

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA,
FACULTAD DE AGRONOMIA,
ESCUELA DE SANIDAD VEGETAL.**

TRABAJO DE DIPLOMA.

Efecto de la temperatura y métodos de aplicación en la patogenicidad del aislado 38/87 de *Beauveria bassiana* (Bals)Vuill. contra *Plutella xylostella*. (L) (Lepidoptera: Plutellidae).

Diplomante: Br: Gerardo Iván Rodríguez Alberto.

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

**Septiembre, 1995
Managua, Nicaragua.**

INDICE

CONTENIDO	págs.
INDICE DE CUADROS.....	I
INDICE DE FIGURAS.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
PRESENTACION.....	V
RESUMEN.....	VI
I. INTRODUCCION.....	1
II. MATERIALES Y METODOS.....	6
2.1 Ubicación del Bioensayo.....	6
2.2 Cría de <i>P. xylostella</i>	6
2.3 Producción de <i>B. bassiana</i>	7
2.4 Diseño del bioensayo.....	8
2.5 Procedimiento del bioensayo.....	9
2.6 Procesamiento de los datos.....	10
III. RESULTADOS	11
IV. DISCUSION.....	16
V. CONCLUSIONES.....	19
VI. RECOMENDACIONES.....	20
VII. BIBLIOGRAFIA.....	21

I. INDICE DE CUADROS

Cuadro Nº	Págs.
i Análisis de varianza en mortalidad a diferentes temperaturas y diferentes métodos de aplicación.....	12
ii Comparación de medias por (Tukey=0.05%) Para la variable mortalidad bajo cinco niveles de temperatura y dos método de aplicación.....	13
iii Comparación de medias por (Tukey=0.05%) para la variable mortalidad por dos método de aplicación.....	14
IV Valores de tiempo letal medio (TL ₅₀) y límites fiduciales para cinco niveles de temperatura por el método de inmersión.....	15
V Valores de tiempo letal medio (TL ₅₀) y límites fiduciales para cinco niveles de temperatura por el método de aspersión.....	15

II. INDICE DE FIGURAS

Figura Nº	Págs.
i. Efecto de <i>Beauveria bassiana</i> en larvas de <i>P. xylostella</i> a diferentes temperaturas, bajo dos métodos de aplicación.....	11

III DEDICATORIA

A Dios, por darme la fuerza necesaria para concluir con una meta más en mi vida y por haberme provisto de las personas que me apoyaron en la finalización de este trabajo.

A mi querida familia, que con su esfuerzo y dedicación me han sabido guiar en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi novia Elizabeth Espinoza Ramirez.

A mi querido tío, Orlando Rodríguez que se encuentra descansando en la paz del señor.

IV AGRADECIMIENTO.

Mi Sincero Agradecimiento a:

La Escuela de Sanidad Vegetal por todas las facilidades brindadas en la elaboración y conclusión del presente trabajo particularmente al Ing MSc. Arnulfo Monzon

Mi asesor Ing Hector Rodríguez Aburto. por toda su ayuda en la finalización del presente trabajo. El Dr. Falguni Guharay.

A los miembros del sub-proyecto Hongos Entomopatogenos del proyecto CATIE/INTA. MIP, en la elaboración de este trabajo.

Técnica superior: Dilcia Ponce. por su ayuda en el laboratorio de cría de insectos, al profesor José Antonio Díaz Balladares por su valiosa colaboración.

Mis amigos: Carlos López, Hiparco Loáisiga, Dilma López.

VI RESUMEN

Con el objetivo de darle seguimiento al manejo de *Plutella xylostella* (L) considerada como plaga principal del cultivo del repollo (*Brassica oleracea* (L)), Se evaluó el efecto que ejercen las temperaturas sobre el aislado 38/87 de *Beauveria bassiana*. (Bals) Vuill, realizado en el laboratorio de control microbial de la Universidad Nacional Agraria, (U.N.A.). Managua, Nicaragua.

Las temperaturas evaluadas fueron 23, 25, 26, 28, 30 °C. con 75% de humedad relativa y una misma concentración 10^8 conidias/ml, aplicando las conidias a las larvas por el método de inmersión y aspersion de las hojas de repollo. La prueba de Tukey estableció diferencias significativas entre tratamientos siendo la temperatura de 26 °C la más óptima en la mortalidad de larvas, para ambos métodos, con porcentajes de mortalidad por aspersion de 87.2% e inmersión con 81.7%, seguido de las temperaturas de 30 °C con 73.4% inmersión y 70.9% aspersion. Los valores más bajos del ensayo se obtuvieron con un porcentaje de 37.0% para la temperatura de 23 °C por el método de aspersion. El analisis de varianza realizado para determinar el nivel de significancia entre ambos métodos de aplicacion, resultó con diferencias significativas. El método de aplicacion influye en los resultados de bioensayos. Se encontró que la inoculacion de larvas por inmersión resulta más eficiente en la mortalidad de larvas.

