

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

TRABAJO DE DIPLOMA

Evaluación de la susceptibilidad relativa de
Plutella xylostella (L) (Lepidoptera:
Plutellidae) a tres aislados de *Beauveria*
bassiana (Balls) Vuill.

Diplomante: Br. María Antonieta López López

Asesor: Ing. Héctor Rodríguez Aburto

Enero, 1993

Managua, Nicaragua

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

TRABAJO DE DIPLOMA

Evaluación de la susceptibilidad relativa de
Plutella xylostella (L) (Lepidoptera:
Plutellidae) a tres aislados de *Beauveria*
bassiana (Balls) Vuill.

Diplomante: Br. María Antonieta López López

Presentado a la consideración del honorable tribunal
examinador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Enero, 1993

Managua, Nicaragua

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
INDICE DE CUADROS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	5
2.1 Ubicación del bioensayo	5
2.2 Fuentes de insectos	5
2.3 Fuentes de inóculo	6
2.4 Producción de <i>Beauveria bassiana</i>	7
2.5 Prueba de viabilidad	8
2.6 Experimentación	8
2.7 Procedimiento del bioensayo	9
2.8 Procesamiento de los datos	10
III. RESULTADOS Y DISCUSION	11
IV. CONCLUSIONES	21
V. RECOMENDACIONES	22
VI. BIBLIOGRAFIA	23

INDICE DE CUADROS

CUADRO Nº	Página
1. Valores de concentración letal media (CL ₅₀) y límites fiduciales para tres aislados evaluados de <i>B. bassiana</i> en <i>F. xylosteffa</i> .	14
2. Valores de tiempo letal medio (TL ₅₀) y límites fiduciales para tres aislados de <i>B. bassiana</i> en <i>F. xylosteffa</i> .	16

INDICE DE FIGURAS

Figura Nº		Página
1.	Porcentajes de mortalidad corregida de <i>F. xylostellae</i> después de la aplicación de cuatro concentraciones de los aislados 64-88 (1a), CB-32 (1b) y 116-87 (1c) de <i>B. bassiana</i> .	12
2.	Probit de mortalidad de <i>F. xylostellae</i> vrs logaritmo de la dosis de cuatro concentraciones de tres aislados de <i>B. bassiana</i> (cada punto representa la suma de tres repeticiones).	13
3.	Comparación bajo las mismas concentraciones de líneas de respuesta probit de mortalidad vrs logaritmo de tiempo de las concentraciones 10^8 (3a), 10^7 (3b), 10^6 (3c), 10^5 (3d). conidias /ml de tres aislados de <i>B. bassiana</i> sobre <i>F. xylostellae</i> .	16

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido la finalización de este trabajo.

A mis queridos padres Angelina López y Vicente López, quienes con gran esfuerzo e infinito amor me han ayudado a alcanzar una meta más en mi vida.

A mis queridos hermanos.

A Nicaragua.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento:

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

Al Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE-MAG), por el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

A mis amigos Mario Bustamante e Israel Quiroz por su ayuda incondicional, por su amistad.

A mi hermana Dimpna López por su apoyo moral.

A mi asesor Ing. Héctor Rodríguez A. por su colaboración para que este trabajo llegara a feliz término.

Al Ing. Msc. Gregorio Varela y al Dr. Enricus Biljmakers, por sus valiosas sugerencias.

v
RESUMEN

Con el objetivo de encontrar alternativas adecuadas de manejo de *Plutella xylostella* (L.), una de las principales plagas del cultivo del repollo (*Brassica oleracea* (L.)), se llevó a cabo el presente trabajo, en el laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE) y la Universidad Nacional Agraria (U.N.A), en el periodo comprendido entre Febrero 1991 y Enero 1992.

Se evaluó la respuesta de *Plutella xylostella* a tres aislados de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. Los aislados evaluados fueron 64-88, CB-32 y 116-87, con cuatro concentraciones acuosas de cada aislado correspondientes a 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 conidias/ml, obteniéndose rangos de porcentajes de mortalidad entre 27.3%-81.50% (64-88), 29.28%-70.39% (CB-32), 5.08%-37.5% (116-87).

Se calcularon las CL_{50} para los aislados 64-88, CB-32 y 116-87 obteniéndose los valores de 1.8×10^6 , 4.41×10^6 y 4.4×10^8 conidias/ml respectivamente, siendo los aislados 64-88 y CB-32 los que se mostraron más promisorios para el control de *Plutella xylostella*. El aislado 64-88 mostró tendencia a ser más eficaz en el control de larvas de esta plaga.

Los valores encontrados de TL_{50} variaron, siendo el aislado 64-88 el que obtuvo menor tiempo (3.6 días después de la inoculación) para la mayor concentración, seguido del aislado CB-32 que alcanzó valores de 5.86 días para la mayor concentración, para el aislado 116-87 no se obtuvo el TL_{50} esperado ya que los valores resultaron extremadamente altos, no llegando a alcanzar el 50 % de mortalidad.

I. INTRODUCCION

En Nicaragua, el repollo (*Brassica oleracea* L.), familia cruciferae:tribu Brassicae es, después del tomate, una de las hortalizas más consumidas. Se consume tanto en estado fresco como procesado. Su producción está en manos de pequeños y medianos productores y cooperativas (MIP-Repollo, 1990). La mayor producción de este rubro se registra en zonas altas de la región norte (500-1000 msnm), pero se ha adaptado a zonas más bajas como el valle de Sébaco (Matagalpa) y Masaya, las que se han convertido en importantes zonas productoras. El cultivo del repollo puede producir hasta 21,000 cabezas comerciables por manzana (0.7ha), (Barahona et.al,1989) citado por Barahona (1990). Se estima que el costo de producción promedio por hectárea para la región Centroamericana oscila entre U.S \$ 800.00 a U.S \$ 1,342.00 de los cuales se invierte entre 20-38% en el control de plagas. Un alto porcentaje del costo del control se concentra en el combate de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidóptera: Plutellidae). (CATIE, 1990).

P. xylostella es conocida como la oruga verde del repollo o palomilla dorso de diamante. Es huésped del repollo, brócoli y otras plantas del género *brassica*. El ciclo biológico, desde huevo a adulto, tarda entre 15 y 40 días, dependiendo de las condiciones climáticas, principalmente la temperatura. Los primeros estadios larvales se alimentan en la superficie inferior de las hojas, dejando ventanas en la superficie superior intactas. A veces pueden minar el tejido de la hoja. Las larvas mayores perforan las hojas haciendo muchos agujeros irregulares. El daño es mucho mayor cuando las larvas penetran en el corazón y otras partes comerciables de la planta. (King y Saunders, 1984).

