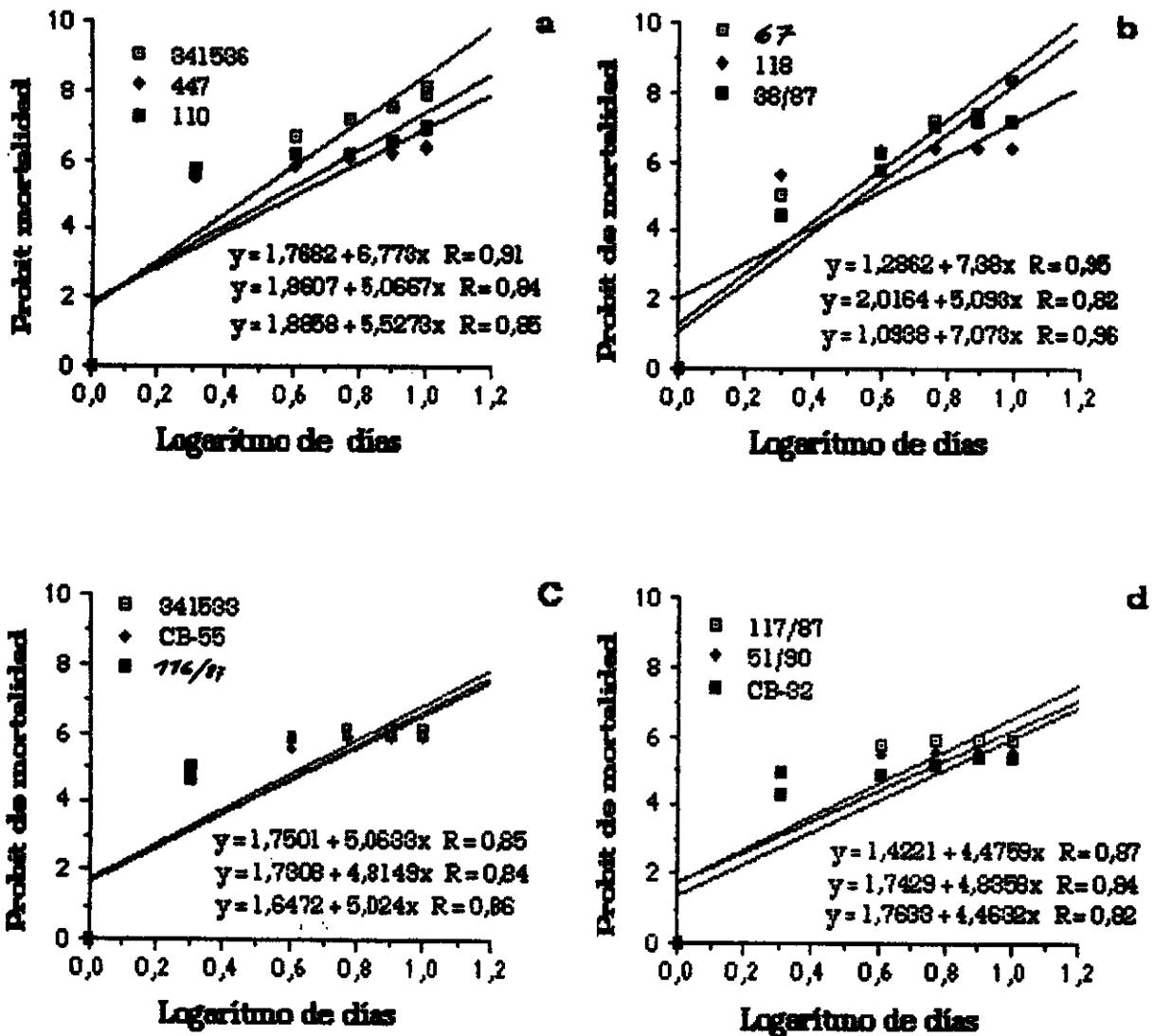
Alfa=0.05

La separación de medias realizada en este experimento para los 12 aislados de *B. bassiana*, agrupó en 5 ordenes de méritos a los 12 aislados en estudios, siendo el primer orden para el aislado 341536 y el último orden para el aislado CB-32 (cuadro. 4).