Los valores de TL_{50} (Tiempo letal medio) variaron en dependencia de la temperatura siendo el TL_{50} más bajo en la temperatura de 30 °C por el método de inmersión con 0.72 días después de la inoculacion, seguida de la temperatura de 26 °C con 2.52 días después de la inoculacion. Por el método de aspersion se obtuvo mejores resultados en las temperaturas de 26 y 28 °C con 1.15 y 6.37 días respectivamente.

I. INTRODUCCION

El repollo (*Brassica oleracea* (L.)) Familia Cruciferae: Tribu *Brassicae*, es una de las hortalizas de mayor consumo en nuestro país después del tomate. Se consume en estado fresco como también procesado. La producción de este rubro está en manos de pequeños y medianos productores, cooperativas (MIP-repollo, 1990). Se estima que el costo promedio de producción por hectárea para la región Centro Americana oscila entre U.S. \$ 800.00 y U.S. \$1,342.00 de los cuales se invierten entre 20 y 30% en el control de plagas, particularmente en el combate de la palomilla del repollo *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (CATIE,1990).

P. xylostella es conocida como oruga verde del repollo, palomilla del repollo ó polilla de la col. El repollo , brocoli y otras del género *Brassicae* son sus principales plantas hospederas. Los primeros estadios se alimentan en la superficie inferior de las hojas, dejando ventanas de la epidermis intactas, a veces pueden minar el tejido de la hoja. Las larvas mayores perforan las hojas haciendo muchos agujeros irregulares de mayor importancia cuando las larvas penetran en el corazón y otras partes comerciables de la planta (King y Saunder, 1984).

El uso indiscriminado de insecticidas posiblemente ha provocado resistencia en *P. xylostella* y ha destruido la fauna benéfica, permitiendo de esta manera el surgimiento de nuevas plagas como *Leptophobia aripa* (Boisd) y *Ascía monuste* (L). Los métodos tradicionales de control como son las aplicaciones candelarizadas de

insecticidas, sin ningún criterio ecológico, no demuestran ser eficientes; sino que han generado una serie de problemas para la salud y desequilibrio ecológico. Los insecticidas usados comunmente (Decametrin, Methomyl y Metamidofos), ya no son efectivos contra *P. xylostella*; el único producto que se ha mantenido promisorio para el control de *P. xylostella* es Dipel (Varela, 1987); sin embargo, se ha reportado que *P. xylostella* ha desarrollado resistencia al *Bacillus thuringiensis* sub especie kurstarki (Tabashnik et al, 1990).

En Nicaragua se han hecho estudios para el manejo de esta plaga, como la siembra en la época adecuada, uso de recuento de plaga, cultivos intercalados, uso de productos botánicos y biológicos (Barahona, 1990; Miranda, 1992).

Una alternativa para el manejo de *P. xylostella*, es el uso de hongos entomopatógenos, tales como el género *Beauveria*. Existen Alrededor de 700 especies de hongos entomopatógenos y aproximadamente 100 se conocen con cierta profundidad. Sólo seis especies han sido debidamente registradas para uso en el control de plagas (Robert, et al. 1991), citado por Quiroz et al (1994). El control microbiano trata de usar racionalmente los patógenos (virus, bacterias, hongos nemátodos, protozoarios y ricketsias), para mantener las poblaciones de plagas por debajo de los niveles económicos.

Asi mismo, el control microbiano es considerado como la meta principal de la patología de insectos la cual esta definida como "el estudio de las enfermedades de los insectos", involucrando: Etiología, sintomatología y epizootiología, con vistas a utilizarlos en el control de plagas o con el objetivo de controlarlas cuando estas ocurren en insectos útiles. (Alves, 1986).

Los hongos fueron los primeros microorganismos que se reconocieron como causantes de enfermedad en los insectos. La mayoría de las micosis en los insectos son causadas por hongos de los ordenes Hyphomycetes y Entomophthorales (Lipa, 1975) citado por Barrios (1992).