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

P. xylostella ha sido clasificada como el insecto plaga más perjudicial al cultivo del repollo en la región Centroamericana. En Nicaragua se le ha reportado como la plaga principal, encontrándose en todas las zonas donde se produce este rubro. (Guharay, 1986). En el ciclo agrícola 1983-84 esta plaga llegó a provocar pérdidas económicas de hasta un 100%. Este problema es el resultado de una alteración en el equilibrio del ecosistema, debido al uso de dosis altas de pesticidas y a la calendarización de las aplicaciones, lo que posiblemente ha provocado resistencia de este insecto hacia los productos químicos utilizados. (Varela, 1987).

El sobre uso de plaguicidas, como táctica de manejo de esta plaga, ha permitido el surgimiento de nuevas plagas como *Ascia monuste* (L) y *Leptophobia arifa* (Boisd). Este abuso del uso de insecticidas también ha provocado resistencia de éste insecto a diferentes grupos de pesticidas. Miyata et al., (1990), afirma que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia ha 46 diferentes insecticidas. Varela (1987), evaluó la efectividad de Dipel; Lannate, tamaron y decis de los cuales el único efectivo fue Dipel, sin embargo, se ha reportado que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a *Bacillus thuringiensis* subespecie Kurstarki. (Tabashnik et al., 1990).

En Nicaragua se han realizado estudios para determinar formas más adecuada de manejo de esta plaga. Se han investigado períodos críticos; umbrales económicos; prueba de productos químicos, botánicos y biológicos. También existen algunos estudios sobre el uso de policultivos entre otros, que permitan generar estrategias de manejo integrado para esta plaga. (Rueda 1990, Miranda.1990, Barahona 1990, Machado.1992).

Una posible alternativa de manejo para *P. xylosteffa* es el uso del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balls). Vuill, en diferentes estudios realizados, ha mostrado ser promisorio para el control de plagas de los órdenes lepidóptera y coleóptera. Steinhaus (1968), describió la sintomatología de *B. bassiana* sobre diferentes géneros del orden lepidóptera. Una larva infectada se vuelve perezosa en sus movimientos, no responde a la mayoría de los estímulos externos, y con frecuencia, toma un color ligeramente rosado. La larva permanece blanda y flexible hasta que el micelio ha crecido a través del cuerpo del insecto. En seguida, el insecto se pone rígido momificado y el contenido del cuerpo es blanco y polvoso. Cuando se expone al aire libre húmedo, los conidióforos rompen el integumento y aparece el micelio blanco sobre la superficie del insecto. Después de uno o dos días se producen los conidios los cuales dan al insecto una apariencia harinosa polvosa.

En Nicaragua se han conducido estudios preliminares para conocer su incidencia natural y posible uso contra insectos dañinos, tales como la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), a la cual se le aplicó conidias de *B. bassiana*. Los resultados mostraron que las conidias producidas en arroz más medio líquido, causaron 80% de mortalidad. En cambio, las producidas en medio líquido, 63% de mortalidad (Barrios y Centeno, 1990).

En *P. xylostella*, este hongo provocó mortalidades de 75% a 85% al tratar esta plaga con la mezcla *B. bassiana* más Nu-Film 17 (Gutiérrez 1991).

La determinación de aislados específicos para cada plaga o complejo de plagas casi no ha sido estudiado. El presente estudio tuvo como objetivos la evaluación de tres aislados de *B. bassiana* en larvas en estado inmaduro de *P. xylostella*, determinar concentraciones letales medias (CL₅₀) y tiempos letales medios (TL₅₀) en suspensión acuosa de cuatro concentraciones de conidias.

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 UBICACION DEL BIOENSAYO

Los bioensayos fueron conducidos en el Laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE), ubicado en el Km. 12 1/2, Carretera Sur, Managua.

2.2 FUENTES DE INSECTOS

Insectos en estado adulto, pupas y larvas fueron recolectados en campos de repollo en San José de las Latas, departamento de Jinotega y fueron trasladados al laboratorio de cría de insectos de la Universidad Nacional Agraria (UNA), en donde se estableció la cría. Los adultos fueron puestos en jaulas con cedazo, se les alimentó con una solución de miel de abejas, vitamina E y levadura de cerveza.

Para la alimentación de larvas y oviposición se establecieron semilleros de repollo, variedad Superette, que luego se sembraron en maceteras de plástico pequeñas que se mantuvieron en el invernadero. La alimentación de las larvas se cambió cada dos días, trasladando las larvas de las plantas viejas a plantas nuevas, teniendo el cuidado de revisar las jaulas y limpiarlas, para evitar que arañas y hormigas devorasen las larvas.

Se revisaban periódicamente las plantas en las jaulas de oviposición. Cuando las plantas presentaban un alto porcentaje de oviposición, éstas se trasladaban a jaulas de larvas y se reponían por plantas frescas.

2.3 FUENTE DE INOCULO.

Los aislados del hongo fueron facilitados por el laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Protección Vegetal (CENAPROVE). Se utilizaron tres aislados del hongo, siendo los siguientes:

- CB-32 aislada de *Cosmopolites sordidus* (Cuba).
- 64-88 aislada de *Hypathenemus hampei* (Fundadora).
- 116-87 aislada de *Colaspis spp* (CEA).

La colecta y el aislamiento de los dos aislados Nicaragüenses fueron hechos en el laboratorio del proyecto hongos entomopatógenos de CENAPROVE, basándose en la metodología descrita por Alves (1986).

Los insectos muertos fueron traídos del campo específicamente de la fundadora y del Centro Nacional del Algodón (CEA), llevados al laboratorio y puestos en cámara húmeda; cuando las estructuras del hongo se hicieron evidentes, se observaron al estereoscopio, con una asa bacteriológica, se tomó una porción de conidias que se sembraron en platos petri conteniendo medio de cultivo MEA, (Malt Extract Agar) hecho a base de:

Malta	30 gr
Peptona	3grs
Agar	20grs
Agua	1000 ml

Luego de sembradas las conidias se colocaron en un cuarto de crecimiento a temperatura y humedad relativa ambiental. Después de cinco días se observó el crecimiento de las colonias y se reaisló, tomando una porción de las colonias con las características más aproximadas a las colonias de *B. bassiana* y se sembraron nuevamente en MEA. A los cinco días, cuando las

colonias ya había crecido, se compararon con las colonias que se presentaban en el insecto muerto. Se hizo un montaje en porta-objeto y se vio al microscopio para observar las características de las conidios. Posteriormente, de estas colonias se sembraron en tubos de ensayo inclinados conteniendo MEA, para ser guardados o usados para la reproducción en arroz.

