



“Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible”

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

## Trabajo de graduación

### Efecto de hongos entomopatógenos sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis* Delong y Wolcott: Hemíptera-Cicadellidae)

#### Autores

**Br. Justyn Raquel Flores Suarez**

**Br. Karla Yassin Guillen Lechado**

#### Asesores

**MSc. Víctor Ramón Monzón R**

**PhD. Arnulfo José Monzón C**

**Managua, Nicaragua Marzo, 2017**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la Decanatura en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria como requisito parcial para optar al título profesional de:

**INGENIERO EN SISTEMA DE PROTECCIÓN AGRÍCOLA Y FORESTAL**

Miembro del Tribunal Examinador:

MSc. Víctor Gandino Díaz  
Presidente

MSc. Martha Zamora S.  
Secretaria

MSc. Rosario Chavarria  
Vocal

Managua, 16 de Febrero del 2017.



"Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible"

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

## Trabajo de graduación

### Efecto de hongos entomopatógenos sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) Delong y Wolcott: Hemíptera-Cicadellidae

#### Autores

**Br. Justyn Raquel Flores Suarez**

**Br. Karla Yassin Guillen Lechado**

*Presentado a la consideración del honorable tribunal examinador como requisito  
parcial para optar el grado de Ingeniero en sistemas de protección Agrícola y  
Forestal.*

**Managua, Nicaragua Marzo , 2017**

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo de graduación primeramente a **DIOS** por darme la vida, sabiduría y fortaleza para poder culminar mis estudios con éxitos y cobijarme con su manto y protegerme a cada instante.

De una manera especial dedico este trabajo a mi madre **Erlinda Suarez Rivas (q.d.e.d)** por todo el amor, cariño y sabiduría que me brindo siempre y por motivarme a superarme y no dejar de estudiar.

A mi padre **Teodoro Flores Mayrena** por apoyarme todos estos años incondicionalmente y dándome el cariño de padre y de madre a la vez, gracias ya que por ellos y sus enseñanzas soy la mujer que soy.

A mis familiares por apoyarme siempre y alentándome para seguir adelante a pesar de los retos del día a día, y estar en cada momento importante de mi vida, a todos ellos gracias.

Especialmente dedico este trabajo a mi hija **Yeudiel Erlinda Pérez Flores** por ser mi milagro de vida que DIOS me ha regalado y es lo más precioso que tengo.

A todos gracias

*Br. Justyn Raquel Flores Suarez*

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo en especial a **DIOS**, por darme la vida, sabiduría, fortaleza y deseos de superación para concluir mis estudios y llegar hasta donde estoy.

A mi madre **Ana Rosa Lechado Rosales** (q.e.p.d) por ser mi motor y mi ejemplo a seguir.

A mi padre **Juan Carlos Guillén Hernández** por haberme apoyado en mi formación profesional.

A mis **familiares** por su apoyo incondicional que me han brindado en el transcurso de mi carrera y por estar ahí siempre en cada momento importante de mi vida.

*Br. Karla Yassin Guillen Lechado*

## **AGRADECIMIENTO**

Le damos gracias a **DIOS** por la vida que nos ha dado, y por la maravillosa oportunidad de poder culminar nuestros estudios profesionales. A nuestros **padres y demás familiares**, les agradecemos de manera especial a todas las personas que nos apoyaron en este arduo camino, dándonos su apoyo y brindarnos sus conocimientos para guiarnos.

A nuestros asesores; **PhD. Arnulfo Monzón** e Ing. **Víctor Monzón** por ayudarnos a poder realizar cada uno de los procesos de este estudio y por la paciencia que han tenido con nosotras y guiarnos en cada paso.

De igual manera agradecemos al **Ing. Nicolás Valle** que nos ayudó en nuestro proceso desde el protocolo y siempre nos alentó para no darnos por vencida y terminar nuestros estudios.

Agradecemos a todos los que nos apoyaron dando ánimos y consejos para terminar nuestro estudio al **Al Lic. Sergio Orlando Ramírez y el Lic. José Luis Delgado, Lic. Emilio Fajardo.**

Gracias a la vida por habernos conocido y forjar una linda amistad basada en el respeto y cariño mutuo, desinteresado e incondicional, ya que a pesar de haber pasado pruebas con la ayuda de DIOS salimos adelante y más fortalecidas

A todos muchas gracias.

*Justyn Raquel Flores Suarez y Karla Yassin Guillen Lechado*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA .....	i
DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vi
INDICE DE ANEXOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCION .....	1
II.- OBJETIVOS .....	4
2.1 General.....	4
2.2 Específicos .....	4
III. METODOLOGIA .....	5
3.1 Fase de laboratorio .....	5
3.1.2 Colecta <i>D. maidis</i> .....	5
3.1.3 Preparación del ensayo de <i>D. maidis</i> .....	5
3.1.4 Tratamientos evaluados en la etapa de laboratorio .....	6
3.1.5 Variable evaluada.....	6
3.2 Fase de campo .....	7
3.2.1 Ubicación del experimento.....	7
3.2.2 Tratamientos evaluados en la etapa de campo .....	7
3.2.3 Diseño experimental.....	7
3.2.4 Muestreo.....	8
3.2.5 Variable evaluada.....	8

3.2.6 Análisis de datos .....	8
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	9
4.1 Mortalidad y virulencia de hongos entomopatógenos sobre <i>D. maidis</i> en laboratorio .....	9
4.2 Efecto de <i>M. anisopliae</i> , <i>B. bassiana</i> , <i>P. fumosoroseus</i> sobre la densidad de las poblaciones de <i>D. maidis</i> .....	10
4.3 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 8 días después de la siembra.....	12
4.4 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 16 días después de la siembra.....	13
4.5 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> 24 días después de la siembra .....	14
4.6 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 32 días después de la siembra.....	15
4.7 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 40 días después de la siembra.....	16
4.8 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 48 días después de la siembra.....	16
4.9 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 56 días después de la siembra.....	17
4.10 Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 64 días después de la siembra.....	18
V. CONCLUSIONES .....	25
VI. RECOMENDACIONES .....	26
VII. LITERATURA CITADA .....	27
VIII. ANEXOS.....	30



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Descripción de los tratamientos del bioensayo en laboratorio.....	7
2. Tratamientos evaluados en campo .....	8
3. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 8 días después de la siembra.....	13
4. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 16 días después de la siembra.....	13
5. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 24 días después de la siembra.....	15
6. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 32 días después de la siembra.....	16
7. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 40 días después de la siembra.....	16
8. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 48 días después de la siembra.....	17
9. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 56 días después de la siembra.....	18
10. Incidencia poblacional de <i>D. maidis</i> a los 64 días después de la siembra.....	19

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Porcentaje de <i>D. maidis</i> muertos por hongos entomopatógenos en Laboratorio a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación, Laboratorio de Entomología de la UNA 2014.....	10
2. Efecto de los diferentes tratamientos sobre la densidad de las poblaciones de <i>D. maidis</i> en campo experimental CNIA-INTA 2014.....	11

## INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Producción de hongos entomopatógenos.....	30
2. Conteo de conidias para las concentraciones en las aplicaciones de campo.....	32
3. Cuadro de conteo de conidias y concentraciones de hongos utilizadas.....	32
4. Fotografías de los hongos entomopatógenos aislados de especímenes <i>D. maidis</i> colectados en campo del maíz a) <i>M. anisoplae</i> , b) <i>P. fumosoroseus</i> , c) <i>B. bassiana</i> .....	33
5. Aplicación de los tratamientos en el cultivo del maíz para el control de <i>D. maidis</i> .....	34
6. Fotografía a) plantas afectadas por el virus del achaparramiento, b) plantas sanas con el uso de hongos entomopatógenos.....	35
7. Fotografía de <i>D. maidis</i> colonizados por hongos entomopatógeno en cámaras húmedas a) insecto afectado por <i>M. anisoplae</i> , b) insecto colonizado <i>B. bassiana</i> .....	36