B. bassiana Pertenece a la clase: Deuteromycetes, Orden: Hyphomycetes, Genero: *Beauveria*, Especie: *bassiana*. Son un grupo establecido provisional y artificialmente: Se caracterizan por que su reproducción sexual aún no ha sido observada. Entre los Deuteromycetes se distinguen cuatro subgrupos: Hyphomycetes, Sphaeropsidales, Coelomyces y Micelia sterilia (Bessey, 1950) citado por Barrios (1992). Los primeros estudios de *Beauveria* acerca de su uso como agente para el control biológico fué hecho por Tangen (1893), desde entonces muchos investigadores han estudiado el efecto de *B. bassiana* en varias especies de insectos. Este hongo tiene un amplio rango de hospedantes, es conocido como muscardina blanca y tiene especificidad por insectos del orden Coleoptera, afectando diferentes estados de desarrollo. (Ferron, 1978) citado por Jiménez (1994).

La germinación de conidias de *B. bassiana* ocurre en un período de 12 horas después de la inoculación. El hongo penetra por vía del integumento, debido a una acción mecánica o efectos enzimáticos el que dura cerca de 12 horas, transcurridas 72 horas el hongo presenta una total colonización, habiendo grandes cantidades de conidióforos y conidias cracterísticos de la especie. Las diferentes fases del ciclo de la relación patógeno-hospedero dependen de la especie de insecto y de las condiciones reinantes, estas condiciones son: Humedad relativa y Temperatura (ALVES, 1986). Una larva infestada se vuelve peresoza 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 blanco y momificado y el contenido del cuerpo es blanco y polvoso. Cuando la larva momificada permanece en una atmósfera seca no se ve ningún signo externo del hongo, sin embargo cuando se pone al aire húmedo, los conidioforos rompen todo el integumento y aparece el micelio blanco sobre la superficie del insecto. (Steinhaus, 1968).

Los hongos entomopatógenos similares a otros hongos son dependientes para su desarrollo, longevidad y dispersión de varias condiciones cuya interacción constituye el macro y micro ambiente. La germinación de las esporas fungales móviles o unidades infectivas son el proceso fisiológico primario que debe ocurrir antes que la infección pudiera darse. Las condiciones que son desfavorables para las esporas del hongo son principalmente temperatura alta, baja humedad y luz solar que puede afectar severamente su longevidad y germinación sobre el insecto. (Yendol y Hamlen, 1973).

El medio ambiente afecta muchas veces la virulencia, estabilidad, persistencia, dispersión y transmisión de los patógenos, la resistencia y susceptibilidad de los hospederos, y la interacción entre patógenos y hospedero (Tanada, 1967.). Frecuentemente hay un efecto marcado sobre el insecto en laboratorio con alta temperatura y humedad, pero los resultados de ensayos de campo son diferentes. Las condiciones ambientales son importantes en la regulación de epizootias en las poblaciones de insectos. La humedad es el factor físico que afecta la

iniciación y desarrollo de las epizootias en el campo, no así la temperatura que ejerce efecto directo sobre el hongo, dentro de ciertos rangos.

En Nicaragua se han conducido estudios para conocer la incidencia *B. bassiana* y posible uso contra insectos dañinos, tales como la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), donde se le aplicó conidias de *B. bassiana*. (Barrios, 1992). El presente trabajo tiene como objetivo final conocer el efecto de temperaturas sobre el aislado del hongo, con dos métodos de aplicación (inmersión y aspersión) y escoger condiciones estandarizadas de biensayos.

II. MATERIALES Y METODOS.

2.1 UBICACION DEL BIOENSAYO

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Control Microbial de la Universidad Nacional Agraria (U.N.A) Managua, Nicaragua.

2.2 CRIA DE *Plutella xylostella*

Insectos en estado adulto, pupas y larvas fueron colectados en el campo y se trasladaron al laboratorio de cría de insectos de la Universidad Nacional Agraria (U.N.A) en donde se estableció un pie de cría de larvas de *P. xylostella*.

Los adultos se colocaron en jaulas con cedazo, se les proporcionó alimento (solución líquida) a base de miel de abejas y vitamina E. Para la alimentación de larvas y oviposición, se establecieron semilleros de repollo, variedad King Cole que se sembraron en maceteras de arcilla pequeñas que se mantuvieron en el invernadero. Se hizo traslado de 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 revisaron periódicamente las plantas en las jaulas de oviposición. Cuando hubo un alto grado de oviposición, los huevos se trasladaron a jaulas de larvas, donde se colocaron plantas frescas.