**Cuadro 4.** Prueba de rangos múltiples para 12 aislados de *B. bassiana* en la mortalidad de larvas de *P. xylocostella* a través de la separación de medias según Tukey, al 0.05%.

Aislado	porcentajes Promedios	Orden
341536	94.73	a
67	82.82	abc
110	82.15	abcd
447	81.80	abcd
118	78.78	abcd
38/87	74.44	abcd
341533	73.10	abcd
116/87	71.59	abcd
CB-55	68.91	abcd
117/87	62.24	abcd
51/90	54.19	cd
CB-32	46.64	d

En la comparación de líneas de respuestas probit de mortalidad vrs Logaritmo de tiempo, la mortalidad aumenta con el tiempo. (figura 1).



**Figura 1.** Probit de mortalidad de *F. Nyctetella* vrs, Logaritmo de tiempo de los doce aislados de *B. bassiana* ( cada punto representa la suma de cinco repeticiones ).

## DISCUSION

Los 12 aislados evaluados resultaron ser patógenicos a larvas de *P. xylostella*.

Las larvas infectadas por el hongo fueron reconocidas por su lentitud al andar, rigidez, coloración ligeramente rosada y posterior esporulación blanca. Estos síntomas son los característicos en larvas infectadas de *B. bassiana* descritos por Steinhaus ( 1968 ), en diferentes géneros del orden Lepidóptera. La presencia del micelio de *B. bassiana* en *P. xylostella*, fue evidente 2-4 días después de la inoculación, cuando éstas eran colocadas en camaras húmedas. Lo que coincide con Hayden et al ( 1992 ), obteniendo resultados similares en larvas de *Sitobion avenae*, donde la aparición del micelio de *B. bassiana* se evidenció 2-3 días después de la inoculación. Observaciones hechas por López ( 1993 ), al evaluar tres aislados de *B. bassiana*, la presencia del micelio fué visible 1-2 días después de la inoculación en larvas de *P. xylostella*.

Los valores de mortalidad corregida de los 12 aislados evaluados, después de la inoculación, reflejan que los aislados **341536** de *Hypothenemus hampei*, **67** de *Plutella xylostella*, **110** *Pantomorus* sp y **447** de Insecto, fueron los que causaron mayor mortalidad, los cuales ejercieron un control sobre *P. xylostella* por encima del 80 %, seguidos de los aislados **118**, **38/87**, **341533** y **116/87**, los cuales ejercieron un control, entre 71.59%-78.88 %, mientras los aislados **CB-55**, **117/87**, **51/90**, y **CB-32**, resultaron ser los menos infectivos, ejerciendo un control por debajo del 70 %; siendo los aislados **51/90** de suelo y **CB-32** de insecto, los que obtuvieron los resultados más bajos del experimento con **54.06 %** y **46.64%** respectivamente (Cuadro 1).

Los valores en porcentajes de mortalidad para los 12 aislados son similares a los valores que obtuvo Gutierrez ( 1991 ), al evaluar la mezcla de

*B. bassiana* (aislado 117) más Nu-film 17 en larvas de *P. xylocstella*, causando una mortalidad de 85%, en la aplicación por inmersión, a una concentración de  $10^8$  conidias/ml, que fué la usada en este experimento.

El resultado obtenido del aislado 38/87 con 74.44% de mortalidad, es similar al encontrado por Rodriguez ( 1995 ) de 73.46%, usando el mismo método de aplicación y la misma concentración, al evaluar la patogenicidad del aislado 38/87 de *B. bassiana* en larvas de *P. xylocstella*

López ( 1993 ), al evaluar la patogenicidad de los aislados CB-32 y 116/87 de *B. bassiana* contra larvas de *P. xylocstella*, encontró una mortalidad de 70% y 38% respectivamente, los cuales difieren a los resultados obtenidos en esta investigación (CB-32=46.64%), (116-87=71.59%). Esto quizás sea debido a diferentes factores como: la conducción del experimento, instar de insecto, calidad y tipo de alimentación de las larvas, la hora de establecimiento de los bioensayos, etc.