## RESUMEN

La chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) es una plaga muy importante en el cultivo del maíz y una de las prácticas de manejo más utilizadas es el control químico, por lo que se hace necesario desarrollar otras opciones de manejo. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de *D. maidis* en el cultivo del maíz. El estudio se realizó en dos fases, una en condiciones de laboratorio y otra en condiciones de campo, realizadas ambas fases en los meses de julio a octubre 2014. En el experimento de campo, además de los tres hongos, se evaluó un insecticida piretroide cipermetrina y una mezcla de aceite más detergente, se utilizó un diseño experimental de bloques completos aleatorizados, con 5 tratamientos y 4 repeticiones. La aplicación de los tratamientos en campo se hizo semanalmente, con bomba de mochila. Los muestreos para determinar la incidencia poblacional de la plaga, se iniciaron 8 días después de la siembra, las variables evaluadas fueron: incidencia poblacional y mortalidad *D. maidis*. En la fase de laboratorio se utilizó un diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos (*P. fumosoroseus*, *B. bassiana* y *M. anisopliae*), tres repeticiones y un testigo para cada una de las repeticiones. Se ubicaron 10 insectos adultos de *D. maidis*, en vasos plásticos con tapas perforadas, por cada repetición, colocando un trozo de hoja de maíz sobre un algodón húmedo en cada vaso. El método de inoculación fue por aspersión, haciendo la aplicación de los hongos el mismo día de la colocación de los insectos, y se realizaron los muestreos a las 24, 48 y 72 horas después de las aplicaciones de los tratamientos. Los testigos fueron tratados con agua destilada. Las variables evaluadas fueron: número o porcentaje de insectos muertos por los hongos y tiempo de mortalidad (virulencia). Los insectos muertos fueron colocados en cámara húmeda para favorecer el crecimiento del hongo. En el experimento de campo, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos y entre fechas de muestreo. En general el tratamiento con mayor eficacia durante las 8 fechas de muestreo fue *Metarhizium anisopliae*. En el bioensayo de laboratorio, en general el tratamiento con mayor eficacia fue *Paecilomyces fumosoroseus*.

**Palabras claves:** *B.bassiana*, *M. anisoplae*, *P.fumosoroseus*, *D. maidis*

## ABSTRACT

*Dalbulus maidis* is a main pest in corn and the most common control method is the use of insecticides. The objective of this research was to evaluate the effect of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the control of *D. maidis* in maize. The study was conducted in two phases, one in laboratory conditions and other in open field, in Managua. Research was carried out from July to October 2014. In field experiment, in addition to the entomopathogenic fungi, a pyrethroid insecticide (cypermethrin) and a mixture of vegetable oil and detergent was evaluated. The experiment was established in a randomized complete block design with 5 treatments and 4 repetitions. Treatment application and sampling was performed weekly, starting 8 days after sowing, the variables evaluated were: population incidence and mortality of insects. In lab experiment, a completely randomized design was used, with three treatments and one control with three replicates. 10 insects were placed in plastic cups with perforated lids for each repetition, placing a piece of maize leaf on a piece of wet cotton in each cup. Spraying method was used for inoculation, treatments were sprayed the same day that insects were placed in the cups. Control consisted in application of distilled water and sampling was done 24, 48 and 88 hours after application. The variables evaluated were: number of dead insects and time of mortality (virulence). Dead insects were placed in a humid chamber to promote fungal growth. In field experiment, significant differences between treatments and between sampling dates were found. Treatment that most controlled *D. maidis* during the 8 sampling dates was *Metarhizium anisopliae*. In lab experiment *Metarhizium anisopliae* was the treatment which presented the highest mortality.

**Keywords:** *B.bassiana*, *M. anisoplae*, *P.fumosoroceus*, *D. maidis*

## I. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays L*) pertenece a la familia de las Poaceae, es una planta anual de crecimiento rápido y con gran capacidad productiva, es el grano básico más importante cultivado en Nicaragua debido a una tendencia creciente por la diversificación de su uso humano, pecuario y en la industria.. El maíz es utilizado como materia prima para la elaboración de productos alimenticios procesados (rosquillas, bebidas, dulces) y para la elaboración de concentrados o alimentos para aves y cerdos. (OPS/OMS, 2003<sup>a</sup>). La producción de maíz en nuestro país la realizan pequeños y medianos productores y está destinada principalmente para el consumo familiar, para el comercio o el consumo interno de nuestro país

Según la FAO 2014, el consumo aparente per cápita es alrededor de 80.51 kilogramos en el área urbana y 127 kilogramos en el área rural, siendo de los mayores consumos del área centroamericana, pues el 95% de la población lo utiliza para consumo humano (IICA, 2014) y para el ciclo 2016-2017 se sembraran 500 mil manzanas entre variedades mejoradas, semillas híbridas y semillas criollas obteniendo un promedio nacional de 9 millones de quintales con un rendimiento de 18 quintales por manzanas y un consumo aparente de 6.6 millones de quintales con un volumen exportado de 95,629.9 quintales.

Sin embargo la productividad por unidad de superficie es baja debido a limitaciones en las que se destacan el uso de variedades criollas, variaciones en las precipitaciones y ataques de plagas y enfermedades entre los que podemos citar los siguientes *Spodoptera frugiperda*, *Diatrea sp*, que son los que más daño causan, luego están los escarabajos que en general son llamados gusanos de las raíces como *Aeolus sp*, *Phyllophaga sp* y barrenador del grano *Prostephanus truncatus*. (IICA, 2014).

La plaga en estudio *Dalbulus maidis* DeLong y Wolcott: Hemíptera-cicadellidae, la chicharrita es el vector que trasmite con eficiencia tres patógenos; el virus del rayado fino del maíz (Marafavirus), el espiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkelli*) y el fitoplasma del maíz. (Ibarra et al 2005). Es una plaga importante en muchas partes de las regiones centrales y pacíficas de América central (Jiménez ,2014).

El daño e importancia económica *D. maidis* es monofago y solo se alimenta sobre representantes del género *Zea mays* y *teosintes*. Afecta al cultivo durante toda la etapa vegetativa. Los adultos y las ninfas chupan la base de las hojas y pueden causar amarillamiento. Tiene gran importancia como vector del virus del achaparramiento y del rayado fino del maíz que pueden causar la pérdida completa del cultivo. (Museo entomológico. León, NI sf).

La severidad del daño depende de lo temprano que ocurra la inoculación (MAG y FAO, 1976; Espinoza et al 1999; Saunders et al 1988). Esta enfermedad fue observada por primera vez en Nicaragua en 1956 en Santa Rosa, Managua, estos patógenos no se pueden transmitir mecánicamente ni por semilla (Cuadra y Maes, 1990)

El mecanismo de transmisión de estos patógenos es circulatorio, los patógenos transmitidos de esta manera, principalmente por hemípteros de la familia cicadellidae necesitan reproducirse dentro del vector (Ibarra, et al 2005). Esto ocurre cuando el insecto se alimenta por un periodo definido en una planta enferma e ingiere junto con la savia las partículas virales, estos propagulos luego pasan a la hemolinfa y se incorporan a las corrientes del aparato circulatorio del insecto, finalmente llegan a las glándulas salivales, salen junto con la saliva y son depositadas en el interior del tejido vegetal (Agrios, 1996, 2<sup>a</sup>).

Solo después del periodo de latencia el vector es capaz de propagar el patógeno a una planta sana. El periodo de latencia para *Marafavirus* y *S. kunkelli* es de 14 días, mientras que para el fitoplasma del maíz es de 25 días (Ibarra et al 2005), estos tres patógenos en conjunto ocasionan la enfermedad conocida como el achaparramiento del maíz y el virus del rayado fino (Jiménez y Rodríguez, 2014).

Los tipos de controles más utilizados por los pequeños y medianos productores para combatir esta plaga son los siguientes:

**Cultural:** establecer la época de siembra es muy importante para el control, la incidencia de *D. maidis* es menor en siembras de primera y postrera, esta última está más expuesta al ataque al igual que el maíz de riego. (Jiménez, 2014)

**Genético:** variedades resistentes como la NB-6 y respetando las fechas de siembra, así como el uso de policultivos maíz-frijol. (Jiménez, 2014).

**Biológico:** A partir del 2007 se reportó la presencia del parasitoide *Gonatopus bartletti* como su principal regulador biológico en el mundo, parasitoides *Zelus sp*, *Cycloneda sanguinea* (Valarezo et al 2009).

**Químico:** tratar las semillas con un producto sistémico como lo es Imidacloprid en dosis de 136 gramos por 30 libras de semilla y hacer aplicaciones foliares con Deltametrina, en vista de las características y hábitos alimenticios del insecto se recomienda usar los insecticidas temprano por la mañana que es cuando la chicharrita tiene menor actividad (IICA, 2014).

Cipermetrina es de acción sobre el sistema nervioso del insecto, siendo un producto efectivo para el control de plagas insectiles como lepidópteros, coleópteros y trips, posee acción por contacto, ingestión e inhalación. Afecta el sistema nervioso central mediante la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa produciendo una acumulación de acetilcolina dando como resultado una sobrestimulación de los músculos seguido de la muerte del insecto (Wikipedia, 2017)

El control del vector con insecticida ha sido el método más común y predominante para proteger el cultivo de la incidencia del achaparramiento. Dependiendo de la época del año se realizan hasta once aplicaciones contra el vector *D. maidis* en un ciclo vegetativo (Cuadra y Maes 1990).

