



“Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de graduación

Manejo de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en
frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)
almacenado utilizando *Beauveria bassiana*
(Bals y Vuill), Managua, Nicaragua 2016

Autor:

Br. Xochilt Jurielka Gutiérrez Jirón

Asesor:

Ing. Nicolás Valle Gómez, MSc.

**Managua, Nicaragua
2016**



"Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible"

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de graduación

Manejo de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en
frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)
almacenado utilizando *Beauveria bassiana*
(Bals y Vuill), Managua, Nicaragua 2016

Autor:

Br. Xochilt Jurielka Gutiérrez Jirón

Asesor:

Ing. Nicolás Valle Gómez, MSc.

**Presentado ante el honorable tribunal examinador
como requisito al grado de ingeniero agrónomo.**

**Managua, Nicaragua
2016**

INDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	<i>i</i>
AGRADECIMIENTO	<i>ii</i>
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	<i>iv</i>
INDICE DE ANEXOS	<i>v</i>
RESUMEN	<i>vi</i>
ABSTRACT	<i>vii</i>
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MATERIALES Y METODOS	4
3.1 Ubicación del experimento	4
3.2 Estimación de la concentración de las conidios	4
3.3 Aplicación de <i>Beauveria bassiana</i> para el manejo del gorgojo del frijol	
<i>A. obtectus</i> en una prueba de patogenicidad	5
3.4 Tratamientos evaluados	6
3.5 Técnica experimental	7
3.5.1 Preparación del grano del frijol para los tratamientos	7
3.5.2 Cría masiva del gorgojo de frijol <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say)	7
3.5.3 Preparación previa de los insectos para la infección	8
3.5.4 Formulación y dosis del hongo usado en los tratamientos	8
3.5.5 Unidades experimentales	8
3.5.6 Prueba de germinación	9
3.6 Variables evaluadas y análisis de datos	9
3.6.1 Mortalidad de los insectos	9
3.6.2 Porcentaje de pérdida de peso final del frijol	9

IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	10
4.1	Prueba de patogenicidad	10
4.2	Mortalidad	11
	a) Porcentaje de mortalidad en los tratamientos	11
	b) Comportamiento de la mortalidad de <i>Acanthoscelides obtectus</i> en el tiempo	12
4.3	Pérdida de peso	14
4.4	Prueba de germinación	16
V	CONCLUSIONES	17
VI	RECOMENDACIONES	18
VII	LITERATURA CITADA	19
VIII	ANEXOS	21

DEDICATORIA

La búsqueda de mi superación por fin ha llegado, lográndolo a través del esfuerzo constante, la voluntad y el dominio de mi mente, teniendo estos valores he considerado que soy una luchadora de la vida. Puedo manifestar que esta inspiración y sacrificio de esta obra fue posible a diferentes personalidades que a mucha honra se las dedico:

A Dios:

Por ayudarme a proyectar mi mente, los conocimientos necesarios, la fuerza de voluntad y sabiduría, por guiarme llevándome por el sendero de la victoria para poder culminar esta obra.

A mi Familia:

A mi adorable Madre Rubenia Jirón Martínez, por ser ese pilar fuerte, que me ha apoyado en todo momento, por ser mi inspiración y mayor motivación de superación.

A mi Hermano Charlie Gutiérrez Jirón, por creer en mí.

A mi esposo Douglas Treminio por confiar en mí, apoyarme y estar conmigo cuando más lo he necesitado.

A mis amigos que siempre estuvieron ahí motivándome y apoyándome en todo momento.

Br. Xochilt Jurielka Gutiérrez Jirón

AGRADECIMIENTO

Al poder culminar mi carrera de Ingeniería en Sistemas de Protección Agrícola y Forestal, puedo manifestar mis más sinceros agradecimientos a:

Al Ing. Nicolás Valle, por la aceptación inicial y realización del presente trabajo como consejero principal. Por su confianza brindada en el área de trabajo y por su apoyo en los aspectos personales espero reciba mi gratitud y amistad imperecedera.

Al Dr. Ulises Blandón, por su valiosa contribución, el apoyo decidido, la dedicación, esfuerzo y aportes brindados para la culminación de mi trabajo.

Al laboratorio de hongos entomopatógenos y al profesor Víctor Monzón por su apoyo.

Br. Xochilt Jurielka Gutiérrez Jirón

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Tratamientos evaluados	7
2. Prueba de patógenidad	10
3. Análisis de varianza de los tratamientos evaluados de mortalidad	11
4. Porcentaje de pérdida de peso	14

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Conteo de conidios en cámara de Neubauer.	4
2. Comportamiento de la mortalidad de <i>Acanthoscelides Obtetus</i> en el tiempo	12
3. Prueba de germinación	16

INDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1. Materiales y equipo utilizado	22
2. Figura de la prueba de patogenicidad	23
3. Figura de la limpieza de los granos	23
4. Figura del peso del hongo	23
5. Figura del peso de los tratamientos	23
6. Figura de la mezcla del hongo con los tratamientos	23
7. Figura de la toma de datos	23
8. Figura de los tratamientos evaluados	23
9. Figura de la prueba de germinación de los tratamientos	23