Las causas por las cuales un aislado entomopatógeno presenta diferencias patogenicas, se le atribuyen a diferentes factores que, hacen que la interacción patógeno-hospedante sea exitosa. Uno de estos factores de patogenicidad es la existencia de aislados que presentan una alta producción de enzimas quitinasas, proteasas y toxinas, por tanto, poseen alta virulencia a ciertos insectos. Samsinakova *et al.*, ( 1979 ), citado por Roberts ( 1980 ) y López ( 1993 ).

Segun Alves ( 1986 ), mediante el bioensayo se puede evaluar el potencial del patógeno para el control de determinada plaga. Este potencial se mide con los siguientes parámetros :  $CL_{50}$ ,  $DL_{50}$ ,  $DE_{50}$ , y  $TL_{50}$ .

Los valores del  $TL_{50}$  en esta investigación muestran, que el tiempo requerido por los aislados, para matar el 50% de la población inoculada de larvas de *P. xylocstella*, varió de 0.91-5.29 días después de la inoculación. Siendo el aislado 118 de *Fantomcrus sp.*, el que requirió menor tiempo en matar el 50% de la población expuesta, a través de la comparación de límites fiduciales y el valor numérico de  $TL_{50}$ ; en cambio el aislado CB-32 es el que requirió más tiempo en matar el 50% de la población expuesta. En tanto el resto de aislados son estadísticamente similar. Los valores de  $TL_{50}$  y límites fiduciales se muestran en el Cuadro 2.

Gutierrez (1991), evaluó la mezcla de *B. bassiana* (aislado 117) más Nu-Film 17, en el control de *P. xylocstella*, con diferentes concentraciones de *B. bassiana*, reportando un  $TL_{50}$  de 5.9 días después de la inoculación, para la concentración de  $10^6$  conidias/ml, en el método por inmersión.

Rodriguez (1995), al evaluar el efecto de la temperatura y métodos de aplicación en la patogenicidad del aislado 38/87 de *B. bassiana* al control de *P. xylocstella*, usando el método de inmersión y la misma concentración, que fué usada en este experimento, obtuvo un  $TL_{50}$  de 0.72, 2.52 y 5 días para las temperaturas de 30, 26 y 23°C respectivamente. Se puede observar la similitud de los datos de  $TL_{50}$  alcanzados por Rodriguez (a 26 °C =2.52 días) y los alcanzados en el presente trabajo (2.66 días a temperatura ambiente) es decir 26° aproximadamente.

López (1993), obtuvo un  $TL_{50}$  de 3.6 para el aislado CB-32 de *B. bassiana*, con la concentración  $10^6$  conidias/ml, en el control de *P. xylocstella*.

Los resultados del  $TL_{50}$  en éste estudio, son similares a los encontrados por éstos investigadores, usando el método de inmersión y la misma

concentración  $10^8$  conidias/ml.

En *B. bassiana*, un importante factor de virulencia es la capacidad de ciertos aislados para la producción de Proteasa extracelular. Bidochka y Khachatourians (1990), identificaron la proteasa extracelular como un factor de virulencia contra *Melanopus sanguinipes*. Los aislados con mayor producción de proteasa extracelular fueron mas virulentos contra este insecto; por lo tanto, obtuvieron los valores más bajos de  $TL_{50}$ .

El análisis de varianza realizado para los 12 aislados evaluados, del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, demuestra con 95% de confianza, que los aislados ejercen una influencia diferente en el control de larvas de *P. xylostella* (Cuadro 3)

Las diferentes especies de *B. bassiana* varían en su patogenicidad con respecto a las distintas especies de insectos. (Gómez, 1968).

A través de la separación de medias segun Tukey al 0.05%, al analizar la variable porcentajes de mortalidad de larvas de *P. xylostella*, los aislados difieren significativamente; demostrando estadísticamente que el aislado **341536** de *Hypothenemus hampei*, fué el que mejor control realizó a larvas de *P. xylostella* con 94.74% de mortalidad, seguido del aislado **67** de *Flutella xylostella*, con 82.82% de mortalidad, mientras los aislados **51/90** de suelo y **CB-32** de insecto, causaron menor mortalidad, siendo el aislado **CB-32** el que menos mortalidad provocó en larvas de *P. xylostella* con 46.64%. el resto de aislados (**110, 447, 118, 38/87, 341533, 116/87, CB-55, y 117/87**) tienen un comportamiento estadísticamente similar (Cuadro 4).