Este uso indiscriminado de plaguicidas en un mismo ciclo vegetativo provoca un círculo vicioso de plaguicidas lo que genera dependencia a los productores a un uso indiscriminado provocando

alteraciones en los ecosistemas y la diversidad ecológica presente en el ecosistema, lo que lleva a la muerte de enemigos naturales de las plagas de interés económico y como consecuencia el resurgimiento de plagas secundarias como plagas principales y la resistencia de las mismas, provocando un incremento en los costos de producción y afectando la economía de los pequeños productores. Por esta razón se realiza este estudio para brindar información del efecto de los hongos entomopatógenos para control de *D. maidis* y fomentar el uso de control biológico en los productores.

El propósito de este estudio es contribuir a la información del uso de hongos entomopatógenos para controlar las densidades poblacionales de *D. maidis* en campo. Los hongos entomopatógenos no son dañinos para el medio ambiente, no afectan los insectos benéficos, no causan resistencia a las plagas por lo que son una opción de manejo sostenible. Por otro lado por tratarse de organismos vivos no dejan residuos tóxicos siendo de mucha ayuda en la agricultura orgánica (Pineda, 2000)

Por esta razón se propone el uso de estos tres géneros de hongos entomopatógenos *Metharizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* (*Isaria fumosoroseus*) para el control de *D. maidis* en campo, como una alternativa de manejo, enfocados en la preservación y cuidado del ambiente sin contaminación

*Beauveria bassiana*: primeros datos fueron emitidos por Agostino Bassi en 1834 cuando demostró que este hongo es el agente causal de la enfermedad en el gusano de seda *Bombix mori* conocida como la muscardina blanca (Carballo y Guharay 2004). Se ha demostrado que *B. bassiana* es eficiente en el control de hemípteros de la familia Aphididae (Humber, 1991) y Aleyrodidae (Salguero, 1993). El primer estudio fue realizado por Ibarra-Aparicio utilizando *B. bassiana* para el control de *D. maidis* (DeLong & Wolcott) bajo condiciones de laboratorio y reporta resultados significativos en la reducción de la población e incidencia del virus del rayado fino del maíz sobre plántulas del maíz (García et al. 2011).

*Metarhizium anisopliae* Metschnikoff Sorokin. Es el agente causal de la muscardina verde y es un patógeno de más de 300 especies de 7 órdenes diferentes de insectos. Los coleópteros son los hospederos más comunes, es el segundo hongo entomopatógenos más ampliamente usado en el control biológico microbial y es el hongo más usado en Latinoamérica para el control de diferentes especies de cercópodos que son plagas en la caña de azúcar (Carballo y Guharay, 2004).

*Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith es un entomopatógenos de amplio rango de hospedero y distribución geográfica, ha sido aislado del suelo y de insectos de diversas familias (Dosantos y Poso, 2003).se ha reportado como mínimo 5 especies de este hongo infectando a 8 especies de insectos diferentes (Alean Carreño, 2003)



## II.- OBJETIVOS

### 2.1 General

- Contribuir al desarrollo de acciones en el manejo biológico de chicharrita del maíz utilizando hongos entomopatógenos

### 2.2 Específicos

- Determinar el efecto de tres hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre la mortalidad de *D. maidis* en laboratorio
- Evaluar el efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre poblacionales de *D. maidis* en el cultivo del maíz en campo

### **III. METODOLOGIA**

Este trabajo se realizó en dos etapas, una fase laboratorio que consistió en determinar la mortalidad de adultos y ninfas de *D. maidis* causada por tres géneros de hongos entomopatógenos y la fase de campo para evaluar el efecto de las aplicaciones de los mismos tres géneros de hongos entomopatógenos sobre las poblaciones de *D. maidis*.

#### **3.1 Fase de laboratorio**

##### **3.1.1 Ubicación del ensayo**

En esta fase se determinó la mortalidad de adultos de *D. maidis* por inoculación de tres géneros de hongos entomopatógenos: *B. bassiana*, *M. anisoplae* y *P. fumosoroseus*.

El bioensayo se realizó en el mes de julio del año 2014 en el laboratorio de producción de hongos entomopatógenos, del departamento de protección agrícola y forestal de la Universidad Nacional Agraria, ubicada en el km 12 y medio carretera norte con coordenadas geográficas de 12°08'36" latitud norte y 86°09'49" longitud oeste, con una altitud de 56 msnm.

##### **3.1.2 Colecta *Dalbulus maidis***

La colecta se realizó en plantaciones de maíz establecidos en los campos experimentales del CNIA-INTA. Utilizando un aspirador bucal se utilizó este método por que los insectos son de hábitos volador y su tamaño es pequeño para poder utilizar una red entomológica.

##### **3.1.3 Preparación del ensayo de *Dalbulus maidis***

Para evitar que los especímenes recolectados en el campo de maíz del CNIA-INTA vinieran contaminados, se desinfectaron con cloro al 2% y después se sumergieron en agua destilada.

El inóculo utilizado para los tratamientos fue obtenido de los géneros de hongos entomopatógenos de la colección del cepario del laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la UNA. Se preparó una disolución en serie, utilizamos agua destilada con tween 80 al 0.1%, se colocó 1 ml en la cámara de conteo Neubauer con una micro pipeta de Pasteur, luego con el microscopio observamos y realizamos el conteo de conidias. La concentración de conidias fue de  $1.2 \times 10^7$  conidias/gramo. Se pesó un gramo de cultivo puro de cada uno de los géneros de hongos y se diluyó en 200 ml de agua destilada y se procedió a la aspersión de cada unidad experimental.

Se estableció un diseño completo al azar, los tratamientos fueron los tres géneros de hongos entomopatógenos antes mencionados con tres repeticiones cada uno, 10 adultos de *D. maidis* por cada repetición, para una unidad experimental de 30 insectos de *D. maidis* por tratamiento y un testigo absoluto con aplicación de agua destilada con la misma unidad experimental.

Se registró la temperatura y humedad relativa del laboratorio como medida de control con promedios de 24°C a 28°C y 80-85%HR. El área se desinfectó con alcohol al 75% la mesa de trabajo y los vasos de plásticos de 10 cm de alto con tapaderas.

Los vasos plásticos transparentes utilizados se perforaron las tapas para brindar entradas de oxígeno, se colocaron los 10 espécimen en cada uno de ellos, con un pedazo de hoja tierna de maíz y un algodón humedecido para brindarles condiciones favorables.

La concentración de los hongos utilizada para la aspersión manual fue de  $1.2 \times 10^7$  conidias/gramo, al testigo solo se aplicó agua estéril. La variable evaluada fue la mortalidad de *D. maidis* a las 24, 48 y 72 horas después de inoculación cuantificando por el porcentaje de insectos muertos. Los insectos muertos fueron colocados en cámara húmeda y se observaron con el estereoscopio para observar las estructuras del hongo, se seleccionaron los insectos con mejor crecimiento micelial con el objetivo de aislar el hongo y producir cultivo puro para las aplicaciones en la etapa de campo.

### 3.1.4 Tratamientos evaluados en la etapa de laboratorio

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos del bioensayo en laboratorio

Experimento	Tratamientos	Repetición
1	Cepa 114 <i>B.bassiana</i>	3
2	Cepa monte rosa <i>M. Anisopliae</i>	3
3	Cepa Mb <i>P. fumosoroseus</i>	3
4	testigo	3

### 3.1.5 Variable evaluada

- Mortalidad de *D. maidis* a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación

### 3.2 Fase de Campo

La fase de campo consistió en la evaluación de tres géneros de hongos entomopatógenos sobre las poblaciones de *D. maidis*. Para fines de comparación se evaluó opciones alternativas de manejo propuestas por el CNIA-INTA en colaboración al estudio como lo son la mezcla de detergente más aceite y el piretroide cipermetrina.

#### 3.2.1 Ubicación del experimento

Se realizó en las áreas del Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (CNIA-INTA) del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria, ubicada en el kilómetro 13 carretera norte en las coordenadas de 12°07'55.17" N Y 86°08'53.77" O con una altitud de 68 msnm.

#### 3.2.2 Tratamientos evaluados en la etapa de campo

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en campo.

Experimento	Tratamientos
1	Cepa 114 <i>B. bassiana</i>
2	Cepa monte rosa <i>M. anisoplae</i>
3	Cepa Mb <i>P. fumosoroseus</i>
4	Aceite mas detergente
5	Cipermetrina

#### 3.2.3 Diseño experimental

El diseño fue en bloques completos al azar (BCA), se estableció cuatro bloques con cinco tratamientos, la unidad experimental consistió en una parcela de 100 m<sup>2</sup> con aproximadamente 500 plantas de maíz cada, en total el área experimental fue de 2000 m<sup>2</sup>, se azarizó cada una de las parcelas y se rotularon con los nombres de los tratamientos.