2.4 Producción de *Beauveria bassiana*

La producción en arroz, se hizo de acuerdo con la metodología desarrollada por los técnicos del Laboratorio de hongos entomopatógenos de CENAPROVE. Se preparó un medio líquido con los siguientes ingredientes:

INGREDIENTES	CANTIDADES
Afrecho de arroz	25 gr
Levadura de Cerveza	10 gr
KH_2PO_4	13.6 gr.
$CaCl_2$	0.25 gr.
NaOH	2.32 gr
Agua	1000 ml
PH=7	

Se distribuyeron 1000 ml. del medio líquido en 20 erlenmayer de 500 ml.; se colocaron 50 ml. en cada uno; se autoclavaron a 120 °C por 20 minutos; luego de esterilizados, se hizo la inoculación tomando inóculo de cultivo puro y sembrándolo en medio líquido y se guardaron en el cuarto de crecimiento. Después de 15 días, cuando el hongo hubo alcanzado su máximo desarrollo, se sembró el medio líquido en arroz autoclavado; para esto se tomó 4000 gr. de arroz que se lavó y se dejó en agua por 30 minutos, se secó a temperatura ambiente; se distribuyeron los 4000 gr. de

arroz en 20 erlenmayer de 5000 ml., se colocaron 200 gr. de arroz en cada uno; se autoclavaron a 120 °C por 15 minutos; y se vertieron 50 ml de medio líquido en cada erlenmayer. Este paso se realizó en la cámara de transferencia, previamente esterilizada con rayos ultravioleta.

Una vez inoculados los medios líquidos en arroz se guardaron en el cuarto de crecimiento. Cuatro semanas después se cosecharon las conidias por medio de lavado de arroz, utilizando un tamiz, agua estéril más una gota de tween 80, obteniéndose una concentración de 1.66×10^9 para 64-88, 3.35×10^9 para CB-32 y 2.60×10^9 conidias/ml para 116-87. El conteo de las conidias se realizó utilizando la cámara de **Neubauer** (0.1mm. de profundidad).

2.5 PRUEBA DE VIABILIDAD

Para conocer la viabilidad de las conidias, se hicieron pruebas de germinación, colocando una gota de MEA en un porta objeto. Posteriormente se hizo una suspensión de conidias, mezclando 0.01 ml de pasta en 9.99 ml. de agua estéril, se dejó caer una gota de esta suspensión en un porta objeto con MEA y se colocaron en platos petri con papel filtro humedecido. El conteo de las conidias se realizó a las dieciocho horas, obteniéndose los siguientes porcentajes de viabilidad: CB-32 76.19%, 64-88 82.41%. El aislado 116-87, a las dieciocho horas, presentó un bajo porcentaje de germinación, por lo que se realizó un nuevo recuento a las 22 horas, que fue de 84.6%.

2.6 EXPERIMENTACION

Los bioensayos se realizaron en CENAPROVE evaluándose tres aislados de *Beauveria bassiana* con cuatro concentraciones por cada aislado más un testigo para cada uno, siendo las concentraciones de 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , conidias/ml de agua estéril, respectivamente. Se utilizaron 20 larvas de *P. xylostella* por cada concentración, más 20 larvas para cada testigo, para un total de 100 larvas por aislado. El bioensayo se repitió tres veces exponiéndose un total de novecientas larvas

2.7 PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO

Se desinfectó la alimentación de las larvas, que consistió en discos de hojas de repollo, lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 2%. El alimento se dejó en esta solución por espacio de 5 mn. luego se dejó secar al aire para evitar que la humedad pudiera provocar daños a las larvas.

Se preparó una concentración madre de conidias de cada aislado de 10^8 conidias/ml de agua estéril y después se realizó una dilución en serie para obtener las concentraciones 10^7 , 10^6 , 10^5 conidias/ml. de agua estéril, respectivamente. Para el conteo de las conidias de la solución madre se utilizó la cámara de Neubauer.

Para la inoculación de las larvas se utilizó el método de Inmersión de Larvas en la solución acuosa de conidias. Para esto se utilizaron platos petri pequeños donde se depositaron las diferentes concentraciones. Las larvas se sumergieron en las concentraciones por espacios de 5 segundos, aproximadamente, y se depositaron sobre discos de hojas de repollo previamente desinfectados.

Para el testigo, las larvas se sumergieron en agua estéril. Cada larva se colocó junto con su alimento en vasos individuales de una onza. Los datos se tomaron cada dos días a partir del día de la inoculación, procediendo también al cambio de alimentación, que consistió en discos de hojas de repollo previamente lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 2%.

2.8 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

La información obtenida se procesó en el centro de cómputos de la Escuela de Sanidad Vegetal, de la Universidad Nacional Agraria.

El análisis de los datos se hizo a través del Programa Francés Dose Letal versión 4.0, mediante el cual se obtuvo resultados de CL_{50} y TL_{50} para cada aislado; sus ecuaciones de regresión; límites de confianza, así como las líneas de respuesta.

III. RESULTADOS Y DISCUSION

Los tres aislados evaluados resultaron ser patogénicos para larvas de *P. xylostellata*; las larvas atacadas por el hongo fueron reconocidas por su rigidez y posterior coloración, ligeramente rosadas. Estos síntomas son parecidos a los que describió Steinhaus (1968) en diferentes géneros del orden lepidoptera. La presencia del micelio blanquecino de *B. bassiana* se hizo evidente 1-2 días después que las larvas se colocaron en cámara húmeda. Resultados similares obtuvo Hayden *et al.*, (1992) quien reportó que *B. bassiana* se hizo evidente en insectos muertos de *Sitobion avenae* (F) 2-3 días después.

La mortalidad a los 16 días, causada por los diferentes aislados, varió entre 27.3%-81.50% para 64-88; 29.28%-70.39% para CB-32 y 5.08%-37.5% para 116-87 (figura 1). Se observó, para los tres aislados, que la mortalidad de *P. xylostellata* crece a medida que aumenta la dosis de conidias /ml. Para el aislado 116-87 concentración 10^5 conidias/ml, a partir del sexto día, la mortalidad es mayor, que la mortalidad causada por la concentración 10^6 conidias/ml, esto posiblemente es debido a errores en la manipulación de las dos suspensiones.