RESUMEN

Con el propósito de evaluar el efecto de *Beauveria bassiana* sobre el control del gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus*, se realizó un estudio en el Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria, del 7 de mayo al 10 de julio del 2014. El estudio inicio con una concentración de conidios para determinar la concentración de inocuo a utilizar en las pruebas de patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Acanthoscelides obtectus*, la prueba de patogenicidad indica que el hongo evaluado es patogénico contra *A. obtectus* en todas la formulaciones usadas, aunque la mayor mortalidad la produjo el polvo seco, los tratamientos evaluados del experimento consintió de dos factores el factor A Ambiente (con ventilación y sin ventilación) y el factor B Momento de aplicación (antes y después de la infestación) con sus respectivos testigos, se hizo una preparación previa de la masa de grana a utilizar eliminándose los frijoles dañados o sospechosos de estar infectados con gorgojos, se utilizó una población de gorgojos de frijol procedentes del mismo lugar para establecer la cría masiva que sería utilizada en el experimento, se desinfectaron los insectos para evitar otro tipo de infección, la formulación se aplicó en una sola dosis de *Beauveria bassiana* para todo los tratamientos, también se realizó una prueba de germinación de los frijoles tratados con el propósito de demostrar si había alguna afectación del entomopatógeno en las semillas de frijol. En el experimento central el tratamiento que mejor respuesta presento fue el Sin Ventilación después de la Infestación, con una mortalidad de 86.43%, el tratamiento con mayor pérdida de peso fue el testigo con un 3.88% y la prueba de germinación indico que no hubo afectación del hongo en la viabilidad del grano usado en el experimento donde fue puesta a una prueba de cámara húmeda obteniendo resultados positivos en las que la germinación fue del 100%.

Palabras claves: Frijol, *Acanthoscelides*, *Beauveria*.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of *Beauveria bassiana* on the control of bean beetle *Acanthoscelides obtectus*, a study was carried out at the Laboratory of Entomopathogenic Mushrooms of the National Agrarian University from 7 May to 10 July 2014. The study With a concentration of conidia to determine the concentration of innocuous to be used in the pathogenicity tests of *Beauveria bassiana* on *Acanthoscelides obtetus*, the pathogenicity test indicates that the fungus evaluated is pathogenic against *A. obtectus* in all the formulations used, although the higher mortality The dry powder was produced, the evaluated treatments of the experiment consented of two factors factor A (with ventilation and without ventilation) and factor B Time of application (before and after infestation) with their respective controls, a preparation was made Prior to the mass of beans to be used to remove beans damaged or suspected of being infected with weevils, a population of bean beetles was used from the same place to establish the mass rearing that would be used in the experiment, insects were disinfected to avoid Another type of infection, the formulation was applied in a single dose of *Beauveria bassiana* for all treatments, a germination test of the treated beans was also carried out with the purpose of demonstrating if there was any involvement of the entomopathogen in the bean seeds. In the central experiment the treatment that presented the best response was the No Ventilation after Infestation, with a mortality of 86.43%, the treatment with the greatest weight loss was the control with 3.88% and the germination test indicated that there was no affectation of the fungus in the viability of the grain used in the experiment where it was put to a wet chamber test obtaining positive results in which the germination was of 100%.

Keywords: Common bean, *Acanthoscelides*, *Beauveria*.

I. INTRODUCCION

La producción de frijol en Nicaragua se caracteriza por ser una actividad importante de pequeños productores en diferentes zonas del país. El grano se ha cultivado históricamente en función de la dieta alimenticia básica del nicaragüense, por lo tanto, es una de las principales fuentes de proteínas, con un alto contenido de hierro, elemento vital para el buen desarrollo cerebral, por cada 100 gramos, hay 20 de proteínas, 5.8 de grasa y más de 3 de fibra (Ulloa *et al.*, 2011).

Esta actividad toma cada día mayor relevancia en la economía nacional, debido al crecimiento que registra en las exportaciones. Pero el rubro sigue enfrentando problemas, por la falta de financiamiento, poca tecnología y altos costos que perjudican a los productores. El 91 % de los que lo cultivan lo hacen en áreas de una a tres manzanas, generando muchos recursos y trabajo (Álvarez, 2009).

Las plagas son factores limitantes de la producción del frijol ya que pueden atacar todo los órganos de la planta durante la etapa de crecimiento y reproducción, causando daños directamente en la fase vegetativa (23 días -3.5 semanas) aparecen gallina ciegas (*Phyllophaga spp*), babosas (*Sarasinula plebeia*), mosca blanca (*Bemisia tabaci*), pulgones (*Myzus persicae*), minadores (*Liriomyza spp*), en la fase reproductiva (54 días - 7.5 semanas) el gorgojos, apareciendo estos igual en el almacenamiento (IICA, 2010).

El almacenamiento de los granos básicos es una tarea de gran importancia para los pequeños, medianos y grandes productores, presentando esta uno de los problemas más importantes de la producción agrícola. La pérdida más sentida de los granos se presenta durante el almacenamiento (Schneider, 1992).