La preparación del suelo fue mecanizada con dos pases de grada y un pase de arado. La variedad de maíz utilizada fue INTA-sequia amarillo, la distancia de siembra fueron las siguientes; 0.5m entre surco y 0.2 entre planta para una densidad poblacional de 20000 plantas en todo el experimento, el

manejo de malezas fue manual con azadón a los 25 y 45 días después de la siembra. La fertilización al momento de la siembra con completo 12-30-10 (90kg/ha) y a los 35 días después de la siembra fertilización nitrogenada con urea al 46%, el sistema de riego fue por aspersión debido a los problemas en la variabilidad climatológica provocada por el fenómeno del niño.

Las aplicaciones se realizaron semanalmente cada 8 días, la dosis aplicada de los hongos entomopatógenos fue de 200 gr/ha a una concentración de  $1.2 \times 10^{12}$  conidias/ha, aceite mas detergente (100 ml más 70gr/ha) y cipermetrina 100 ml/ha.

### **3.2.4 Muestreo**

El método de Muestreo fue visual en el que tomaron 10 plantas al azar en cada parcela, para un total de 200 plantas, para contabilizar los adultos de *D. maidis* que se podían observar y colocarlos en las hojas de registro, se contabilizaban el total de chicharritas encontradas y se dividió entre número de plantas muestreadas para sacar el promedio de *D. maidis* por planta y tratamiento.

Los muestreos se realizaron por la mañana, el primer muestreo se realizó a los 8 días después de la siembra sin ninguna aplicación de tratamientos con el objetivo de conocer el nivel poblacional de *D. maidis* existente en el lugar donde el umbral de acción de *D. maidis* fue de 0.7 insectos por planta, por esta razón se determinó realizar las aplicaciones calendarizadas cada 8 días y valorar la densidad poblacional de *D. maidis* vivos en campo, el último muestreo se realizó hasta los 64 días después de la siembra para registrar el nivel poblacional de la plaga ya que el periodo crítico del cultivo esta entre los 40-60 días después de la siembra.

### **3.2.5 Variable evaluada**

- Incidencia de *D. maidis* desde los 8 días después de la siembra hasta los 64 días después de la siembra.

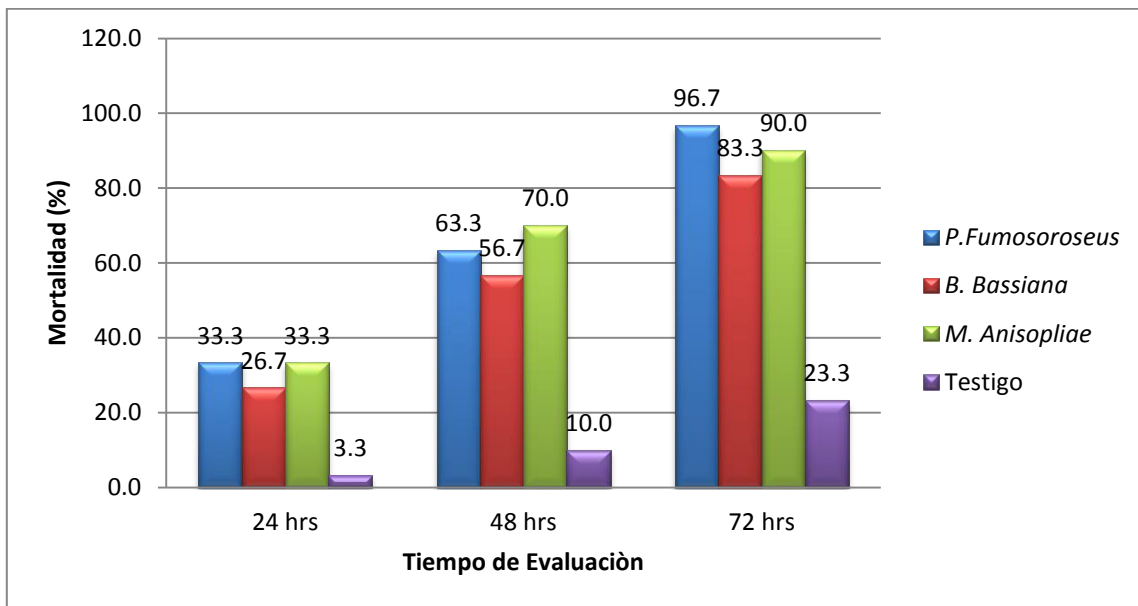
### **3.2.6 Análisis de datos**

Los datos obtenidos en el ensayo en la etapa de laboratorio fueron descriptivos. Los datos de campo fueron tabulados y se analizaron con el sistema SAS. Los datos se transformaron mediante  $\sqrt{y \pm 0.5}$ , se hizo un análisis de varianzas de medias repetidas, debido a que la interacción; fecha\*tratamiento resulto significativa se realizó un ANDEVA por cada fecha de muestreo con sus separaciones de medias por Tukey ( $\alpha:0.05$ ).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Mortalidad y virulencia de hongos entomopatógenos sobre *D. maidis* en laboratorio

En este estudio se encontró que los adultos de *D. maidis* fueron infectados por los tres géneros de hongos entomopatógenos en estudio. Se observó un mayor porcentaje de mortalidad acumulada producido por el género *P. fumosoroseus* con un porcentaje acumulado de 169.24% con un promedio de 3.3 insectos por día, seguido de *M. Anisopliae* con un promedio 163.33% con 3.0 insectos muertos por día y *B. bassiana* con un promedio 129.12 % con 2.6 insectos muertos por día. Los tres hongos alcanzaron la mayor mortalidad de chicharrita a las 72 horas después de la inoculación. (Figura 1).



**Figura 1.** Porcentaje de *D. maidis* muerto por hongos entomopatógenos en laboratorio a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación, Laboratorio de Entomología de la UNA 2014.

En la figura 1 se observa a las 24 horas que los hongos que causaron mayor mortalidad fueron *P. fumosoroseus* y *M. anisopliae* ambos con un porcentaje de 33 %, seguido de *B. bassiana* con un 26 %, el porcentaje de mortalidad en el testigo fue mínimo de un 3.3 %.

En las 48 horas la cepa *M. anisopliae* mato significativamente a los adultos de *D. maidis* con un promedio de 70% en comparación a los otros hongos en menor tiempo la mayoría de los insectos, *P. fumosoroseus* se mantuvo a un rango alto en mortalidad de un 63 % y el testigo con el menor porcentaje de mortalidad.

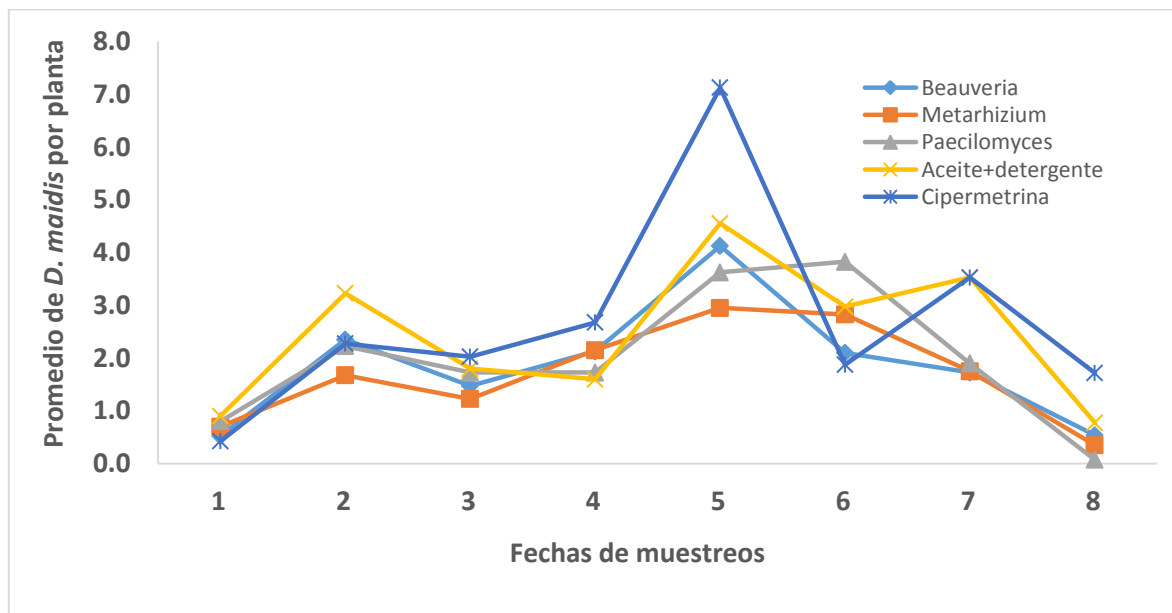
Otros estudios demuestran que en la etapa de laboratorio *M. anisopliae* produjo el mayor porcentaje de mortalidad (40%), esta cepa mato significativamente más rápido a los adultos de *D. maidis* y presento la mejor esporulación a los tres días (Ibarra- Aparicio, 2005).