La correlación positiva entre el número de esporas infectivas y la mortalidad por micosis ha sido establecida por muchos autores. Ignoffo *et al.*, (1982), evaluaron ocho concentraciones de *B. bassiana* en *Trichoplusia ni* (Hubner) y reportaron mortalidades de 95% con la concentración mayor de 5,000 conidias/mm²

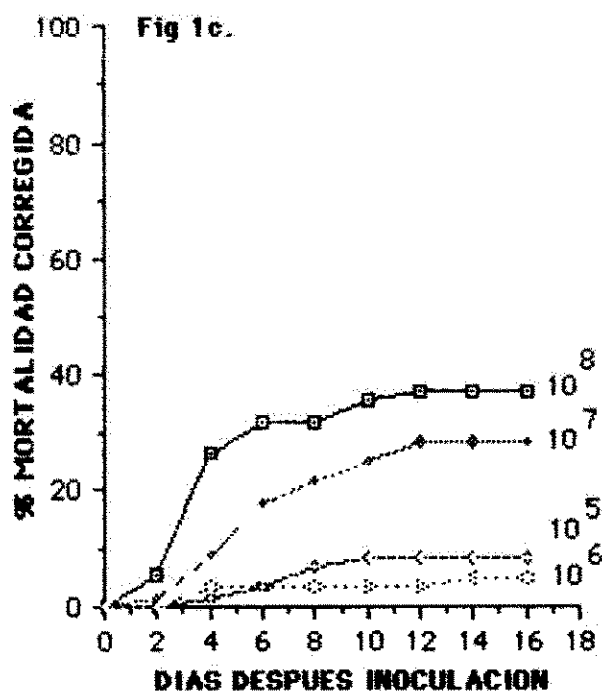
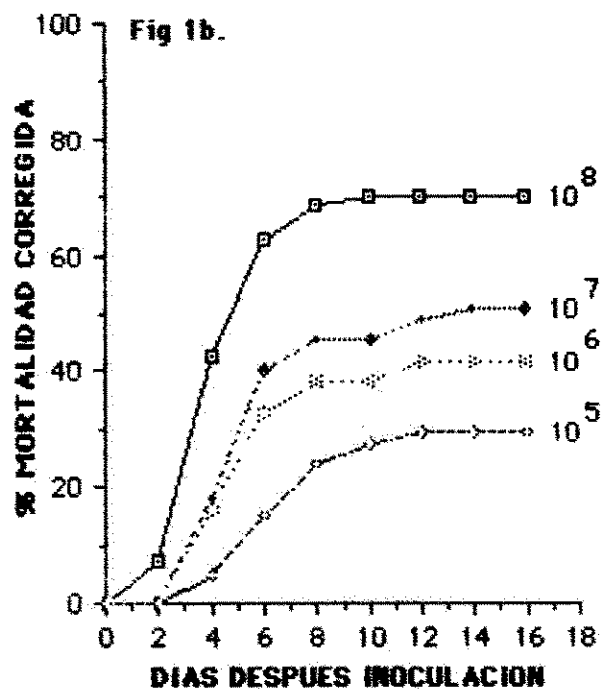
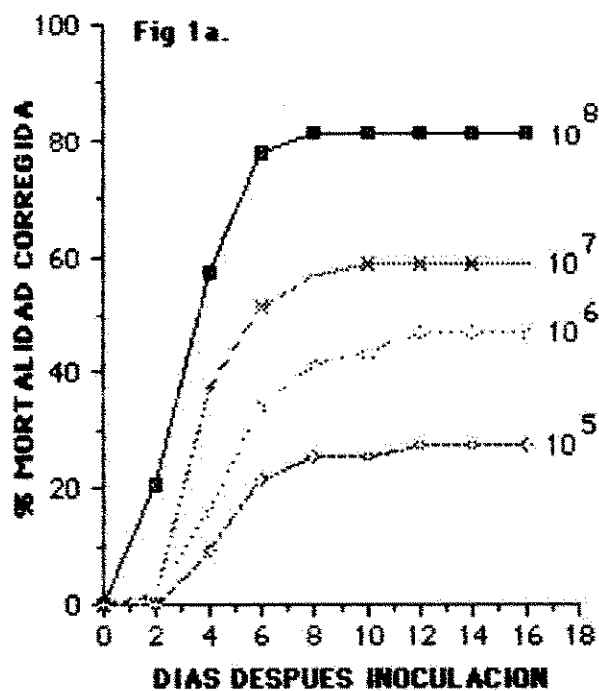


Figura 1. Porcentajes de mortalidad corregida de *F. xylostella* después de la aplicación de cuatro concentraciones de los aislados 64-88 (1a), CB-32(1b), y 116-87 (1c) de *B. bassiana*.

Resultados de laboratorio usando *Diatraea grandiosella* (Dyar) demostraron que los huevos y las larvas son susceptibles a *B. bassiana* cuando se expusieron a altas concentraciones de conidias. Los estudios, usando un rango de concentraciones conocidas pueden ayudar a definir posibles diferencias en susceptibilidad entre diferentes especies de insectos, (Knutson y Gilstrap, 1989). Las líneas de respuesta probit de mortalidad total de larvas vs logaritmo de la dosis (conidias/ml) mostraron mortalidades mayores con las dosis más elevadas.