La comparación de líneas de respuestas probit de mortalidad de *F. xylostellata* vs logaritmo de tiempo, con la misma concentración de los 12 aislados, muestra que los aislados **341536 y 38/87**, alcanzaron mayor mortalidad en menor tiempo, siguiendo en orden los aislados **110, 118 y 67**. La mortalidad se incrementa con el tiempo. Las líneas de respuestas de los aislados **341536, 38/87, 110, 118, y 67**, muestra mayores porcentajes de mortalidad en menor tiempo ( **fig. 1** )

En el Manejo Integrado de Plagas, la selección de aislados específicos y la definición de un rango de hospederos, es fundamental para usar hongos entomopatógenos en aplicaciones de campo. Por lo que en este trabajo se han evaluado 12 aislados del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, seleccionando los aislados más promisorios para el manejo de *F. xylostellata* y puedan considerarse para ser incorporados a programas de manejo de este insecto, para disminuir el uso de productos agroquímicos que provocan insecto-resistencia, contaminación ambiental, intoxicaciones humanas y otros problemas negativos para nuestra sociedad y nuestro futuro.

## CONCLUSIONES

- 1.- Los 12 aislados evaluados de *B. bassiana* resultaron ser patogénicos a larvas de *P. xylocastella* y la mortalidad de larvas varió, con respecto a los diferentes aislados.
- 2.- El aislado **341536** causó el mayor porcentaje de mortalidad (94.74%), seguido del aislado **67** (82.82%); el porcentaje mas bajo de mortalidad fué causado por el aislado **CB-32** (46.64%).
- 3.- El aislado **118** fué el más virulento, el cual obtuvo el menor  $TL_{50}$  (0.91 días), seguido del aislado **341536** (1.08 días), siendo el aislado **CB-32** el que obtuvo mayor  $TL_{50}$  (5.29 días).

## RECOMENDACIONES

- 1.- En base a la mortalidad y  $TL_{50}$  encontrado en el aislado **341536**, es recomendable usar este hongo, para realizar futuras aplicaciones en el campo para el manejo de *Plutella xylostella*
- 2.- De acuerdo al ciclo de vida de *P. xylostella*, los aislados 118 y 110 son promisorios para ser usados en el manejo de ésta plaga, de acuerdo a su  $TL_{50}$  y mortalidad aceptble.
- 3.- Segun los resultados estadisticos en este estudio, no es recomendable usar los aislados CB-32 y 51/90 para el manejo de *P. xylostella*

## Bibliografía

- BARAHONA, L. D. 1990. Efecto de insecticidas botánicos y biológicos sobre la entomofauna presente en el cultivo de Repollo (*Brassica oleracea* L.) var superette. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional Agraria; Escuela de Sanidad Vegetal. 37 p.
- BIDOCCA, J. M. & KHACHATOURIANS, G. G. 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular proteasa as a virulence factor in pathogenicity toward the Migratory grasshoper, *Melanoplus sanguinipes*. Journal of invertebrate pathology. ( U.S.A. ). 56(1) : 362-370.
- BIJLMAKERS, H. 1993. Probit Análisis. In. Recopilación sobre bioensayos y análisis probit. Grupo Nacional de Control Microbial. Proyecto Manejo Integrado de Plagas, Nicaragua. p. (irr).
- CACERES, E. 1984. Producción de hortalizas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 2<sup>da</sup> reimp. San José, Costa Rica, 28-33 p.
- CATIE. 1990. Guía para el manejo integrado del Cultivo del Repollo. Proyecto Regional; Manejo Integrado de Plagas. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 80 p. (Serie técnica. Informe técnico N° 150)
- ENFERMEDADES FUNGOSAS. In. GOMEZ, S. J. 1968. Control Biológico. Pueblo y Educación. Habana, Cuba. p.66-72

GUHARAY, F. 1986. Problemática de la producción hortícola en la VI Región y sugerencias para su superación. Informe Técnico. DGEIA-MIDINRA. Managua, Nicaragua. 46 p. (Mimeografiado).