2.3 PRODUCCION DE *Beauveria bassiana*.

El aislado 38/87 *B. bassiana* fué facilitado por el sub-proyecto hongos entomopatógenos del proyecto CATIE/INTA-MIP. La colecta y el aislamiento del hongo fueron realizadas por el laboratorio del sub-proyecto de hongos entomopatógeno, siendo aislado de *coleopterus sp* proveniente de Managua.

La producción de *B. bassiana* se hizo de acuerdo a la metodología de los técnicos del sub-proyecto de hongos entomopatógenos del proyecto CATIE/INTA-MIP.

MATRICES: El método de producción del hongo empieza con la preparación de las matrices hechas a base de arroz húmedo depositados en frascos de erlenmeyer a razón de 50g por frasco y luego autoclavados. El hongo crece y esporula ocho días después de la inoculación de las matrices con una suspensión de conidias del hongo proveniente de un cultivo puro.

BOLSAS: Las matrices son lavadas con agua estéril con 0.1% de Extravón hasta obtener una suspensión con la cual se inocula arroz precocido depositado en bolsas de polypropylene y autoclavado a 1.2 bar durante 15 minutos.

BANDEJA: Cuando el hongo empieza a germinar es depositado en bandeja de plástico para facilitar el secado y luego la cosecha de las conidias la cual se realiza a través de un vibrador mecánico compuesto por un tamiz el cual se mueve de forma horizontal por un motor electrico.

COSECHA Y CONTROL DE CALIDAD: Una vez obtenido el polvo se determina el peso, concentración de conidias a través de una cámara **Neubauer** y el porcentaje de viabilidad por medio de conteo de conidias usando medio de cultivo a base de Papa-Dextrosa-Agar(PDA).

2.4 DISEÑO DEL BIOENSAYO.

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio de control microbiano de la Universidad Nacional Agraria (U.N.A.), evaluándose dos métodos de aplicación (inmersión y aspersión de larvas), con cinco temperaturas 23, 25, 26, 28, 30 °C, respectivamente.. Se utilizaron un total de 30 larvas por repetición y se realizaron cuatro replicas por cada temperatura . El diseño utilizado fue un DCA en experimento factorial, evaluándose los dos factores.

Los datos de mortalidad fueron corregidos utilizando la fórmula de Abbot (1925). **% Respuesta corregida = $\frac{a-b}{a} \times 100$**

a = Porcentaje sin respuesta en el testigo.

b = Porcentaje sin respuesta en el tratamiento.

Con los datos de mortalidad corregida se realizó un análisis de varianza bifactorial, utilizándose prueba de Tukey para la separación de medias.

2.5 PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO

Se utilizó la cepa 38/87 de *B. bassiana* donde se tomaron con una espátula 0.01grs de polvo y se colocaron en tubos de ensayo conteniendo 100ml de agua destilada con tween-80 (0.01%), luego se realizó el conteo de conidias con la cámara de **Neubauer** obteniéndose la concentración de 10^8 conidias/ml, para ambos métodos de aplicación (aspersión e inmersión).

Para la inoculación del hongo por **inmersión** de larvas en la solución acuosa, se utilizaron platos petri pequeños donde se depositaron las larvas del II instar, las cuales se sumergieron, por espacio de 5 segundos aproximadamente con posterior escurrimiento en papel toalla y se depositaron sobre discos de hojas de repollo previamente desinfectados con alcohol al 70% eliminando el exeso con papel toalla por espacio de 5 minutos.

Para el método de **aspersión** se colocaron las larvas en cada plato petri, y luego se asperjó el hongo con un nebulizador manual, sobre las hojas de repollo, que luego fueron utilizadas como alimento para las larvas. Las larvas se colocaron en la incubadora a una determinada temperatura de 23, 25, 26, 28 y 30 °C con 75 % de humedad relativa para ambos métodos.

Para el tésigo fueron sumergidas las larvas en agua estéril, cada larva se colocó con su alimento en vasos individuales de una onza utilizándose un tésigo para cada temperatura.

Los recuentos fueron hechos cada dos días después de la inoculación para ambos métodos de aplicación. Para las larvas que fueron encontradas vivas al segundo día después de la inoculación, se procedió al cambio de alimento con discos de hojas de repollo previamente desinfectadas y lavadas con alcohol al 70 %. Las larvas encontradas muertas fueron colocadas en cámara humedad para observar la esporulación de las mismas.

2.6 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos fueron procesados en el centro de computos de la Universidad Nacional Agraria.(U.N.A.).

El análisis de los datos se hizo a través los siguientes programas:

- a). frances dosee letale (versión 4.0), para obtener el TL_{50} para cada temperatura
- b). Se utilizó el programa SAS, para hacer un analisis de varianza bifactorial y la separación de medias por Tukey.