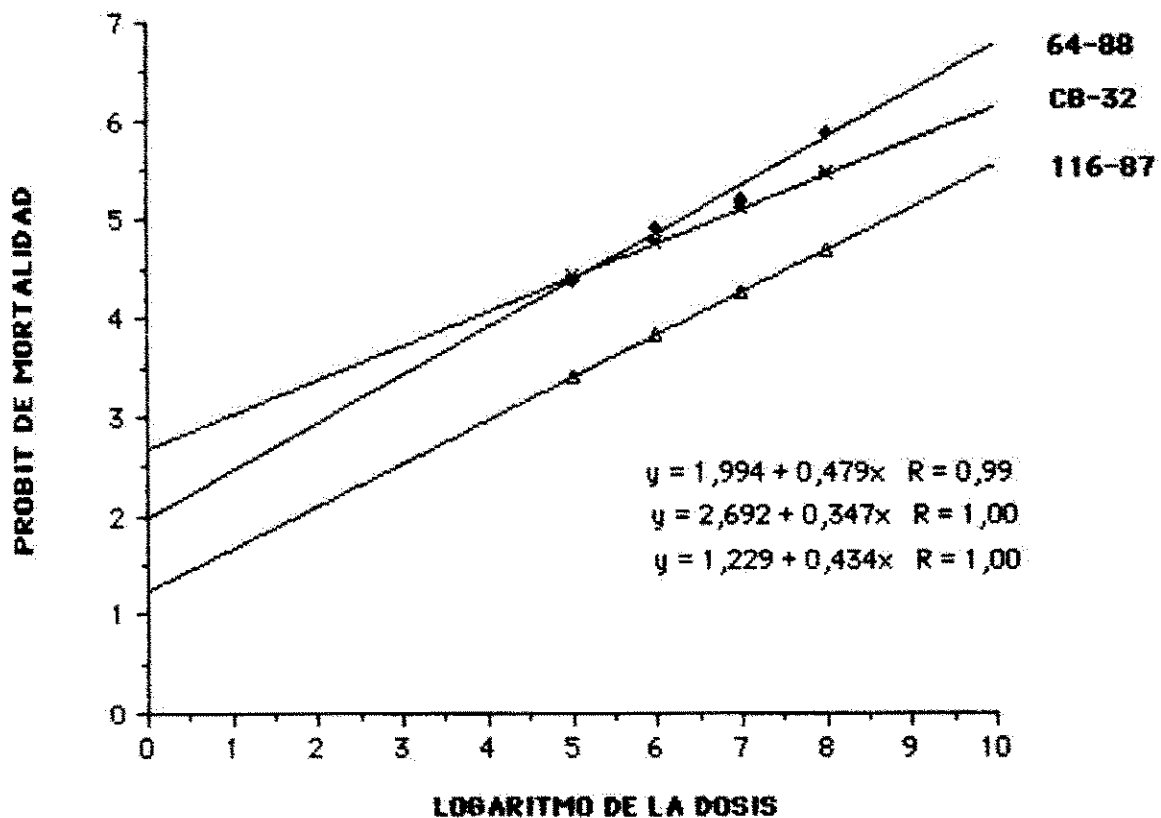


Figura 2. probit de mortalidad de *P. xylostellae* vs logaritmo de la dosis de cuatro concentraciones de tres aislados de *B. bassiana* (cada punto representa la suma de tres repeticiones).

El aislado 64-88 tuvo mejor efectividad obteniendo probit de mortalidad más elevados. Los aislados 64-88 y CB-32 lograron causar más del 50% de mortalidad, no así el aislado 116-87 que aunque presentó buenas características de desarrollo en arroz cocido más medio líquido, logró afectar a *P. xylostele*; pero no alcanzó los niveles de mortalidad esperados. La comparación de límites fiduciales ($P=0.05$) entre los aislados permite aseverar que estadísticamente las CL_{50} de 64-88 y CB-32 son iguales; en cambio, la CL_{50} del aislado 116-87 fue diferente a los aislados anteriores. Los valores de CL_{50} y límites fiduciales se muestran en el (cuadro. 1).

Cuadro 1. Valores de CL_{50} y límites fiduciales para los tres aislados evaluados de *Beauveria bassiana* en *Platella xylostele*.

Aislados	Limite superior	CL_{50}	Limite inferior
64-88	4.50×10^6	1.89×10^6	7.70×10^5
CB-32	1.39×10^7	4.45×10^6	1.39×10^6
116-87	4.00×10^9	4.50×10^8	5.90×10^7

Los valores de CL_{50} calculados para los aislados 64-88 y CB-32 son similares a los valores que encontró Gutiérrez (1991), al evaluar la mezcla *B. bassiana* más Nu-Film 17 en larvas de *P. xylostele* con dos tipos de aplicación 6.43×10^6 conidias/ml aplicación foliar, y 4.16×10^5 para inmersión de larvas.

Ignoffo *et al.*, (1979), citado por Wilding (1981), determinó la CL_{50} de 2.7×10^8 esporas/ml de boverin para larvas de tres días de edad de *P.xylosteella*. Siebeneicher *et al.*, (1991) calcularon la CL_{50} de un aislado americano de *B. bassiana* (Laboratorios Abbott), con dos tipos de aplicación contra *Salenopsis invicta*, determinando una CL_{50} de 2.8×10^{12} conidias/ml, aplicación en spray, y 2.9×10^5 para inmersión de adultos. Cabe destacar que, tanto Gutiérrez como Siebeneicher *et al.*, señalaron el método de inmersión como el más efectivo para usar en ensayos de laboratorio. Así mismo, Wrigh y Chandler (1991) usaron *B. bassiana* en *Anthonomus grandis*; éste fue encontrado altamente patogénico a pupas y adultos. La mortalidad fue una función de las dosis de conidias y el método de exposición; y fue mayor con las concentraciones más altas (10^{10} conidias /ml). La CL_{50} determinada fue de 1.49×10^6 conidias /ml. La comparación de líneas de respuesta probit de mortalidad vrs logaritmo de tiempo entre las mismas concentraciones de los diferentes aislados (figura 3)