Al cumplir las 72 horas *P. fumosoroseus* obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad con un 96.7 %, seguido de *M. anisopliae* con 90% y *B. bassiana* con 83.3%, se mantuvo a un rango similar de mortalidad con los otros dos hongos.

La mortalidad de *D. maidis* en el testigo fueron bajas, los insectos muertos se colocaron en cámaras húmedas para observar que si la mortalidad fue de causa natural o causada por contaminación de los tratamientos aplicados y en el estereoscopio se observó que no hubo crecimiento ni esporulación característico de los tres géneros de hongos entomopatógenos en estudio, su muerte se debió por aplastamiento por la fragilidad de su cuerpo y al estar en contacto con el agua se pudrieron.

## Fase de campo

### 4.2 Efecto de *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* sobre la densidad de las poblaciones de *D. maidis*



**Figura 2.** Efecto de los diferentes tratamientos sobre la densidad de las poblaciones de *D. maidis* en el cultivo del maíz campo experimental de CNIA-INTA

Según el grafico el tratamiento en el cual se obtuvo el mayor índice poblacional y que tuvo menor eficacia sobre la plaga, fue el tratamiento de Cipermetrina como se puede observar durante 5 fechas de muestreos. Seguido del tratamiento Aceite + Detergente. Estos tratamientos mencionados no

ejercen un control significativo comparado con el efecto de los hongos entomopatógenos sobre la plaga.

Se puede observar de igual manera que el tratamiento que ejerció mayor eficacia sobre la plaga fue el hongo *M. anisopliae* manteniéndose constante durante casi todas las fechas de muestreo, seguido del hongo *B. bassiana* y *P. fumosoroceus*, por lo tanto con este grafico se puede demostrar la viabilidad de usar hongos entomopatógenos sobre el control de *D. maidis*, ya que mantuvieron bajas las poblaciones de dicha plaga en la mayoría de los muestreos y por lo tanto son más confiables de usar que un químico como Cipermetrina tanto por su efectividad así como por no causar efecto nocivo al medio ambiente.

Los meses estacionales en que las dinámicas poblacional de *D. maidis* fue más activa se comprendió entre los meses de septiembre y octubre en el estado vegetativo de las planta, debido a las condiciones de temperaturas altas debido a la variabilidad climática ejercida por el fenómeno meteorológico conocido como el niño que provoca sequias, el mayor pico de abundancia transcurre entre los 40 días y 48 días después de la siembra (ver figura 2).

El análisis de medidas repetidas realizado indica que existe diferencia significativa entre tratamientos (P: 0.001), y también se encontraron diferencias significativas entre fechas de muestreo (P 0.001). Además, se encontró que la interacción tratamientos\*fecha también es significativa, lo que indica que los efectos principales no son independientes entre sí, es decir que el efecto del tratamiento sobre la población de *D. maidis*, depende de la fecha. Estudios señalan que época en donde las poblaciones de *D. maidis* son altas están comprendidas entre el 15 de Julio al 7 de Septiembre y del 1 de Diciembre al 10 de Enero (Croz, 2013)

La incidencia de *D. maidis* fue relativamente alta, en el mes de septiembre, la cual se observó a los 40 días después de la siembra con un promedio de 7.12 *D. maidis* por planta y a los 48 días después de la siembra con un promedio de 3.82 insectos por planta. A los 8 días después de la siembra se observó la menor población de la plaga con un promedio de 0.42 *D. maidis* por planta que corresponde a mediados del mes de agosto y a los 64 días después de la siembra con un promedio de 0.07 *D. maidis* por planta que corresponde a inicio de octubre.



Por tal razón se procedió a realizar un ANDEVA y separación de medias (Tukey,  $\alpha$ : 0.05) para cada fecha de muestreo para realizar las comparaciones entre tratamientos en cada una de las fechas. Según los resultados de las separaciones de medias (Tukey,  $\alpha$ : 0.05), el tratamiento que mostró tener mayor efectividad es *M. anisopliae*, seguido por *B. bassiana* y el tratamiento que tuvo menor efectividad sobre la plaga fue Cipermetrina.

### 4.3 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 8 días después de la siembra

En esta fecha se realizó el primer muestreo a los 8 días después de la siembra del maíz con la finalidad de saber la densidad poblacional existente dando como resultado un promedio de 0,7 *D. maidis* por planta, donde el umbral de acción es de 0.1 insectos por planta , por tal razón se planificaron las aplicaciones calendarizadas y se tomó la variable de insectos vivos para los muestreos e ir determinando las densidades poblacionales en cada muestreo, que se realizaron cada 8 días antes de cada aplicación de los tratamientos.

**Cuadro 3.** Incidencia poblacional de *D. maidis* 8 días después de la siembra.

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio (Insectos/planta)</b>	<b>Categoría</b>
Aceite + Detergente	0.900	A
<i>P. fumosoroseus</i>	0.800	A
<i>M. anisopliae</i>	0.700	A
<i>B. bassiana</i>	0.525	A
Cipermetrina	0.425	A

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

Se observa que las poblaciones de *D. maidis* en este campo experimental son altas de acorde al umbral de acción, llegando a un extremo de 0.9 *D. maidis* por plantas y un mínimo de 0.5 insectos, donde el umbral de acción es de 0.1 insecto por planta.

#### 4.4 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 16 días después de la siembra

En esta fecha se observó un aumento en la población de la plaga, ya que esta prefiere alimentarse de las hojas tiernas que por lo general comienzan a emerger en toda la primera semana después de la siembra. Este fue el primer muestreo que se realizó después de la aplicación de los tratamientos por lo cual se puede estimar el efecto que tuvieron los tratamientos en la densidad poblacional inicial de la *D. maidis*

**Cuadro 4.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 16 días después de la siembra

Tratamiento	Promedio (Insecto/ planta)	Categoría
Aceite+Detergente	3.2250	A
<i>B. bassiana</i>	2.3500	A
Cipermetrina	2.2750	A
<i>P. fumosoroseus</i>	2.2250	A
<i>M. anisopliae</i>	1.6750	A

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

Se puede observar que en comparación con la densidad poblacional de la primera fecha de aplicación los niveles poblacionales de *D. maidis* disminuyeron pasando de un promedio superior de 0.9 insectos por planta a una menor incidencia registrada en el tratamiento *M. anisopliae*, con un promedio de 1.67 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *P. fumosoroceus* con un promedio de 2.22 *D. maidis* por planta. El mayor nivel poblacional de *D. maidis* se observó en el tratamiento aceite + detergente con un promedio de 3.22 *D. maidis* por planta. Esto muestra la efectividad que tienen los hongos en el control de chicharrita, comparado con el tratamiento aceite + detergente ya que se puede observar que no tuvo efecto alguno sobre la plaga. Aunque se observa que según las separaciones de media de Tukey no se observan diferencias estadísticas pero si significativas, antes de cada aplicación se realizaron los muestreos para conocer el efecto de la aplicación anterior.

#### 4.5 Incidencia poblacional de *D. maidis* 24 días después de la siembra

En esta fecha se observó una disminución de los niveles poblacionales de la plaga.

**Cuadro 5.** Incidencia poblacional de *D. maidis* 24 días después de la siembra.

Tratamiento	Promedio (Insectos/planta)	Categoría
Cipermetrina	2.02	A
Aceite+Detergente	1.80	A B
<i>P. fumosoroseus</i>	1.72	A B
<i>B. bassiana</i>	1.47	A B
<i>M. anisopliae</i>	1.22	B

El análisis realizado demuestra que si existe diferencia estadística entre tratamientos. La menor incidencia de la plaga se observó en el tratamiento *M. anisopliae* con un promedio de 1.22 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *B. bassiana* con un promedio de 1.47 *D. maidis* por planta. El mayor nivel poblacional se observó en el tratamiento Cipermetrina con un promedio de 2.02 *D. maidis* por planta. Esto demuestra la efectividad de *M. anisopliae* y de *B. bassiana* sobre chicharrita, en cambio con el químico Cipermetrina se pudo observar que no es tan efectivo para dicha plaga.