III. RESULTADOS

La mortalidad acumulada para cada temperatura (23, 25, 26, 28, 30 °C) presenta un comportamiento ascendente hasta el cuarto día, periodo después del cual nuevos casos de mortalidad son pocos, para ambos métodos de aplicación (Figura 1).

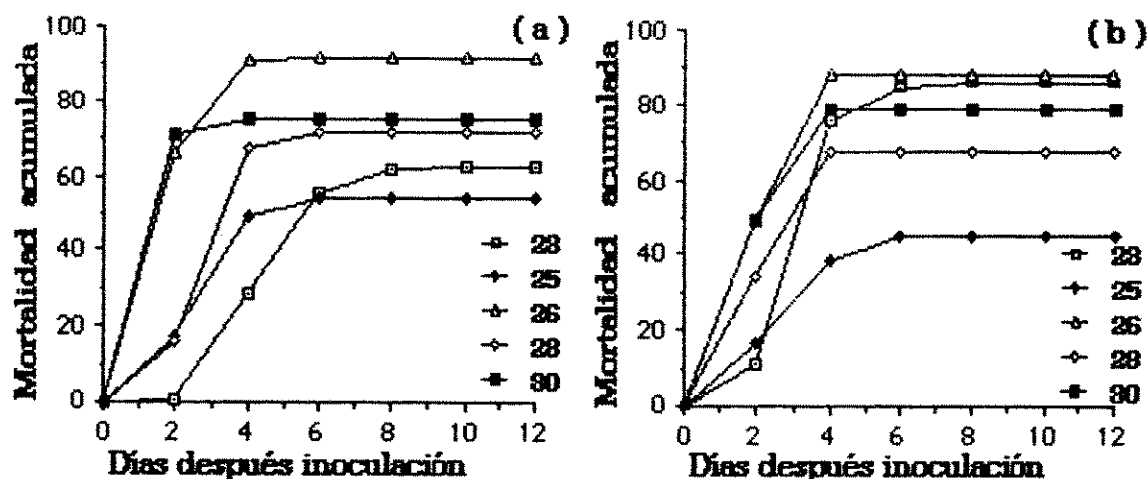


Figura 1. Efecto de *B. bassiana* en larva de *P. xylostella* con diferentes temperaturas, bajo dos métodos de aplicación (a= Aspersión, b= Inmersión).

El mayor porcentaje de mortalidad de larvas se dio a la temperatura de 26 °C para ámbos método, en relación a la mortalidad obtenida para el resto de temperaturas. La mortalidad es afectada significativamente por las temperaturas (cuadro 1), en ambas condiciones de aplicación, variando para la aplicación foliar en las temperaturas extremas de 23 °C desde 3,33 - 66,78 % y 30 °C desde 63,33 - 80 % que obtuvo mejores resultados.

La interacción entre temperatura y método de aplicación es significativa, siendo evidente el efecto que ejerce el método de aplicación en la mortalidad de larvas de *P. xylostella* a diferentes temperaturas. Hubo una diferencia altamente significativa entre métodos de inoculación. (cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis de Varianza en mortalidad a diferentes temperaturas y con diferentes métodos de aplicación .

Fuente	GL.	S.D.C	CM (r^2)	FC	Pr>F
T ^o	4	5802.00	1450.50	17.33	0.0001*
MA	1	688.40	688.40	8.22	0.0075*
T ^o *MA	4	1890.35	472.58	5.55	0.0016*

Las diferencias significativas entre las temperaturas para ambos método de aplicación refleja que existe un rango específico de temperatura para que el aislado cause una mayor mortalidad en larvas de *P. xylostella*. El efecto de las temperaturas es gradual y continuo dentro de los rangos probados de lo cual se desarrolla el aislado (cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias (Tukey=0.05%) para la variable mortalidad bajo cinco niveles de temperatura y dos métodos de aplicación (1=Inmersión, 2=Aspersión).

Método de aplicación	Temperatura	Medias	
2	26 °C	87.21	a
1	26 °C	81.795	ab
1	30 °C	73.465	abc
2	30 °C	70.983	abc
1	23 °C	70.970	abc
1	28 °C	61.935	bcd
2	28 °C	61.583	bcd
1	25 °C	57.355	cde
2	25 °C	47.220	de
2	23 °C	37.058	e

Nota: Los valores con la misma letra no tienen diferencias significativa .