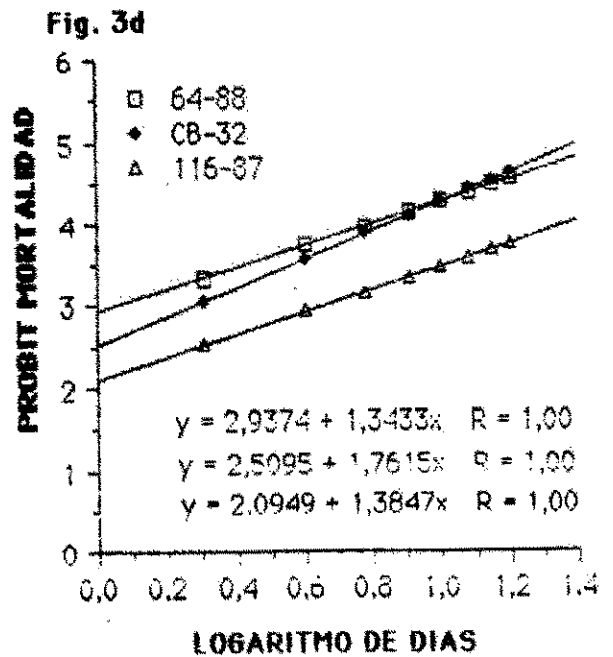
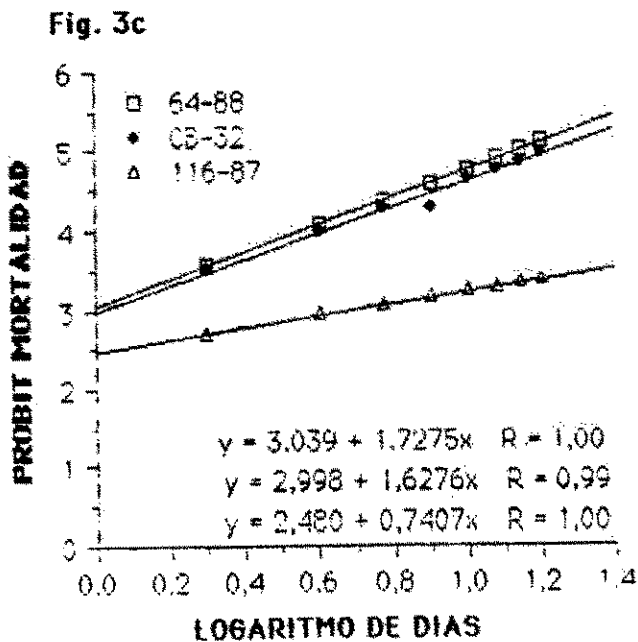
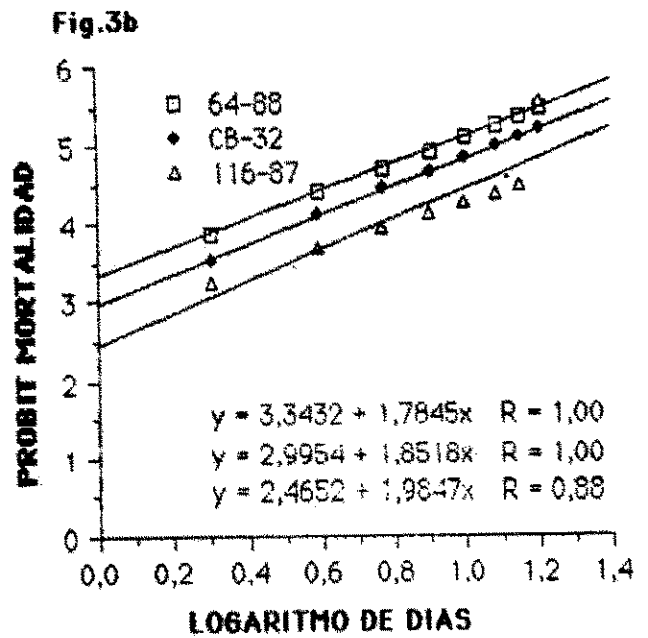
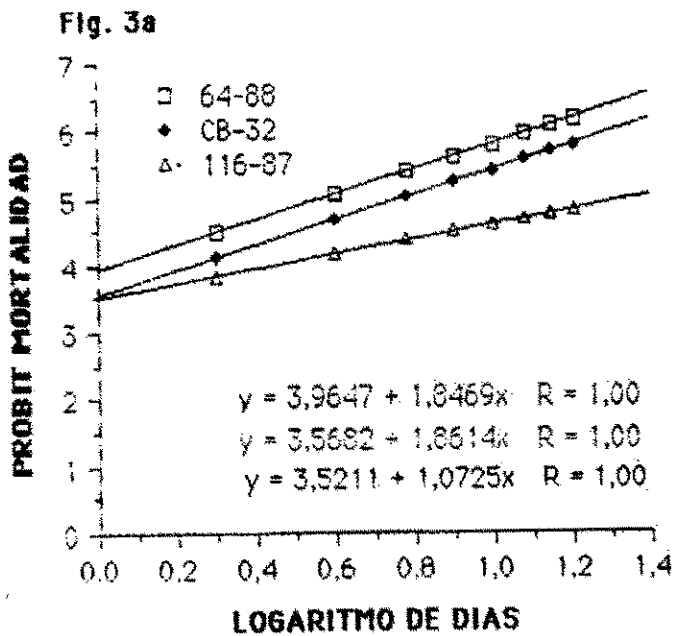


Figura 3. Comparación bajo las mismas concentraciones de líneas de respuesta probables de mortalidad versus logaritmo de tiempo (días) de las concentraciones 10^8 (3a), 10^7 (3b), 10^6 (3c) y 10^5 (3d) conidias/ml. de tres aislados de *B. bassiana* sobre *P. X*, *Kstella*.

muestran que con las concentraciones 10^8 conidias /ml, el TL_{50} se alcanzó en menor tiempo, siguiéndole en orden $10^7, 10^6, 10^5$ conidias/ml. La mortalidad de *P. xylostellae* se eleva con el tiempo. Las líneas de respuesta del aislado 64-88 muestran en todas las concentraciones mayores probit de mortalidad en menor tiempo, siguiéndole CB-32 y 116-87 obtuvo las menores mortalidades en mayor tiempo. El tiempo requerido por los aislados 64-88 y CB-32 para matar el 50% de la población expuesta fue estadísticamente igual, a través de la comparación de límites fiduciales ($P=0.05$) entre todas las concentraciones evaluadas; en cambio, el aislado 116-87 no es estadísticamente igual a ninguno de los dos aislados anteriores. Los valores de TL_{50} y límites fiduciales se muestran en el cuadro 2.

Los valores en días para alcanzar el 50% de mortalidad para 64-88 y CB-32, con las concentraciones mayores, son similares a los valores dados por Gutiérrez (1991) al evaluar la mezcla de *B. bassiana* más Nu-Film 17 con dos tipos de aplicación, 3.56-10.94 días para aplicación foliar y 4.11-8.54 inmersión de larvas. Feng y Johnson (1990) calcularon para una suspensión de 10^7 conidias /ml TL_{50} de $4.2 \pm 1.5 - 8.7 \pm 2.7$ para seis aislados de *B. bassiana* contra *Diuraphis noxia* (Morlivilko), McDowell *et al.*, (1990), al evaluar cinco concentraciones de una preparación comercial de *B. bassiana* en larvas de *Elasmopalpus lignosellus* (Teller) obtuvo valores de 4,4-14,3 días para primer instar y 6,3-19,6 días para tercer instar, enfatizando que la dosis y la edad del hospedante tienen una influencia directa en el tiempo requerido por *B. bassiana* para matar larvas de *E. lignosellus*. Hayden *et al* (1992) usaron *B. bassiana* contra *Sitobion avenae* (F), obteniendo un TL_{50} de 9,5 días y una respuesta de

Cuadro 2. Valores de Tiempo Letal Medio (TL₅₀) y Valores de Límites Fiduciales para tres aislados evaluados de *B bassiana* en *P xylostella*.