En esta fecha de aplicación los hongos entomopatógenos tuvieron un mejor efecto sobre el vector *Dalbulus maidis* por presentar temperaturas medias entre los 25-30°C, condición que favorece el establecimiento de los hongos e intervalos de nube y sol (Pronóstico de accuWeather, 2014)

Estudios realizados indican que *B. bassiana* presenta un alto nivel de colonización y un porcentaje elevado de mortalidad desde los 6-15 días después de ser inoculado ( Padin, 1994)

#### 4.6 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 32 días después de la siembra

Aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, la menor incidencia significativa de la plaga se observó en el tratamiento Aceite + detergente con un promedio de 1.60 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *P. fumosoroseus* con un promedio de 1.72 *D. maidis* por planta. La mayor población se observó en el tratamiento Cipermetrina que tuvo un promedio de 2.67 *D. maidis* por planta. Este resultado se debió a que la aplicación de los hongos se lavó por las lluvias que cayó por la tarde después de las aplicación de los tratamientos a las 5 de la tarde, en fechas anteriores se comprobó la efectividad de estos hongos sobre chicharrita, en cambio en el químico Cipermetrina se sigue manteniendo con un menor efecto sobre la plaga.

**Cuadro 6.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 32 días después de la siembra.

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio (Insectos/planta)</b>	<b>Categoría</b>
Cipermetrina	2.6750	A
<i>M. anisopliae</i>	2.1500	A
<i>B. bassiana</i>	2.1250	A
<i>P. fumosoroseus</i>	1.7250	A
Aceite + Detergente	1.6000	A

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

El tratamiento de cipermetrina al ser un piretroide de amplio espectro de contacto, ingestión e inhalación los productores lo utilizan con frecuencia en cada ocasión que observan algún trips, salta hojas en sus cultivos. El uso irracional de este mismo genera que la plaga *D. maidis* genere resistencia a la dosificaciones que se usan y esta resistencia es pasada a su progenie, lo que lleva a un aumento de la dosis de aplicación del mismo por la presencia de la plaga para poder ejercer efecto, creando un desequilibrio en el ecosistema y las plagas.

#### 4.7 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 40 días después de la siembra

En esta fecha la población de chicharrita aumentó significativamente, a como se puede observar en los datos, esto se debió a las lluvias que lavaron las aplicaciones de los tratamientos que inhibió el efecto de estos, en comparación con cipermetrina que en su presentación posee un antiadherente para ser más efectivo en los insectos.

**Cuadro 7.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 40 días después de la siembra

Tratamiento	Promedio (Insectos/planta)	Categoría
Cipermetrina	7.12	A
Aceite+Detergente	4.55	A B
<i>B. bassiana</i>	4.12	A B
<i>P. fumosoroseus</i>	3.62	A B
<i>M. anisopliae</i>	2.95	B

(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)

Según los datos se encontraron diferencia estadística entre tratamientos. La menor incidencia de la plaga se observó en el tratamiento *M. anisopliae* el cual tuvo un promedio de 2.95 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *P. fumosoroceus* con un promedio de 3.62 *D. maidis* por planta. La mayor población se presentó en el tratamiento Cipermetrina con un promedio de 7.12 *D. maidis* por planta. Este resultado demuestra la efectividad de dichos hongos entomopatógenos sobre *D. maidis*, y el menor efecto en Cipermetrina por ser un insecticida ampliamente y recurrentemente usado para plagas insectiles entre ellas trips, coleópteros, la plaga genera resistencia a las concentraciones de aplicación.

#### 4.8 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 48 días después de la siembra

En esta fecha la población de la plaga comienza a disminuir nuevamente, pero se sigue manteniendo en niveles altos en comparación con el umbral permitido de 0.1 insecto por planta, se observaron en algunas plantas del tratamiento Aceite+Detergente, síntomas de achaparramiento.

**Cuadro 8.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 48 días después de la siembra

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio</b>	<b>Categoría</b>
	<b>(Insectos/planta)</b>	
<i>P. fumosoroseus</i>	3.8250	A
Aceite + Detergente	2.9750	A
<i>M. anisopliae</i>	2.8250	A
<i>B. bassiana</i>	2.1000	A
Cipermetrina	1.8750	A

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

El análisis realizado indico que no existe diferencia estadística entre tratamientos. La menor incidencia de esta plaga se observó en el tratamiento Cipermetrina con un promedio de 1.87 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *Beauveria bassiana* con un promedio de 2.10 *D. maidis* por planta. El mayor índice poblacional se encontró en el tratamiento *Paecilomyces fumosoroceus* que tuvo un promedio de 3.82 *D. maidis* por planta

En la actualidad se considera que la cutícula de los insectos tiene una función más activa ya que desde la epidermis secretan moléculas que actúan de manera específica inhibiendo los mecanismos de infección de los entomopatógenos, se ha reportado que en la cutícula se da la producción de proteasas, peptidasas anti fúngicas inhibidores de proteasas fúngicas que podían tener un papel importante en la infección de los hongos entomopatógenos hacia la plaga (Terrez A, 2009)

#### **4.9 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 56 días después de la siembra**

En esta fecha los niveles poblacionales de chicharrita disminuyeron, demostrando el efecto de los hongos entomopatógenos sobre dicha plaga. Al aumentar las aplicaciones las fuentes de inóculos en campo van aumentando de forma natural y se establecen en las plantaciones.

**Cuadro 9.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 56 días después de la siembra

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio</b> <b>(Insectos/ planta)</b>	<b>Categoría</b>
Cipermetrina	3.6500	A
Aceite + Detergente	3.5250	A
<i>P. fumosoroseus</i>	1.9000	A
<i>M. anisopliae</i>	1.7500	A
<i>B. bassiana</i>	1.7250	A

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

Según el análisis realizado no existe diferencia estadística, esto no implica que haya un control producto de los tratamientos. Pero se puede observar que la menor incidencia de esta plaga se observó en el tratamiento *B. bassiana* con un promedio de 1.72 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *M. anisopliae* con un promedio de 1.75 *D. maidis* por planta. El mayor índice poblacional se encontró en el tratamiento Cipermetrina que tuvo un promedio de 3.65 *D. maidis* por planta. Esto muestra la efectividad de los tratamientos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, sobre *D. maidis* y que el tratamiento Cipermetrina tiene el menor efecto sobre la plaga por ser un insecticida de amplio espectro que los productores utilizan de manera cotidiana, los insectos crean resistencia y estas son pasadas a su progenie, por esta razón el control en las densidades poblaciones que resurgen es menor como se observó en esta fecha de muestreo.

#### **4.10 Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 64 días después de la siembra**

Esta fecha fue el último muestreo en lo cual se puede observar que disminuyó los niveles de chicharrita, y también se observó en las plantas del tratamiento Aceite+Detergente y Cipermetrina síntomas del virus del achaparramiento e impedimento de su desarrollo.

**Cuadro 10.** Incidencia poblacional de *D. maidis* a los 64 días después de la siembra

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio</b> <b>(Insectos/ planta)</b>	<b>Categoría</b>
Cipermetrina	1.67	A
Aceite+ Detergente	0.77	B
<i>B. bassiana</i>	0.52	B C
<i>M. anisopliae</i>	0.35	B C
<i>P. fumosoroseus</i>	0.07	C

**(Tukey,  $\alpha$ : 0.05)**

El análisis realizado indica que existe diferencia estadística entre tratamiento. La menor incidencia de la plaga se encontró en el tratamiento *P. fumosoroceus* con un promedio de 0.07 *D. maidis* por planta, seguido por el tratamiento *M. anisopliae* 0.35 *D. maidis* por planta. La mayor población de *D. maidis* se observó en el tratamiento Cipermetrina que tuvo un promedio de 1.67 *D. maidis* por planta. Este resultado demuestra que los hongos entomopatógenos fueron más efectivos en el control de *D. maidis* que el tratamiento Cipermetrina que se mantuvo en casi todas las fechas anteriores como el que tuvo menor eficacia sobre dicha plaga.

Según estudios realizados indican que a patogenicidad de *Paecilomyces fumosoroseus* causa una mortalidad del 80% entre los 8 y 15 días después de ser inoculados (A.V Toledo, 2004) y al realizar aplicaciones calendarizadas de los entomopatógenos la fuente de inóculo existente en el lugar aumentan.