Uno de los problemas que enfrenta el agricultor es el daño causado por los agentes biológicos durante el almacenamiento de frijol, las plagas que atacan en su almacenamiento tienen gran importancia económica para cualquier país. De éstas, los insectos son el principal causante, ocasionando pérdidas cuantiosas debido a que deterioran directa e indirectamente el producto o le dan mal aspecto, volviéndolo inaceptable para consumo humano, la especie que causa mayor daño al grano de frijol almacenado es *Acanthoscelides obtectus* comúnmente llamado

"gorgojo del frijol", perteneciente al orden Coleóptera y a la familia *Bruchidae*. Estas se originaron en Sur América y están ampliamente distribuidas desde Chile hasta los Estados Unidos (Schoonhoven *et al.*, 1988).

Esta plaga es muy perjudicial dado que se reproduce tanto en campo como en almacén. Las larvas se alimentan de la semilla, siendo observable el daño cuando practica el orificio de salida del adulto. En almacén sus daños son más importantes que en campo, al deteriorar el grano ya almacenado reduciendo su peso, calidad y disponibilidad para consumo humano. Todo este daño obliga a los agricultores a vender la cosecha rápidamente, incluso en épocas en que la oferta es alta y los precios son muy bajos en el mercado, estas afectaciones suponen un destrío automático de la producción al observar más del 10% de semillas con el insecto u orificio de salida (Bermejo, 2011).

Históricamente, el tratamiento convencional más usado para combatir los insectos de almacén ha sido el fosfuro de aluminio que actúa como fumigante. Sin embargo, su uso se ha prohibido en nuestro país por su toxicidad y peligrosidad, sumada a su vez la mala manipulación de los pequeños agricultores, poniendo en riesgo tanto su salud como la sanidad ambiental (Martínez, 2008).

Es aquí donde surge la necesidad de encontrar tratamientos alternativos contra plagas de almacén, dentro de las cuales resaltan los hongos entomopatógenos.

Beauveria bassiana pertenece al reino fungi, división ascomycota, clase sordariomycetes, orden hipocreales, familia clavicipitaceae, genero beauveria. Es un hongo ascomiceto mitospórico que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno lo hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscardina. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida o bioplaguicidas controlando un gran número de insecto en las plantas (Brenes, 1992).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar el efecto de *Beauveria bassiana* en el control de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol común (*Phaseolus vulgaris*) almacenado.

2.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol común almacenado en dos ambientes y dos momentos de aplicación.

Evaluar la interacción de dos ambientes (con o sin ventilación) y dos momentos de aplicación sobre el efecto del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* en el control de *Acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol común almacenado.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del experimento

El experimento se estableció el 7 de mayo y terminó el 10 de junio del 2014 y se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Nacional Agraria, en el Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Departamento de Protección Agrícola y Forestal, ubicado en el kilómetro 12 ½ carretera norte del departamento de Managua con coordenadas geográficas de 12°08'36'' latitud norte, 86°09'49'' latitud oeste con una elevación de 56 msnm.

3.2 Estimación de la concentración de conidios

Para determinar la concentración del inóculo se utilizó la metodología empleada por (Mancillas 2011) en las pruebas de patogenicidad se preparó una suspensión de conidios, se colocó una cantidad de agua destilada estéril de 200 ml con un gramo del hongo *B. bassiana*, para su mayor dispersión se agregaron 3 gotas de tween, esta concentración se utilizó en los métodos de sumersión y aspersion.

Se colocó 1 ml de la suspensión de conidios en la cámara de Neubauer. Los conidios se contabilizaron específicamente en el cuadro principal central (Figura 1).

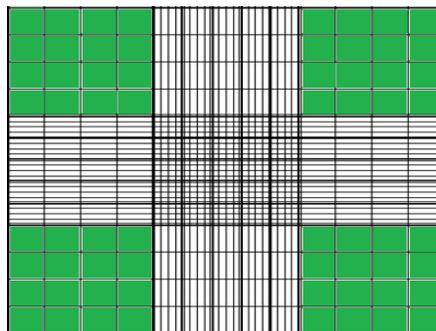


Figura 1. Conteo de conidios en cámara de Neubauer.

Una vez tomadas las lecturas, la concentración de conidios se determinó mediante la siguiente ecuación según Ames y Cañedo (2004).

Número de esporas/ml= $10,000 (x/4)$. En donde X= total de conidios contadas.

Donde el resultado de concentración fue de 1×10^{11} .

3.3 Aplicación de *Beauveria bassiana* para el manejo del gorgojo del frijol *A. obtectus*, en una prueba de patogenicidad

Para realizar esta prueba se utilizó el método sugerido por (Ames y Cañedo 2004), donde se colectaron 200 insectos adultos de *A. obtectus* del Laboratorio de Entomología para la prueba de patogenicidad del hongo *B. bassiana* cepa 114 a una concentración de 1×10^{11} conidios/mililitro de agua. De los cuales, 50 insectos fueron utilizados para cada método de aplicación del hongo. Estos son el método de sumersión (Consistió en sumergir los gorgojos de frijol en 10 ml de agua estéril con *B. bassiana* por 30 segundos), de aspersion (Se colocaron los insectos en platos Petri siendo rociados por agua destilada en combinación de *B. bassiana*) y de espolvoreo (se colocaron los insectos en platos Petri y se les aplico el hongo *B. bassiana* directamente en polvo), de igual forma se utilizarán 50 insectos para el testigo sin aplicación del hongo.