CONCENTRACIONES												
Aislados	TL ₅₀	10 ⁸		10 ⁷		10 ⁶		10 ⁵		TL ₅₀	Inferior	Superior
		Limite Inferior	Limite Superior	Limite Inferior	Limite Superior	Limite Inferior	Limite Superior	Limite Inferior	Limite Superior			
64-88	3.60	2.84	4.55	8.43	5.84	12.18	13.56	10.88	16.91	34.31	17.39	67.69
CB-32	5.66	4.27	8.04	12.03	10.02	14.44	16.20	12.35	21.26	25.85	16.96	39.39
116-87	23.75	13.92	40.54	31.22	18.40	52.97	-	-	-	-	-	-

85% de mortalidad. La virulencia de un patógeno puede ser evaluada en condiciones de laboratorio a través de bioensayos con insectos susceptible puede ser expresada como CI_{50} y TI_{50} , por tanto, los datos del presente trabajo muestran que los aislados 64-88 y CB-32 son más virulentos contra *P. xylostella* que el aislado 116-87. Las diferencias en patogenicidad de diferentes aislados entomopatógenos ha sido comparada a través de bioensayos para tratar de encontrar aislados específicos para determinadas plagas o complejos de plagas. En Estados Unidos, Feng y Johnson (1990), probaron la patogenicidad de seis aislados de *B. bassiana* en *D. noxia*, determinando que un aislado derivado de un áfido *Schizaphis graminum* fue el más virulento. El rango de incremento en mortalidad fue positivamente correlacionado con la concentración de conidias para todos los aislados y las muertes más tempranas fueron inducidas por las concentraciones más altas (10^7 conidias /ml.), pero es obvio que factores adicionales influyeron en la patogenicidad de los aislados de *B. bassiana* contra *D. noxia*; diferencias en la coloración de las colonias se observó directamente en agar: el color varió de crema para los aislados de *Nilaparvata lugens* (BB717), *Deois flevopicta* (BB806), a púrpura pálido para el aislado de *Nephotettix bipunctata* (BB1554), a púrpura encendido para los aislados de *Schizaphis graminum* (SGBB8601), Boverin (BB286) y *Leptinotarsa decemlineata* (BB344), la coloración roja se cree correlacionada con la producción de oosporein, un pigmento dibenzoquinona que es ligeramente tóxico a gallos; sin embargo, su toxicidad a insectos es desconocida. En este trabajo, los aislados con pigmentos intensos fueron más patogénicos a *D. noxia*. Así mismo Quintela *et al.*, (1990) evaluaron la patogenicidad en larvas y adultos de *Chalcodermus bimaculatus* Fiedler, de cinco aislados de *B. bassiana*; de los cuales CP-7 aislado de *C. bimaculatus* y CP-1 aislado de un véspido no identificado; fueron los más

virulentos, basándose en los rangos de TL_{50} . Los adultos fueron considerablemente menos susceptibles a *B. bassiana* que las larvas. Las causas por las cuales un aislado entomopatógeno presenta diferencias en patogenicidad se le atribuye a diversos factores que, interrelacionados entre sí, hacen que la interacción patógeno-hospedante sea exitosa. Uno de estos factores de patogenicidad es la existencia de aislados que presentan una alta producción de enzimas quitinasas y proteasas y, por tanto, poseen una alta virulencia a ciertos insectos. Samsinakova *et al.*, (1979), citado por Roberts (1980).

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

La selección de aislados específicos y la definición de un rango de hospederos es un prerrequisito para el uso de hongos entomopatógenos en programas de manejo integrado de plagas. El uso de aislados de *B. bassiana* contra *P. xylostella* y otras plagas susceptibles a este hongo, puede considerarse para ser incorporado a programas de manejo de este insecto y, así, disminuir el uso de productos químicos que provocan desequilibrios a nuestra ecología.

IV. CONCLUSIONES

1. Los aislados 64-88 y CB-32 fueron los más efectivos contra larvas de *F. xylostella*. Sin embargo, se puede considerar, que el aislado 64-88 tuvo la tendencia de ser más eficaz que el aislado CB-32.
2. La mortalidad acumulada de *F. xylostella* varió en dependencia de las concentraciones, obteniendo que a mayores concentraciones la mortalidad aumentaba.
3. Las CL_{50} de los aislados 64-88 y CB-32 fueron estadísticamente iguales obteniendo los valores más bajos; 1.89×10^6 conidias/ml. y 4.45×10^6 conidias/ml. respectivamente. El aislado 116-87 se mostró estadísticamente diferente obteniendo valor de 4.4×10^8 conidias/ml.
4. Los TL_{50} de los aislados 64-88 y CB-32 fueron estadísticamente iguales obteniendo valores menores. El aislado 116-87 se mostró diferente, obteniendo valores altos en días a morir después de la inoculación.
5. El TL_{50} se vio afectado por la concentración de conidias ya que aumentó a medida que disminuyó la concentración de conidias.

V. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso de los aislados 64-88 y CB-32 en futuras investigaciones a nivel de laboratorio en *F. xylosteila*.
2. Hacer evaluaciones con los aislados 64-88 y CB-32 en el campo para el control de *F. xylosteila*, ya que estos aislados se comparan favorablemente con aislados evaluados en Nicaragua y Estados Unidos.
3. Continuar estudios con el aislado 116-87 en otras especies, ya que este aislado mostró buen desarrollo en medio de arroz cocido más medio líquido.

VI-BIBLIOGRAFIA

- Alves S.B. 1986. Controle Microbiano de Insetos. Editora Manole 1 Edicion. Sao Paulo, Brasil 407 págs.
- Andrews L. K. 1984. El Manejo integrado de plagas invertebradas en Cultivos Agronómicos, Hortalizas y Frutales en la Escuela Agrícola Panamericana. MIP-Honduras. 37-38. págs
- Barrios M. Centeno 1990. Perspectivas de *Beauveria bassiana* como control biológico de *Hypotenemus hampei* Ferr. (Coleóptera: Scolytidae) en la VI región de Nicaragua. Memoria resumen 4^{to} Congreso Nacional, 3^{er} Congreso Internacional MIP, Nicaragua C.A.
- Barahona Zamora L D .1990. Efecto de Insecticidas botánicos y biológicos sobre la entomofauna presente en el cultivo del repollo (Brassica oleracea) var. Superette. 37 págs.
- Bidochka J M and Khachatourians G G 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular proteasa as a virulence factor in pathogenicity toward the Migratory Grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* . Journal of Invertebrate Pathology. Vol. 56 362-370.
- CATIE 1990. Guía para el manejo integrado del cultivo del repollo. CATIE. Proyecto Regional MIP. Turrialba, Costa Rica 80 págs.
- Feng .M.G. and Johnson J.G. 1990. Relative virulence of six Isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxii* (Homoptera: Aphididae). Entomological Society of America. Vol. 19 No. 3.