La prueba de Tukey con un 95% de confianza establece que el método de inmersión resultó ser más eficiente en el control de larvas de *P. xylostella* (cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias (Tukey=0.05) para la variable mortalidad por dos métodos de aplicación (inmersión, aspersión)

Método de Aplicación	MEDIAS
Inmersión	69.106 a
Aspersión	60.810 b

Nota: Los valores con la misma letra no tienen diferencias significativas.

La temperatura de 30 °C presenta TL₅₀ más bajo por inmersión, seguido de la temperatura de 26 °C que obtuvo un TL₅₀ para ambos métodos de aplicación bajo al compararlo con el resto de temperaturas, siendo las más óptimas para matar larvas de *P. xylostella* (cuadro 4 y 5).

Cuadro 4. Valores de tiempo letal medio (TL₅₀) y límites fiduciales para cinco niveles temperatura por el método de inmersión de larvas.

Temperatura	TL ₅₀ (dias)	Limite Inferior	Limite superior	Ecuación
23 °C	5.0	2.9	8.4	$y=3.53839+2.08951 * x$
25 °C	8.11	4.7	13.8	$y=3.70270+1.42676 * x$
26 °C	2.52	0.9	6.9	$y=4.60393+0.98289 * x$
28 °C	7.05	3.7	13.3	$y=4.31229+0.81075 * x$
30 °C	0.72	0.02	17.6	$y=5.03035+0.21899 * x$

Cuadro 5. Valores de tiempo letal medio (TL₅₀) y límites fiduciales para cinco niveles de temperaturas por el método de aspersion.

Temperatura	TL ₅₀ (dias)	Limite Inferior	Limite Superior	Ecuación
23 °C	10.58	7.6	14.61	$y=2.26005+2.67420 * x$
25 °C	14.46	5.6	37.0	$y=3.75865+1.06979 * x$
26 °C	1.15	0.4	2.6	$y=4.95681+0.68503 * x$
28 °C	6.37	2.26	17.89	$y=3.75865+1.04010 * x$
30 °C	---	---	---	$y=5.13995+0.10012 * x$

IV. DISCUSION

El aislado 38/87 de *B. bassiana* se desarrollo y produjo mortalidad en *P. xylostella* al ser expuestas a temperaturas de 23, 25, 26, 28, 30 °C, siendo similar a lo encontrado por (Robert y Yendol 1971) citado por Lecuona y Alves (1988) donde determinan que el rango de temperatura para el hongo entomopatogeno *B. bassiana* está entre 20 y 30 °C. La mortalidad se observa a las 24 horas, los insectos mostraron coloración rosada y rigidez del cuerpo. Algunas larvas mostraron movimientos lentos con la misma coloración y crecimiento del micelio. otras larvas se mostraron muy activas hasta después de 48 horas. No siempre existen síntomas aparentes de micosis (micelio sobre el cuerpo del insecto), en algunos casos las larvas no presentaron en su totalidad síntomas de micosis , Robert (1981) citado por Barrios (1992) afirma que no todas las temperaturas son favorables para la conidiogenesis

La mortalidad encontrada a los doce días después de la inoculación fue similar a lo encontrado por López (1993), donde los aislados CB-32 y 64-88 resultaron altamente patogénicos contra *P. xylostella*. Los resultados mostraron que las conidias producidas en arroz causaron 70.39 % de mortalidad para CB-32 y 81.50 % para 64-88. La cepa 117 de *B. bassiana* más Nu-film provocó una mortalidad de 75 a 85 % contra larvas de *p. xylostella* (Gutiérrez, 1991).

El método de aplicación influye en los resultados de bioensayos. La interacción significativa entre la temperatura y método de aplicación, que resultó al realizar el analisis de varianza, nos permite afirmar que el efecto de temperaturas depende directamente del método de aplicacion,

que resultó al realizar el análisis de varianza, esto nos permite afirmar que el efecto de temperaturas depende directamente del método de aplicación, notándose el mejor resultado por el método de inmersión, donde las larvas son sometidas a un mayor tiempo de exposición con el hongo, donde probablemente mayor número de conidias pegan en la cutícula.

Los métodos de aplicación resultaron ser significativamente diferentes al compararlos mediante prueba de Tukey resultando más eficiente *B. bassiana* por el método de inmersión, debido al contacto directo a que son sometidas las larvas con el hongo. Gutiérrez (1991) señala que el método de inmersión es el más efectivo para usarse en ensayos de laboratorio. Wright (1991) reporta que la aplicación externa de conidias de *B. bassiana* en *Anthonomus grandis* (Boh) en condiciones de laboratorio tiene como resultado micosis letal.