Posteriormente, estos insectos fueron trasladados al Laboratorio de Hongos Entomopatógenos donde se realizó la prueba de patogenicidad.

En el caso de los métodos de sumersión y aspersion se tuvieron que desinfectar los insectos para evitar que pudieran ser focos de otras infecciones no deseadas.

Los insectos fueron desinfectados con cloro al 2% y se pasaron por agua destilada estéril, se expusieron al hongo previamente mezclado usando la concentración de 1×10^{11} en los métodos de sumersión y aspersion.

- a) Método de sumersión, consistió en preparar una solución acuosa de 1×10^{11} conidios/ml del hongo para luego sumergir 50 adultos de *A. obtectus* por 30 segundos.
- b) Método de aspersión de *B. bassiana* a una concentración de 1×10^{11} conidios/ml a 50 adultos de *A. obtectus*.
- c) Método de espolvoreo, consiste en utilizar *B. bassiana* en polvo, se colocaron 50 adultos de *A. obtectus* en una concentración de 1 gramo del hongo hasta que se estén completamente cubiertos.
- d) Para el testigo también se colocarán 50 adultos de *A. obtectus* sin ninguna aplicación del hongo.

3.4 Tratamientos evaluados

Los tratamientos evaluados fueron arreglados en un experimento bifactorial. El factor A (ambiente) con dos niveles: (a1) ambiente con ventilación y (a2) ambiente sin ventilación. Esto último se hizo para determinar si la presencia o ausencia de oxígeno incide en la mortalidad de los insectos. El factor B Momento de aplicación del hongo *Beauveria bassiana* consistió de tres niveles: (b1) aplicación del hongo antes de la infestación del frijol con los gorgojos, (b2) aplicación del hongo después de la infestación con los gorgojos, (b3) testigo sin aplicación. Esto para ver cuál de las dos modalidades resultaba más eficaz en cuanto al manejo de los gorgojos.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados.

Factor A (ambientes)	Factor B (momento de aplicación)	Tratamientos resultado de la combinación del FA más el FB
a1 con ventilación	b1 aplicación antes de la infestación	a1b1 con ventilación
	b2 aplicación después de la infestación	a1b2 con ventilación
	b3 testigo	a1b3 con ventilación
a2 sin ventilación	b1 aplicación antes de la infestación	a2b1 sin ventilación
	b2 aplicación después de la infestación	a2b2 sin ventilación
	b3 testigo	a2b3 sin ventilación

3.5 Técnica experimental

3.5.1 Preparación del grano de frijol para los tratamientos

Previo al establecimiento del experimento se examinó 100 libras de frijol a utilizar, eliminándose manualmente los granos de frijol dañado y/o sospechoso de estar infestados con gorgojos.

3.5.2. Cría masiva del gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say)

La cría se estableció el día 3 de marzo del 2014, en las instalaciones de la Universidad Nacional Agraria, en el laboratorio de Entomología del Departamento de Protección Agrícola y Forestal, ubicado en el kilómetro 12½ carretera norte del departamento de Managua.

Siguiendo la metodología de (Morales 1999). Se utilizó una población de gorgojos del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say), procedentes del municipio de Muelle de los Bueyes (RAAS). Para el establecimiento de la cría masiva se utilizaron recipientes plásticos con capacidad de 3 litros con tapa de rosca y boca ancha. El alimento de los insectos consistió de una dieta única de frijol sin tratar, el que ocupó ¼ de la capacidad total del recipiente.

En cada frasco se colocaron 100 insectos provenientes del mismo origen, para poder obtener aproximadamente el doble de insectos, manteniendo por dos meses la cría de los insectos.

3.5.3 Preparación previa de los insectos para la infestación

Para la colecta de insectos se utilizó un aspirador manual y se prepararon lotes de 20 insectos cada uno. Luego se procedió a la desinfección de los insectos donde se realizó de la siguiente manera: fueron puestos en una malla fina para evitar que se escaparan y fueron sumergidos en cloro al 2% durante 20 segundos, luego fueron pasados 3 veces por agua destilada y fueron secados colocándolos sobre papel toalla (Murad *et al.*, 2006).

Posteriormente los insectos fueron depositados en los frascos de los tratamientos a infestarse antes del tratamiento con hongo y el testigo. Para el caso de los tratamientos antes de la infestación, los insectos fueron colocados después de aplicado el hongo.

3.5.4 Formulación y dosis del hongo usado en los tratamientos

El hongo *Beauveria bassiana* se aplicó en una sola dosis para todos los tratamientos la cantidad de 20 g de hongo formulado como polvo seco.