- Guharay F. 1986. Problemática de la producción hortícola en la VI Región y sugerencias para su superación. Informe técnico. DGEIA. Managua. Mimeografiado.
- Gutiérrez S.C. 1991 Control de Larvas de *Plutella xylostella* (L) con la mezcla *Beauveria bassiana* mas Nu-Film 17. Tesis de Maestría. CATIE. Costa Rica.
- Hayden P.T Bidochka J M and Khachatourians G G 1992. Entomopathogenicity of several fungi toward The English Grain aphid (Homoptera:Aphididae) and enhancement of virulence with host passage of *Faecilomyces farinosus*. Journal of Economic Entomology. Vol 85. No. 1.
- Ignoffo C.M. García C. Kroha. M. Coveh. T.L. 1982. Use of larvae of *Trichoplusia ni* to bioassay conidia of *Beauveria bassiana* J. Econ. Entomol. Vo. 75 No. 2.
- King, A.N.S. y Saunders J. L. 1984. Las plagas invertebradas en América Central. London, Overseas Development Administracion. 162 Págs
- Knutson E A. and Gilstrap E.F. 1989. Seasonal ocurrence of *Beauveria bassiana* in the Southwestern Corn Borer (Lepidoptera:Pyralidae) in the Texas High Plains. Journal of the Kansas Entomological Society Vol. 63 Nº.2. 243-251.
- Machado E. V. 1992. Efecto de Policultivo repollo-zanahoria sobre la entomofauna del cultivo del repollo. Trabajo de Diploma. 75 págs.
- MIP-Repollo ESAVE, MIP-CATIE Nicaragua. 1990. Manejo del Cultivo del Repollo con énfasis en Manejo intregado de Plagas.32 págs.

- Mc Dowell J. M. , Funderburk J. E. , Boucias D. G. Gilreath M. E. y Lynch R. E
1990. Biological activity of *Beauveria bassiana* against *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Piralidae) on leaf substrates and soil. Entomological Society of America. Vol. 11 Nº. 1.
- Miranda F. Varela.G. 1990. Estimación del nivel de daño económico de la palomilla de la col (*Plutella xylostella* (L) en el cultivo del repollo (*Brassica oleracea* L.) var. Superette. Revista de Escuela de Sanidad Vegetal. Vol. 1 No. 3 pag.10-21
- Miyata T. Saito T. Y Noppun Y. 1986. Studies on the mechanism of Diamondback moth resistance to insecticides. In diamond moth management. Griggs T.D. (ed) Asian Vegetable Research Development Center. Shangua Taiwan.
- Quintela E. Lord C. J. , Wraight P S., Alves B. S. and Roberts W. D. 1990. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (hyphomycetes: Moniliales) to larval and adult *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera:Curculionidae) Journal of Economic Entomology. Vol. 63.No. 4 1276-1279.
- Roberts D. W.1980. Toxins of Entomopathogenic Fungi. Burgues H.D. Microbial Control of Pest and Plant Disease. 1970-1980
- Rueda Pereira A. 1990. Determinación de periodo crítico de *Plutella xylostella* (L) en el cultivo del repollo (*Brassica oleracea* L.) durante la época de apante. Trabajo de diploma. 25 págs.
- Siebeneicher R. S., Vinson B.S. and Kenerley M C 1991. Infection of the Red Imported fire Ant by *Beauveria bassiana* through. various routes of exposure. 1992 Journal of Invertebrate pathology. 2559. 280-285.

Steinhaus Edward A. 1968. Enfermedades Microbianas de los Insectos.
Capítulo 18 en: Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas
Hierbas. Paul Debach. Pags 617-619. Instituto del libro. Habana, Cuba.

Tabashnik B. C. N. , Finson N., Johnson M. 1990. Field development of
resistence to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth
(Lepidoptera : Plutellidae). Entomological Society of America. Vo. 83
No. 5

Varela G. 1981 Efectividad de cuatro insecticidas en el control de larvas
de *Plutella maculipennis* (curtis) y *Leptophobia arisa* (Bolds) en el
cultivo del repollo (*Brassica oleracea*) var. Superette. Trabajo de
Diploma. ISCA, Managua.

Wilding N. 1981. The pathogens of Diamondback moth and their potential
for its control. A review in: Diamondback Moth Managemment. Griggs
T.D.(ed) Asian Vegetable Research Development Center. Sangua,
Taiwan.

Wright E James, Chandler D Laurence 1991. Laboratory evaluation of the
entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the Boll Weevil
(Curculionidae:Coleoptera). Journal of invertebrate pathology, 58.
448- 449 págs.

- Guharay F. 1986. Problemática de la producción hortícola en la VI Región y sugerencias para su superación. Informe técnico. DGEIA. Managua Mimeografiado.
- Gutiérrez S.C. 1991 Control de Larvas de *Plutella xylostella* (L) con la mezcla *Beauveria bassiana* mas Nu-Film 17. Tesis de Maestría. CATIE. Costa Rica.
- Hayden P.T Bidochka J M and Khachatourians G G 1992. Entomopathogenicity of several fungi toward The English Grain aphid (Homoptera:Aphididae) and enhancement of virulence with host passage of *Faecilomyces farinosus* . Journal of Economic Entomology. Vol 85. No. 1.
- Ignoffo C.M. García C. Kroha. M. Coveh. T.L. 1982. Use of larvae of *Trichoplusia ni* to bioassay conidia of *Beauveria bassiana* J. Econ. Entomol. Vo. 75 No. 2.
- King. A.N.S. y Saunders J. L. 1984. Las plagas invertebradas en América Central. London, Overseas Development Administracion. 182 Págs
- Knutson E A. and Gilstrap E.F. 1989. Seasonal ocurrence of *Beauveria bassiana* in the Southwestern Corn Borer (Lepidoptera:Pyralidae) in the Texas High Plains. Journal of the Kansas Entomological Society Vol. 63 N^o.2. 243-251.
- Machado E. V. 1992. Efecto de Policultivo repollo-zanahoria sobre la entomofauna del cultivo del repollo. Trabajo de Diploma. 75 págs.
- MIP-Repollo ESAVE, MIP-CATIE Nicaragua. 1990. Manejo del Cultivo del Repollo con énfasis en Manejo intregado de Plagas. 32 págs.