La mortalidad aumenta a medida que la temperatura aumenta, comparando cada una las medias para ambos métodos de aplicación, siendo las temperaturas de 26, 28, 30 °C las que permiten al hongo causar una mayor mortalidad en larvas de *P. xylostella*, deduciéndose que las temperaturas entre de 26 °C y 30 °C son óptimas para que el aislado sea efectivo en el control de larvas, resultado similar encontró Simandl (1988) donde *B. bassiana* ejerce mejor control para la temperatura de 26°C contra *Trichiocampus viminalis* (Fall) bajo dos tipos de condiciones de laboratorio.

El TL₅₀ alcanzó valores bajos para todas las temperaturas con la concentración 10⁸ conidias/ml, variando un poco en lo encontrado en la literatura. Gutiérrez (1991), al evaluar la mezcla de *B. bassiana* (cepa

117) más Nu-Film 17 con 2 tipos de aplicación, siendo de 3.56 - 10.94 días para aplicación foliar y 4.11 - 8.54 días por inmersión de larvas. Hayden *et al* (1992) usando *B. bassiana* contra *Sitobion avenae* (F), obtuvo un TL₅₀ de 9,5 días. Marcandier y Khachatourians (1987), encontraron un TL₅₀ de 7.3 - 8.10 días contra *Melanoplus sanguinipes* (FAB), expuestas a temperaturas de 26-28 °C. Barrios (1992) encontró un TL₅₀ de 5 - 7.6 días al evaluar la virulencia de *B. bassiana* contra *Hypothenemus hampei* (Ferr) para la concentración de 10⁶ y 10⁸ Conidias/ml.

El TL₅₀ también se ve afectado por el método de aplicación observándose mejores resultados con el método de inmersión, debido a que las larvas permanecen en contacto directo con el hongo y por consiguiente a un mayor tiempo de exposición.

La mortalidad para cada uno de los ensayos expresado en porcentaje mostró cambios cuantitativos que variaron según las temperaturas y el método de exposición; los que se consideran importantes en la realización de trabajos a nivel de laboratorio. Simandl (1988) reafirma que el éxito de la infección depende de muchos factores: 1) concentración de conidias, 2) virulencia del hongo, 3) susceptibilidad del hospedero, 4) condiciones del medio ambiente ó otros factores.

La mortalidad de adultos de *P. xylostella* por *B. bassiana* es baja comparado con larvas y pupas. En los bioensayos realizados fueron encontrados adultos con micosis bajo las temperaturas de 23, 28, 30°C resultando 2, 5, y 1 adultos muertos en el tratamiento inmersión larvas.

V. CONCLUSIONES

- 1) El método de inmersión resultó en mayor mortalidad y menor TL_{50} , encontrándose diferencias significativas.
- 2) La mortalidad varió con respecto a la temperatura siendo la temperatura de 26 °C por ambos métodos, la que mejores promedios obtuvo seguido de la temperatura de 30 °C por aspersión, aunque no se pudo distinguir estadísticamente. La temperatura 25 °C obtuvo los promedios de mortalidad más bajos.
- 3) El TL_{50} se vió afectado por el método de aplicación siendo los valores más bajos por el método de inmersión. La temperatura de 30 °C obtiene el TL_{50} más bajo por inmersión, seguido de la temperatura de 26 °C por el método de aspersión, al compararlo con el resto de temperaturas.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda estandarizar las temperaturas en bioensayos futuros y Utilizar la temperatura de 26 °C ya que se obtuvo mayores mortalidades.
2. Sugerimos realizar los bioensayos con el método de aplicación por inmersión.
3. Continuar estudios con otros factores del medio ambiente como: luz, Humedad relativa etc, para considerarlos e incorporarlos en futuras evaluaciones de *B. bassiana* a nivel de campo en los programas de manejo integrado de plagas.

VII. BIBLIOGRAFIA

- ALVES, S. B. 1986. Controle microbiano de insectos. Manole primera edición. Sao Paulo, (Brasil). 407 p.
- ANDREWS, L. K. 1984. El manejo integrado de plagas invertebradas en cultivos agronómicos, hortalizas y frutales en la escuela agricola panamericana. MIP (Honduras.) 37 p.
- BARRIOS, A. M. 1992. Producción y virulencia de algunas cepas del hongo entomopatogeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin. Contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (FERRARI) Tesis Msc CATIE, Turrialba, (C. R.) 47 p.
- BARAHONA, Z. L. 1990. Efecto de insecticidas botánicos y biológicos sobre la entomofauna presente en el cultivo del repollo (*Brassica oleracea*) var Superette. Tesis Ing Agrónomo. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 37 p.
- CATIE, 1990. Guía para el manejo integrado del cultivo de repollo. CATIE. Proyecto regional MIP. Turrialba, (C. R.) 80 p.
- GUTIERREZ, S. C., 1991. Control de larvas de *Plutella xylostella* (L) con la mezcla *Beauveria bassiana* más Nu-Film 17. Tesis de maestría. CATIE. Turrialba, (C. R.) 73 P.