3.5.5 Unidades experimentales

Las unidades experimentales consistieron de frascos plásticos transparente con tapas de roscas y de capacidad de 1.300 g de frijol. Para crear el ambiente con ventilación se abrió a la tapa de los frascos respectivos una ventana cuadrada de 2 cm de diámetro, en la parte interior se colocó un trozo cuadrado de malla fijada con silicona para evitar la fuga de los insectos.

3.5.6 Prueba de germinación

Esta prueba fue realizada con el propósito de demostrar si había alguna afectación del entomopatógeno en las semillas de frijol, se utilizaron 320 semillas, tomando 10 semillas de cada uno de las repeticiones, obteniendo así la cantidad antes dicha, las cuales fueron sometidos a una prueba de germinación en cámara húmeda simulándola con platos Petri y papel toalla siendo humedecido se colocaron las semillas de frijol y luego fueron sellados, obteniendo resultados positivos.

3.6 Variables evaluadas

3.6.1 Mortalidad de los insectos

Para determinar el porcentaje de mortalidad se inició contando los gorgojos muertos 72 horas después de haber iniciado el experimento y se continuó cada 24 horas. Se realizó el conteo a los 3, 4, 5, 6,7 días después de la infestación en cada uno de los tratamientos. Los insectos muertos fueron depositados en platos Petri (cámara húmeda).

3.6.2 Porcentaje de pérdida de peso de frijol

Para determinar el porcentaje de pérdida de peso final se procedió a pesar cada muestra de 1300 gramos de cada tratamiento al final del ensayo.

3.7 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante Análisis de varianzas y Pruebas de separación de medias bajo un modelo aditivo lineal completamente aleatorio BCA con arreglo bifactorial.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Prueba de patogenicidad

Cuadro 2. Prueba de patogenicidad utilizando cuatro métodos de aplicación del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre adultos del gorgojo de frijol (*Acanthoscelides obtectus*).

El cuadro 2 muestra los resultados obtenidos de la prueba de patogenicidad de los diferentes métodos de aplicación de *B. bassiana*. Según las evaluaciones realizadas a cada tratamiento, el que ejerce mayor efecto es el tratamiento de polvo seco, que tuvo como resultado el 100% de mortalidad que fueron los evaluados es aquí donde se decidió realizar el experimento con este tratamiento.

Tratamientos	Numero de insectos evaluados:	1 Evaluación Muertos: 24horas	2 Evaluación Muertos: 48 horas	3 Evaluación Muertos: 72 horas	Porcentaje de efectividad
T1 Sumersión	50	8 muertos	5 muertos	2 muertos	30%
T2 Aspersión	50	6 muertos	10 muertos	4 muertos	40%
T3 Polvo seco	50	34 muertos	16 muertos	0 muertos	100%
T4 Testigo	50	0 muertos	0 muertos	0 muertos	0%

La prueba de patogenicidad indica que el hongo *B. bassiana* fue eficaz contra *Acanthoscelides obtectus*. El hongo *B. bassiana* se menciona activo sobre muchos coleópteros. Las esporas del hongo entran en contacto con la cutícula del insecto susceptible, germinando, formando y produciendo un micelio que crece encima de la cutícula que penetra en el interior del cuerpo del hospedero (Tecnologías Naturales Internacional 2014). Monzón (2014)¹ menciona que la cepa 114 del hongo *Beauveria bassiana*, actúa contra varias especies de insectos de las familia curculionidae y en otras familias dentro del orden coleóptera por lo tanto este resultado es parcialmente coincidente con lo obtenido con Sánchez (2008) y Camargo (2000), los cuales comprobaron que *B. bassiana* demostró potencial para infectar y matar al insecto en cualquier

fase de su ciclo biológico no produce el efecto inmediato, pero una vez establecido en un ambiente dado, puede sobrevivir, desarrollarse y seguir infectando a los insectos.

4.2 Mortalidad

a) Porcentaje de mortalidad en los tratamientos.

Las pruebas de mortalidad indicaron que los mejores tratamientos respecto a la mortalidad fueron sin ventilación antes de la infestación (SVAI) con un 84.29 % y sin ventilación después de la infestación (SVDI) con un 86.43%. No se observaron diferencias significativas entre estos dos tratamientos. Los otros dos tratamientos con ventilación después de la infestación (CVDI) y con ventilación antes de la infestación (CVAI) tuvieron porcentajes de mortalidad similares 77.00% y 77.43% respectivamente. No se observaron diferencias significativas en estos dos tratamientos. Sin embargo se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos con ventilación y sin ventilación.

Cuadro 3. Análisis de varianza de los tratamientos evaluados de mortalidad.

Cuadro 3. Mortalidad del gorgojo de frijol *Acanthoscelides obtectus* bajo diferentes tratamientos en granos almacenados de frijol. CVDI (con ventilación después de la infestación), CVAI (con ventilación antes de la infestación), SVAI (sin ventilación antes de la infestación), SVDI (sin ventilación después de la infestación), TEST (testigo).

b) Porcentaje de mortalidad a través del tiempo.

Tratamientos	Medias
CVDI	77.00
CVAI	77.43
SVAI	84.29
SVDI	86.43
TESTIGO	0

La Figura 2 muestra la dinámica de la mortalidad en la medida que transcurrió el tiempo. A mayor tiempo de exposición la mortalidad se incrementó obteniéndose un 100% de mortalidad en la quinta y última evaluación en todo los tratamientos.