### Análisis de Varianza 8 días después de la siembra

Variable dependiente: a (Raíz cuadrada de x + 0.5)					
Fuente	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
Tratamientos	4	0.12469496	0.03117374	2.34	0.1142
Bloque	3	0.15353694	0.05117898	3.84	0.0388
Error	12	0.15995621	0.01332968		
Total	19	0.43818811			

$R^2$ : 0.6349

CV: 10.775

### 16 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					
Fuente	GL	Suma de C.	Cuadrado Medio	F value	Pr > F
Trat	4	0.42395524	0.10598881	2.23	0.1267
Bloque	3	0.59421678	0.19807226	4.17	0.0308
Error	12	0.57023815	0.04751985		
Total	19	1.58841017			
	R. Cuadrado	Coef. var			
	0.641001	13.09641			

### 24 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					
Fuente	GL	Type I SS	Cuadrado Medio	F value	Pr > F
Trat	4	0.18849939	0.04712485	3.37	0.0456
Bloque	3	0.26146817	0.08715606	6.23	0.0085
<b>Error</b>	<b>12</b>	0.16784125	0.01398677		
<b>Total</b>	<b>19</b>	0.61780881			
	<b>R. Cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.728328	8.124227			

### 32 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					
Fuente	GL	Type I SS	Cuadrado Medio	F value	Pr >F
Trat	4	0.30515570	0.07628893	1.63	0.2293
Bloque	3	0.59350128	0.19783376	4.24	0.0293
<b>Error</b>	<b>12</b>	0.56012229	0.04667686		
<b>Total</b>	<b>19</b>	1.45877927			
	<b>R. Cuadrado</b>	<b>Coef. var</b>			
	0.616034	13.71338			

### 40 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>Type I SS</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Trat	4	2.00787831	0.50196958	3.63	0.0369
Bloque	3	1.99359628	0.66453209	4.80	0.0202
<b>Error</b>	<b>12</b>	1.66085663	0.13840472		
<b>Total</b>	<b>19</b>	5.66233123			
	<b>R. Cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.706683	17.17520			

**48 días después de la siembra**

<b>Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)</b>					
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>Type I SS</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Trat	4	0.58598316	0.14649579	1.31	0.3207
Bloque	3	0.50708895	0.16902965	1.51	0.2614
<b>Error</b>	<b>12</b>	1.34053885	0.11171157		
<b>Total</b>	<b>19</b>	2.43361096			
	<b>R. Cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.449156	18.98830			

56 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					
Fuente	GL	Type I SS	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Trat	4	1.19943395	0.29985849	3.61	0.0375
Bloque	3	0.84249235	0.28083078	3.38	0.0544
<b>Error</b>	<b>12</b>	0.99790971	0.08315914		
<b>Total</b>	<b>19</b>	3.03983602			
	<b>R. Cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.671723	17.05781			

64 días después de la siembra

Variable Dependiente: a (Raíz cuadrada de x +0.5)					
Fuente	GL		Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Trat	4	1.17333722	0.29333431	26.35	0.001
Bloque	3	0.10475316	0.03491772	3.14	0.0654
<b>Error</b>	<b>12</b>	0.13358449	0.01113204		
<b>Total</b>	<b>19</b>	1.41167487			
	<b>R. cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.905372	10.01706			

## Medidas repetidas

<b>Variable Dependiente: a (Raiz cuadrada de x + 0.5)</b>					
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>Suma de C.</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>F. value</b>	<b>Pr.&gt; F</b>
Trat	4	1.82236024	0.45559006	6.57	0.001
Bloque	3	2.38171087	0.79390362	11.44	0.001
Trat*Bloque(error a)	12	0.97544860	0.08128738	1.17	0.313
Fec	7	18.83325801	2.69046543	38.78	0.001
Trat*Fec	28	4.18657770	0.14952063	2.16	0.002
<b>Error</b>	<b>105</b>	7.28454202	0.06937659		
<b>Total</b>	<b>159</b>	35.48389744	0.14952063		
	<b>R. cuadrado</b>	<b>Coef var</b>			
	0.794709	16.94222			

## V. CONCLUSIONES

- En condiciones de laboratorio los hongos entomopatógenos utilizados resultaron patogénicos y virulentos causando mortalidad a partir de las 24 horas después de ser inoculados en *D. maidis* siendo *P. fumosoroseus* el que presentó los mejores resultados.
- Todos los hongos entomopatógenos utilizados tuvieron un efecto significativo sobre la plaga en campo,
- el tratamiento que presentó mayor efecto en campo fue el hongo *M. anisopliae* seguido por *B.bassiana*,

## VI. RECOMENDACIONES

- Usar el hongo entomopatógeno *M. anisopliae* para el manejo de *D. maidis* en el cultivo del maíz y alternando con los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*.
- Seguir evaluando estas alternativas de control biológico sobre *D. maidis*, en la etapa susceptible del maíz que es los primeros 40 días después de la siembra en las principales zonas productoras de maíz con diferentes condiciones ambientales.
- Realizar muestreos de mortalidad de *D. maidis* en campo a los 3-5 días después de las aplicaciones.

## VII. LITERATURA CITADA

- Alean Carreño I. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus Socialis* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Microbiología Agrícola y Veterinaria. Bogotá, D. C. Colombia. pp 116.
- A.V Toledo; A.C Scorsetti 2004. *Paecilomyces fumosoroseus* y *Nomuraceae Rileyi* (Deuteromycotina Hypoomycetes) hongos patógenos de insectos plagas de la agricultura en Argentina ISSN0373-580, Bol.soc.Argent.bot 39
- Cañedo V., Ames T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. pp 62.
- Carballo, M.; Guharay, F. 2004. Control biológico de plagas agrícolas, 1era ed, Managua: CATIE, 232p
- Chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*), museo entomológico, servicio entomológico autónomo, A.P 527, León, Nicaragua
- Cuadra, P.; Maes, J, M. 1990. Problemas asociados al muestreo de *Dalbulus maidis* Delong y Wolcott en Maíz en Nicaragua. Rev. Nica. Ent. 13:29-55 p.
- Dos Santos, R. A. y Del Pozo, N. M, 2003. Alternativa para el manejo de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood en tomate orgánico en Uruguay. Boletín Sanidad Vegetal 29. 211-218.
- García, G. M. A.; Cappello, G. S.; Leshner, G. J. M.; Molina, M. R. F. 2011. Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Horizonte Sanitario 10:21-28.
- Humber, R.A. 1991. Fungal pathogens of aphids. *In*: Proceedings Aphid-plant interactions: Populations to Molecules, Oklahoma EUA. p. 45-56.



- Ibarra, G.; Moya, G.; Berlanga, A. 2005. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* Sobre la Chicharrita del Maíz (*Dalbulus Maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemíptera: Cicadellidae). *Folia Entomol. Mex.*, 44 (1): 1-6p.
- IICA (Instituto de Interamericana de Cooperación para la Agricultura). (2014). Guía técnica del cultivo del maíz. El Salvador, San Salvador. 42 p.
- IICA, Red SICTA, Cooperación Suiza en América Central. 2014. Cadenas de valor de maíz blanco y frijol en Centroamérica. San José. 127 p.
- Jiménez, M, Salvador E, 20014 insectos plagas/de cultivos de Nicaragua/EDGARDO Jiménez Martínez, Rodríguez, O. 1ª Ed, Managua: UNA, p 226.
- Jiménez, E.; Rodríguez, O. 2014. Insectos plagas de cultivos en Nicaragua 1 era ed, Managua: UNA, 226 p.
- MAG-FOR (ministerio agropecuario y forestal); FAO (organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación) 1976. Guía de control integrado de plagas de maíz, sorgo y frijol. Proyecto control integrado de plagas, Managua, NI 47pp.
- Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). P 95-103. Consultado 24 nov. 2015. Disponible en: <http://www.bionica.info/biblioteca/Monzon2001HongoEntomopatogenos.pd>
- OPM/OMS (organización panamericana de la salud) 2003<sup>a</sup>. Cultivemos maíz con menos riesgos, grafica editores, Managua, Nicaragua, 39p.
- Pucheta, M, Torres, M, Revista de ciencia y tecnología de América, 2006 ISSN0378-1844, vol.31 n<sup>o</sup>12, pág. 856-860.
- SALGUERO, V. 1993. Perspectiva para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. pp. 20-26.. In: L. Hilje (ed.). Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y El Caribe. Orlando Arboleda. Costa Rica. (En línea). ES, consultado 28 ago. 2014. Disponible en: <http://www.encolombia.com/economia/agroindustria/emaiz/enfermedadescausadasporvirus/#sthash.CNm5TSoi.dpuf>

Terrez A, Cruz M; Mercado Y; 2009. Mecanismos de acción de Hongos Entomopatógenos en insectos. Rev. Mexicana de micología. Vol. 30, versión impresa ISSN0187-3180

Valarezo, O.; Cañarte, E.; Navarrete, B.; Intriago, M. 2009. La “chicharrita” *Dalbulus maidis* y su manejo en el cultivo del Maíz. INIAP. Ecuador. 305 p.