- HAYDEN, P. T., BIDOCCA J. M. & KHACHATOURIANS G. G. 1992. Entomopathogenicity of several fungi toward the English Grain Aphid (Homoptera: Aphididae) and Enhancement of virulence with host passage of *Paecilomyces farinosus*. Journal of Econ. Entomology. vol 85(1): 58-64.
- JIMENES, C. M. 1994. Uso de hongos entomopatógenos para el manejo del picudo del algodón. en. Uso de hongos Entomopatógenos para manejo de plagas en Nicaragua. Informe final del Proyecto Hongos Entomopatógenos. Managua, Nicaragua. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario. Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORADASDI) (1991-1994). P. 23-29.
- KING, A. N. S. & SAUNDERS, J. L. 1984. Las plagas invertebradas en America Central. London, Overseas. Development Administration 182 p.
- LECUONA, R. E. & ALVES, S. E. 1988. Efficiency of *Beauveria bassiana* (Bals) vuill, *B. brongniarti* (Sacc) Peth. and granulosis virus on *Diatraea saccharalis* (F., 1794) at different temperatures. Journal Applied Entomology. 105(3): 223 - 228.
- LOPEZ, M. A. 1993. Evaluación de la susceptibilidad relativa de *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Plutellidae) a tres aislados de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. Tesis Ing Agronomo. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. 26 p.

- MARCANDIER, S. & KHACHATOURIANS, G. G. 1987. Suceptibility of the Migratory Grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Fab) (Orthoptera: Acridae) to *Beauveria bassiana* (BALS) Vuillemin (Hyphomycete): Influence of relative humedity. Can Entomologist. 119(10): 901 - 907.
- MIP-REPOLLO-ESAVE, MIP-CATIE. Nic, 1990. Manejo del cultivo del repollo con énfasis en manejo integrado de plagas. 32 p.
- QUIROZ, I. & JIMENEZ, C. M. 1994. Disponibilidad de aislados patogénicos de hongos entomopatógenos para el manejo de plagas insectiles de importancia de la región. En. Uso de hongos entomopatógenos para manejo de plagas en Nicaragua. Informe final del proyecto hongos entomopatógenos. Managua, Nicaragua. Ministerio de agricultura y Ganaderia. Centro Nacional de Diagnóstico Fitosanitario. Proyecto CATIE-INTA/MIP (NORAD-ASDI) (19991-94). P.5-16.
- SIMANDL, J. 1988. Comparison of *Beauveria bassiana* effecto in *Trichiocampus viminalis* (Fall) (Hymenoptera.,Tenthredinidae) larvae under two types of laboratory conditions. Journal of Applied Entomology. 105(2): 141-143.
- STEINHAUS, E. A. 1968. Enfermedades Microbianas de los insectos: Enfermedades muscardinas en. DEBACH, P.ed Revolucionaria Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas Hierbas. Instituto del libro. La Habana, Cuba. p. 617 - 619

- TABASHNIK, B. C. N., FINSON, N., JOHNSON, M. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamond back moth (Lepidoptera: Plutellidae) Entomology Society of America. 83(5): 1671-1676.
- TANADA, Y. 1967. Microbial pesticides: Enviromental Factors. en. Kilgore, W. W. & Doult, R. L. eds Academic Press. Pest control. New york. P. 31-88
- VARELA, G. 1987. Efectividad de cuatro insecticidas en el control de de larvas de *Plutella maculipennis* (Curtis) y *Leptophobia aripa* (Bols) en el Cultivo de Repollo (*Brassica oleracea*) vr superette. Trabajo de Diploma. Instituto superior de ciencias agropecuarias-MANAGUA, Nicaragua. 71pp.
- WRIGHT, J. E. and CHANDLER, L. D. 1990. Laboratory evaluation of the entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* against the boll weevil (Curculionidae: Coleoptera). Journal of Invertebrate Pathology. 58: 448-449.
- YENDOL, W. G., & R. A. HAMLEN. 1973. Ecology and entomogenous viruses and fungi. Annals New York. Academy of Science. 217, 18-30.