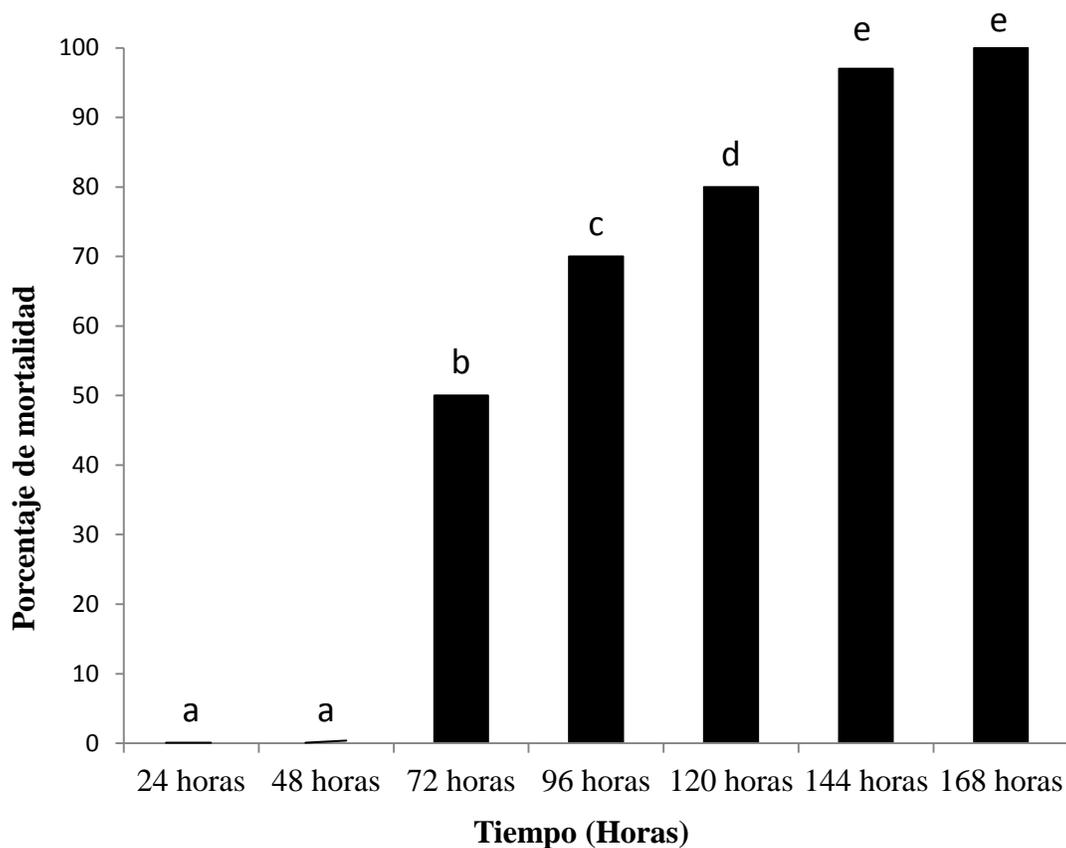


Figura 2. Comportamiento de la mortalidad de *Acanthoscelides obtectus* en el tiempo.

Los resultados de este trabajo son similares, a los obtenidos por Camargo (2000) que tuvo una mortalidad mayor del 90% a los cinco días de la aplicación con una dosis de 1×10^9 conidio g^{-1} de la cepa Bb4A. Pérez (1997) obtuvo una mortalidad de 100% al quinto día de la aplicación del bioinsecticida Naturalis-L (*Beauveria bassiana*) con una concentración de 2.3×10^7 conidias/ml.

Los tratamientos SVDI, SVAI, CVDI, CVAI, tuvieron efecto de control sobre el insecto en la primera evaluación (Figura 2) a las 72 horas; donde en los tratamientos en que se aplica el hongo fue menor la población de *Acanthoscelides obtectus*, sin embargo, con el tratamiento SVDI se obtuvo mas gorgojos muertos (86.43 %), con este tratamiento se logró mejorar el control de *Acanthoscelide obtectus* hasta 162 horas después de la aplicación del tratamiento, probablemente el insecto al estar expuesto a un ambiente sin aire disminuye su potencial para respirar ya que el hongo tiene mayor movilidad por el frasco. En términos generales se observó que en los diferentes tratamientos contra *Acanthoscelides obtectus* el hongo *Beauveria bassiana* logró un control biológico significativo del insecto.

En las primeras tomas de datos a las 24 y 48 horas no se muestra significancia alguna entre los tratamientos debido a que el hongo inicia su eficacia a las 72 horas promedio, para lograr penetrar a la cutícula de su hospedero de esta manera lograr invadir la hemolinfa y empezar hacer efecto sobre él; por lo que en este trabajo se observó que a las 72 horas de establecido el experimento a medida que el tiempo avanzaba la mortalidad aumenta.