GUTIERREZ, C., 1991. Formulación de *Beauveria bassiana* (Bals) con NU-FILM 17 para el control de larvas de *Plutella xylostella* (L.). Tesis de MSc. CATIE. Costa Rica. 53 p.

HAYDEN, P. T.; BIDOOCHKA, J. M. & KHACHATOURIANS, G.G. 1992. Entomopathogenicity of several fungi toward The English Grain Aphid (Homoptera : Aphididae) and enhancement of virulence with host passage of *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Economic Entomology*. ( U.S.A. ) 85 (1):58-64

#### HORTALIZAS Y FRUTALES EN LA ESCUELA AGRICOLA

PANAMERICANA. 1984. In. ANDREW, L. K. Manejo integrado de Plagas Invertebradas en Cultivos Agronómicos. MIP-Honduras. EAP-El ZAMORANO, Honduras. p.37-38.

KING, A. N. S. & SAUNDERS J. L. 1984. Las Plagas Invertebradas de Cultivos Anuales Alimenticios en America Central. London, Overseas Development. Administration. p.65.

LOPEZ, M. A. 1993. Evaluación de la susceptibilidad relativa de *Plutella xylostella* (L.) a tres aislados de *Beauveria bassiana*. Tesis Ing. Agr. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria; Escuela de Sanidad Vegetal. 26 p.

MANEJO DEL CULTIVO DE REPOLLO CON ENFASIS EN MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS. 1990. Proyecto MIP-CATIE/Nicaragua. Universidad Nacional Agraria; Escuela de Sanidad Vegetal. Managua,

Nicaragua. 32p.

MIDINRA, 1982. Manual técnico de repollo. Ministerio de Desarrollo Agropecuario y Reforma Agraria. Mangua, Nicaragua. 19 p.

MIRANDA, F. & VARELA, G. 1990. Estimación del nivel de daño económico de la palomilla de col (*Plutella xylostella* L.) en el Cultivo de Repollo (*Brassica oleracea*) var Superette. Revista de la Escuela de Sanidad Vegetal. (Nicaragua). 1 (3): 10-21.

MIYATA, T. et al. 1986. Studies on the mechanism of Diamond black moth resistance to insecticides. In. Diamond moth management. Griggs T.D. (Edit.) Asian vegetable Research Development Center. ShanguaTaiwan. p. 63-65.

PRODUCCION DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS. 1886. In. ALVES, S. B. Control Microbiano de Insectos. Manole. (S.D.T). p. 311-321.

ROBERT, D. W. 1980. Toxin of Entomopathogenic Fungi. In. Microbial Control of Pest and Plant Disease 1970-1980. H. D. Burgues (Edit). Academic press, New york. p. 441-464.

RUEDA, P. A. 1990. Determinación de periodo crítico de *Plutella xylostella* (L.) en Cultivo de Repollo (*Brassica oleracea* L.) durante la época de apante. Tesis de Ing. Agr. Managua, Nicaragua Universidad Nacional Agraria; Escuela de Sanidad Vegetal. 25 p.

- STEINHAUS, E. A. 1968. Enfermedades microbianas de los insectos.  
In. Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Paul  
Debach (Edit). Instituto del Libro. Habana, Cuba. p 617-619.
- TABASHNIK, B. C.; FINSON, N. & JHONSON, M. 1990. Field  
development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamond back  
moth (Lepidoptera : Plutellidae). Journal of Economic Entomology.  
(U.S.A.). 83 (5):1671-1676.
- VARELA G. 1987. Efectividad de cuatro insecticidas en el control de de larvas  
de *Plutella maculipennis* (Curtis) y *Leptophobia arisa* (Bols) en el  
Cultivo de Repollo (*Brassica oleracea*) vr superette. Tesis Ing. Agr.  
Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias; Escuela de Producción  
Vegetal. Managua, Nicaragua. 71 p.