Wikipedia Inc. 2017-cipermetrina, Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/cipermetrina>

## **VIII. ANEXOS**

### **Anexo 1. Producción de hongos entomopatógenos**

#### **Aislamiento**

Este paso consiste en la obtención del hongo a partir de la fuente de inóculo, en nuestro caso de chicharritas que habían sido inoculadas, a partir del aislamiento del hongo se procede a su inoculación en el medio de cultivo de papa dextrosa agar para la obtención del cultivo puro.

El hongo se aisló por dilución seriada se colocó el insecto cubierto con las esporas del hongo, en un recipiente que contenía 10 ml de agua destilada estéril con 0.01% de tween 80. La suspensión se agitó por un minuto, para que las conidias se desprendieran del cuerpo del insecto y a esto le llamamos solución madre.

A partir de la solución madre, se preparó diluciones en serie ( $10^{-1} \dots 10^{-6}$ ). La primera dilución se obtuvo al transferir con una pipeta estéril un ml de la solución madre a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril con 0.01% de tween 80, se agitó fuertemente durante un minuto, luego se tomó un ml de la suspensión y se colocó en el otro tubo de ensayo que contenía la misma cantidad de agua destilada estéril y tween 80, esta operación la repetimos varias veces hasta obtener la última dilución, la finalidad de esta práctica es reducir los riesgos de contaminación de otros microorganismos.

#### **Cultivo puro**

Un cultivo puro es el desarrollo de un organismo libre del crecimiento de otro organismo. Este lo obtuvimos al aislar el hongo a partir de la fuente de inóculo antes descrita, lo sembramos en medios de cultivos de papa dextrosa agar.

#### **Incubación del cultivo**

La incubación es el periodo durante el cual ocurre el crecimiento y producción del hongo, después de realizar la inoculación del hongo, los platos petri se colocan en los lugares de crecimiento a una temperatura de 24 a 28°C durante un tiempo de 4 a 6 días.

Durante este periodo se observa el crecimiento del micelio y la producción de conidias. Normalmente esta etapa culmina cuando el hongo llega a cubrir toda la superficie del medio de cultivo en el plato Petri. Para realizar limpieza de los contaminantes y darle seguimiento al cultivo, se debe realizar observaciones cada 48 horas.

### **Matrices y bolsas**

Estas dos etapas del proceso de producción, tienen como objetivo reproducir masivamente el hongo en un sustrato de arroz entero, para obtener las unidades infectivas, ósea las conidias del entomopatógenos. En la matriz se reproduce el hongo que se utiliza para inocular las bolsas y en las bolsas se reproduce el hongo que luego es pasado a las bandejas y que será cosechado al final del proceso de producción.

La matriz se establece en un Erlenmeyer y las bolsas en bolsas de polipropileno. Para la matriz se utilizan 100gramos de arroz en cada Erlenmeyer y la cantidad de arroz en cada bolsa son de 200 gramos.

El arroz que se utiliza en las matrices debe de ser pre cocido lo cual toma aproximadamente 5 minutos, luego se pone a escurrir hasta que esté totalmente frio y seco, con el objetivo de que las matrices no adquieran humedad en la incubación. Las matrices son esterilizadas en la autoclave durante 4 a 5 minutos a 121°C y 1.2 bares de presión, con el fin de eliminar contaminantes. Después se agita en el agitador eléctrico durante tres días para obtener una mezcla homogénea.

### **Inoculación de las matrices**

Se raspo el hongo de la superficie del medio de cultivo cuidadosamente de manera de no dañar el medio y obtener solo el hongo que contiene las conidias del hongo. Se colocó en 60 ml de agua destilada para tener una suspensión de conidias. Con una jeringa esterilizada a 121°C y 1.3 bares de presión se colocaron 15cc de la suspensión del hongo por cada 100 gramos de arroz pre cocido y con un plato inoculamos 4 matrices.

### **Incubación de matrices**

Se pasaron a un cuarto oscuro a una temperatura de 24 a 28°C por 8 días para dar tiempo de que el hongo se desarrollara y produjera conidias.

### **Inoculación de bolsas**

Las bolsas son inoculadas con la suspensión de obtuvimos de las matrices, para preparar las bolsas se depositó 200 gramos de arroz pre cocido en las bolsas y 100 ml de agua destilada y se agitaron para que el hongo se distribuyera homogéneamente por todo el arroz en la bolsa, para ello se inoculo 20 cc de la suspensión de las matrices utilizando una jeringa veterinaria esterilizada anteriormente, de cada matriz se inoculan 30 bolsas.

### **Incubación de bolsas**

Se colocaron en un cuarto oscuro durante 6 días y se revisaron diariamente, para ver cuales tenían contaminantes y así desecharlas.

### **Incubación y secado del hongo**

Las bandejas se limpian y flamean y se colocan 10 bolsas del hongo que estén bien colonizadas. Se depositó el arroz en bandejas plásticas que tienen orificios en el fondo y se dejaron a temperatura ambiente para que se sequen, al inicio las bandejas se mantienen selladas y luego se abren.

Este proceso tardo 15 días, 6 días para la incubación de las bandejas en oscuridad y alta humedad relativa y se sellaron con masking-tape para crear una cámara oscura para el hongo se siguiera desarrollando, el proceso de secado dura de 12 a 15 días, para darnos cuenta de que el hongo está listo para cosechar lo frotamos con los dedos y si este se desprende ya lo cosechamos.

### **Cosecha del hongo**

Utilizamos tamices para frotar el arroz y que se desprendieran el polvo que contiene las conidias y esporas de los hongos, luego se refrigera para evitar que este se dañe

### **Anexo 2. Cuento de conidias para las concentraciones que usamos en las aplicaciones en campo**

Se preparó una dilución en serie, de la misma manera que lo hicimos para aislar el hongo de los insectos, utilizamos agua destilada estéril con tween 80 al 0.1%. se utilizó una cámara de conteo (Neubauer) con una pipeta de Pasteur, se tomó 1ml de la solución y se colocó en la cámara de conteo, luego por medio del microscopio observamos y realizamos el conteo de conidias.

Cámara de conteo consiste en una lámina de vidrio un poco más gruesa a la de un porta objeto, la cual presenta una ranura en forma de H y contiene dos cámaras. El fondo de la cámara tiene un rayado Neubauer, el cual presenta 9 cuadros principales de 1mm por lado. Si las conidias son relativamente grande, se cuenta el contenido de 5 cuadros, los cuatro de la esquina y el central (A, B, C, D, y E).

Para propagulos pequeños como los de *B. bassiana* y *M. anisoplae* usamos el cuadro principal central que está dividido en 25 cuadrillos secundarios de 0.2 mm por lado.

Para calcular las concentraciones de conidias por mililitro, se multiplica el número de conidias observadas en el cuadro, por el factor de cámara, multiplicamos luego por el factor de dilución, el factor de cámara es de 10,000 para cuadros principales y 250,000 para cuadros secundarios.

### **Anexo 3. Cuadro de conteo de conidias y concentraciones de hongos utilizadas**

<b>Hongo</b>	<b>Nº de conidias/ g</b>	<b>Factor de cámara</b>	<b>de dilución</b>	<b>Total</b>
<i>B. bassiana</i>	19.9	250,000	200	9.6x10 <sup>8</sup>
<i>M. anisoplae</i>	12.9	250,000	200	6.45x10 <sup>8</sup>
<i>P. fumosoroceus</i>	7.6	250,000	200	3.8x10 <sup>8</sup>

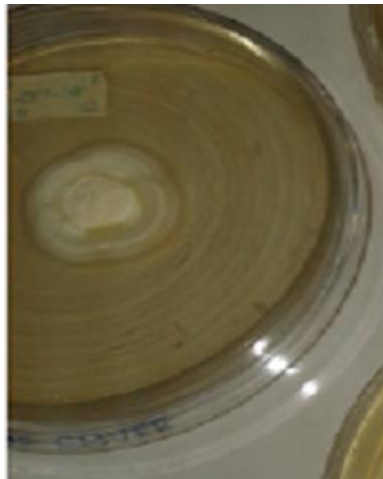
**Anexo 4.** Fotografías de los géneros de hongos entomopatógenos aislados de especímenes *D. maidis* recolectados en campo **a)** *M. anisopliae* **b)** *P. fumosoroseus* **c)** *B. bassiana*



**a**



**b**



**c**

**Anexo 5.** Aplicación de los tratamientos en el cultivo del maíz para el control de *D. maidis*



**Anexo 6.** Fotografías a) plantas afectadas por el virus del achaparramiento b) plantas sanas con el uso de hongos entomopatógenos.



a



b



**Anexo 7.** Fotografías *D. maidis* colonizados por hongos entomopatógenos en cámaras húmedas **a)** *D. maidis* afectado por *M. anisopliae* **b)** *D. maidis* colonizado por *B. bassiana*.

A



B