4.3 Pérdida de peso

La prueba de pérdida de peso indicó que los tratamientos con mayor pérdida fue el testigo con un 3.88%, sin ventilación después de la infestación (SVDI) con un 1.71% y con ventilación después de la infestación (CVDI) con un 1.70% siendo similares y no se observa diferencia significativa entre estos dos tratamientos. Los otros dos tratamientos con ventilación antes de la infestación (CVAI) y sin ventilación antes de la infestación (SVAI) tuvieron porcentaje de pérdida de peso de 1.28% y 1.14% respectivamente observándose diferencias significativas en estos dos tratamientos. Se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo.

Cuadro 4. Porcentaje de pérdida de peso.

Cuadro 4. Porcentaje de pérdida de peso ocasionado por el gorgojo del frijol (*Acanthoscelides obtectus*) bajo diferentes tratamientos en granos almacenados de frijol. CVDI (con ventilación después de la infestación), CVAI (con ventilación antes de la infestación), SVAI (sin ventilación antes de la infestación), SVDI (sin ventilación después de la infestación).

Tratamiento	Medias
SVAI	1.14
CVAI	1.28
CVDI	1.70
SVDI	1.71
Testigo	3.88

)

Los datos obtenidos son similares a los de Morales (1999) el testigo fue el que obtuvo la mayor pérdida de peso final con 40.00%. Al analizar los datos estadísticos la pérdida de peso se manifestó de la siguiente manera, los tratamientos SVAI (1.14%), CVAI (1.28%), CVDI (1.70%), SVDI (1.71%), Testigo (3.88%), siendo evaluados cinco días. Hay diferencia significativas entre los tratamientos y el testigo (cuadro 4), sin embargo las diferencias numéricas son relativamente muy pequeñas, debido a que el periodo de evaluación fue corto (5 días), lo que no permitió que la acción de los gorgojos se manifestara en todo su potencial, las afectaciones fueron mayores en el testigo ya que en el mismo los gorgojos no fueron controlados.

4.4 Prueba de germinación

Esta prueba es muy importante para evaluar el posible efecto del tratamiento con el hongo sobre la viabilidad cuando el grano almacenado de frijol se use como semilla. Esta prueba fue realizada con el propósito de demostrar si había alguna afectación del entomopatógeno, en las semillas de frijol, en las que se pudo demostrar que el hongo *Beauveria bassiana* no tiene efecto negativo en las semillas, las cuales fueron puestas a una prueba de germinación en modo de cámara húmeda obteniendo resultados positivos en las que la germinación fue del 100 %. Los datos de la prueba se exhiben en la Figura 3.

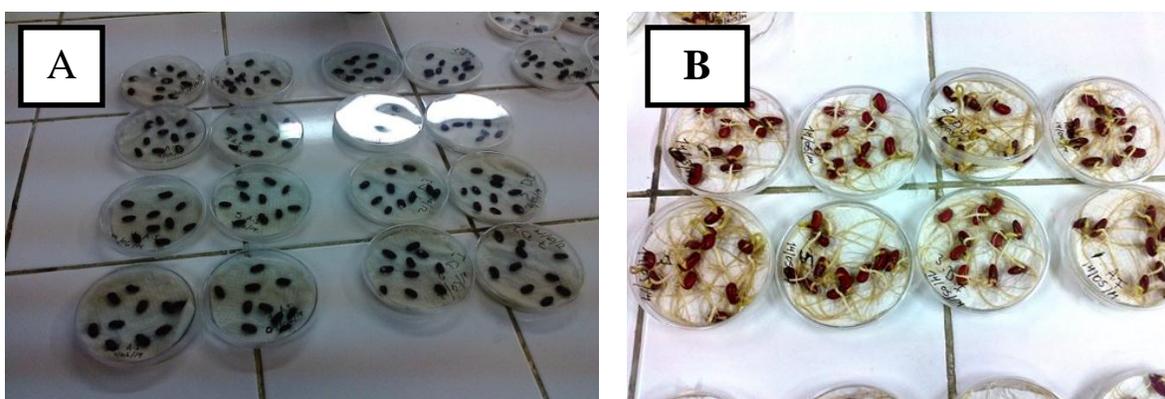


figura 3. Prueba de germinación.

Los resultados de esta prueba indican que no hubo afectación del hongo en la viabilidad del grano usado en el experimento. Es usual que a nivel de pequeños y medianos productores se guarde una cantidad del grano cosechado para ser usado como semilla en el ciclo agrícola venidero. Por esta razón y debido a algunos mitos que se dan en el gremio de pequeños y medianos productores, hicimos esta prueba para evidenciar que el hongo usado no afecta la germinación (Figura 3).

V. CONCLUSIONES

1. *Beauveria bassiana* es efectivo contra *Acanthoscelides obtectus*, produciendo la muerte de los adultos sometidos a esta prueba.
2. La mortalidad de los insectos es más alta cuando el hongo es aplicado en ambientes sin ventilación (sin entrada de oxígeno), y la mortalidad aumenta con el transcurso del tiempo en un rango de 5 días evaluados.
3. La aplicación del hongo no afecta la viabilidad de la semilla de frijol, por lo cual este hongo se perfila como un buen tratamiento para preservar cantidades relativamente pequeñas de granos para ser usadas como semilla.
4. La interacción de los ambientes influye mucho, ya que se pudo determinar que el factor sin ventilación la mortalidad se produjo más rápido debido a que no había la interacción con el oxígeno.
5. La pérdida de peso nos indicó que el tratamiento con mayor pérdida fue el testigo debido a que no hubo control de *Acanthoscelides obtecrus* (say).

VI. RECOMENDACIONES

1. Aplicar *Beauveria bassiana* en granos almacenados de frijol que sean utilizados como semillas.
2. Realizar más estudios con este hongo y la misma cepa para conocer su efectividad contra otras plagas de granos almacenados.

VII. LITERATURA CITADA

- Ames E, Cañedo T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima, Perú; Centro Internacional de la papa (CIP), Lima, Perú, 62p.
- Álvarez Gustavo, 2009. El frijol hace germinar la economía. El Nuevo Diario. 2 Marzo 2009 10p.
- Bermejo, J. 2011. Agrológica (en línea). ES, consultado 27 jun. 2014. Disponible en:<http://www.agrologica.es/informacion-plaga/gorgojo-judia-acanthoscelides-obtectus/>
- Brenes, S.G. 1993. Efecto de diferentes aislados del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. Sobre *Cosmopolites sordidus* (Chevrolet) Germar (Col:Curculionidae). Tesis Lic. Ing. Agr. Turrialba, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 1993.
- IICA.2010. Plagas de frijol en Centroamérica (Guía de identificación y manejo integrado). Managua, IICA/Proyecto Red SICTTA. Cooperación Suiza en América Central. 48p.
- Mancillas, J, 2011, Características de secreción de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliar* con actividad patogénica contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides Obtectus*. Tesis.Msc. Recursos Naturales y Medio Ambiente. Universidad Politécnica Nacional, Sinaloa, México, 71p.
- Martínez M, Ibarra E. 2008. Pastilla del amor se vuelve delictiva. El Nuevo diario. 5 Abril 2008 p 11.
- Morales, C, 1999. Evaluación de productos naturales para el manejo de gorgojo de frijol (*Acanthoscelides obtectus*) y el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* M). Tesis. Ing. Agr. Universidad Nacional Agraria, Facultad de agronomía. Managua, Ni. 48p.

- Murad A., Laumann, R., Mehta, A., Noronha, E. y Franco O. 2007. Screening and secretomic analysis of enthomopatogenic *Beauveria bassiana* isolates in response to cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) exoskeleton. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 145: 333-338.
- Sánchez, E. 2008. Reactivación, evaluación y formulación de *Beauveria bassiana* (Bals) y vuill y *Metarhizium anisopliae* (Metchs) Sor. Contra *Acanthoscelides obtectus* (Say). Tesis. Ing. Agr. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología. Michoacán, MX 78p.
- Schneider, K. 1992. Postcosecha de granos básicos. Folleto. Programa Regional Postcosecha, COSUDE. Managua, Nicaragua.
- Schoonhoven, A. Van., Cardona, C. y García, J. 1988 Principales insectos que atacan el grano almacenado y su control; guía de estudio para ser utilizada como complemento de la unidad audiovisual sobre el mismo tema. 3 ed. Cali, Colombia. CIAT. 48 p.
- Tecnologías Naturales internacional. 2014. Micotrol^{MR}ES. SNT. (En línea). Consultado el 10 de febrero del 2015. Disponible en <http://www.bactiva.com/index.php/ru/tecnologias/226-bioinsectisida>.
- Ulloa, J A, Rosas U, P, Ramírez R, J, C, Ulloa R, B, E, 2011. El frijol (*Phaseolus Vulgaris*): Su importancia y como fuente de fotoquímicas. *Revista Fuente* Año 3 No.8 Julio-Septiembre2011 (México).

ANEXOS

Anexo 1. Materiales y equipo utilizado

Hongo *Beauveria bassiana*

- 32 gramos de *Beauveria bassiana*.
- 608 gramos de arcilla.

Gorgojos

- 640 gorgojos *Acanthoscelides obtectus* (Say).

Desinfectante

- Cloro al 2%.
- Agua destilada.

Recipientes plásticos

- 32 recipientes plásticos.
- 4 recipientes plásticos para las crías
- 1/2 metro de tela de malla.

Grano de frijol

- 160 libras de frijol.

Otros varios

- Balanza eléctrica.
- 2 bandejas plásticas.
- 32 platos Petri 1 por muestra para la ubicación de los insectos muertos.
- Guantes.
- Mascarillas.
- Gabacha.

Anexo 2. Equipo utilizado para los tratamientos en el proceso experimental



Foto 1. Prueba de patogenicidad.



Foto 2. Limpieza de los granos.



Foto 3. Peso del hongo.



Foto 4. Peso de los tratamientos.



Foto 5. Mezcla del hongo con los tratamientos.



Foto 6. Toma de datos.



Foto 7. Tratamientos evaluados.



Foto 8. Prueba de germinación de los tratamientos.