

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA-LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA**



**PATOGENICIDAD DE DOS CEPAS DE *Beauveria bassiana* EN SALIVITA  
(*Aeneolamia sp.*) EN EL LABORATORIO DEL CAMPUS AGROPECUARIO  
UNAN – LEON-2008.**

PREVIO PARA OPTAR AL TITULO DE INGENIERA EN AGROECOLOGIA  
TROPICAL.

**AUTORES:**

BR. HEIDY MARINA ACOSTA GÓMEZ.  
BR. MARIA DE LOS ANGELES GUTIÉRREZ ROBELO.

**TUTORA:**

LIC. MARCIA DEL SOCORRO GÓMEZ VEGA.

**ASESORA:**

LIC. PATRICIA MARIA CASTILLO ALTAMIRANO.

**León, Nicaragua 2009.**

## INDICE

	Páginas
Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	iii
I. Introducción.....	1
II Objetivo. ....	3
III. Hipótesis .....	4
IV. Marco Teórico .....	5
4.1 Taxonomía de la caña de azúcar .....	5
4.2 Constituyentes de la caña de azúcar.....	5
4.3 Condiciones Agro climáticas para la producción de caña de azúcar.	6
4.4 Insectos asociados.....	7
4.5 Ciclo de vida del género <i>Aeneolamia sp.</i> .....	8
4.6 Manejo del salivazo.....	10
4.7 Hongos Entomopatògenos.....	10
4.8 Género <i>Beauveria bassiana</i> .....	10
4.8.1 Morfología de <i>Beauveria bassiana</i> .....	10
4.8.2 Taxonomía. ....	11
4.8.3 Ciclo de vida.....	11
4.8.4 Modo de entrada de <i>Beauveria bassiana</i> .....	12
4.8.5 Modo de acción de <i>Beauveria bassiana</i> .....	12
4.8.6 Germinación.....	13
4.8.7 Formación de apresòrio.....	13
4.8.8 Penetración.....	13
4.8.9 Colonización.....	14
4.8.10 Reproducción del patògeno.....	14
4.8.11 Síntomas.....	14
4.9 Patogenicidad y virulencia.....	14
4.10 Características del as cepas 114 y 121.....	15
4.11 Ventajas del uso de Hongos Entomopatògenos.....	15
4.12 Impacto ambiental de los Hongos Entomopatògenos.....	15
4.13 Uso actual y futuro de Hongos Entomopatògenos.....	16
V. Materiales y Métodos.....	17
5.1 Reactivación de las cepas.....	17
5.2 Recolección de muestras de salivita <i>Aeneolamia sp</i> en campo... ..	17
5.3 Desinfección de alimentos e insectos.....	17
5.4 Preparación de la suspensión fungosa y conteo de conidias.....	17
5.5 Montaje de la prueba de mortalidad de la cepa 114 y 121... ..	18
5.6 Prueba de viabilidad.....	18
5.7 Montaje de Bioensayos de Patogenicidad.....	19
5.8 Análisis de los resultados... ..	20
VI. Resultados y discusión... ..	21
VII. Conclusiones. ....	28
VIII. Recomendación.....	29
IX. Bibliografía.....	31
X. Anexos .....	32

## **RESUMEN**

El uso excesivo de plaguicidas en el cultivo de la caña de azúcar, *Zacharum officinarum*, ha incrementado el riesgo de intoxicaciones en trabajadores agrícolas y consumidores. Una alternativa para contrarrestar el uso de estos productos es el control biológico. Esta investigación se llevó a cabo con el fin de evaluar la Patogenicidad de las cepas 114 y 121 del hongo *Beauveria bassiana* (Balls Vuill) como perspectivas para el manejo de salivita *Aeneolamia sp*, plaga clave en el cultivo de caña de azúcar, Determinar el tiempo de mortalidad del hongo *Beauveria bassiana* en salivita *Aeneolamia sp* y Seleccionar la cepa mas efectiva contra salivita *Aeneolamia sp* con miras a la reproducción a escala experimental. Las pruebas realizadas fueron reactivación de las cepas 114 y 121 en *Aenolamia sp*, recolección de muestras de Salivita *Aeneolamia sp*. en campo, prueba de mortalidad de la cepa 114 y 121 en *Aenolamia sp*, prueba de viabilidad y Bioensayo de Patogenicidad. La toma de datos se realizó cada dos días, por un periodo de 15 días, donde se evaluó el tiempo de mortalidad y el número de muertos. En la prueba de esporulación se obtuvo un porcentaje del 26%, en la cepa 12 y 45% para la cepa 114. El comportamiento total de la mortalidad de la cepa 121 fue de 50% y 39.3% para la cepa 114 creemos que los factores como: la susceptibilidad del organismo y condiciones ambientales influyeron directamente sobre el índice de mortalidad en la cepa 114. De acuerdo a los resultados obtenidos de este estudio decimos que la cepa 114 presentó buenos resultados en esporulación y 121 presento mejores resultados en mortalidad, en el estudio de el hongo *Beauveria bassiana* en salivita *Aeneolamia sp*. en el cultivo de *Zacharum officinarum*.

## **DEDICATORIA**

Ofrezco a DIOS y a la Virgen María por brindarme el don de la vida y todos los momentos de preocupación cansancio y alegrías que me llevó la realización de este trabajo.

Dedico especialmente este trabajo a mis padres: José Ángel Gutiérrez y Amanda Robelo, ya que siempre han estado conmigo dándome su amor, apoyo y abnegación alentándome a seguir adelante en cada paso grande o pequeño de mi vida.

También se lo dedico a mis hermanas: Jessenia, Amanda, Francis, que con alegría y consejos me enseñaron a seguir cada día, a mis sobrinitas Nataly y Maryeli, por los momentos en que sus risas me brindaron una pequeña ayuda para seguir adelante, a mis tíos, abuela y primos que con su apoyo emocional me dieron la mejor de las ayudas para ver finalizada esta meta.

***Maria de los Ángeles Gutiérrez Robelo.***

## **DEDICATORIA**

- A mis padres Sra. Silvia Gómez y Sr. Henry Acosta por su apoyo, esfuerzo, sacrificio en la realización de este trabajo y por el amor que me han dado el cual me permite ser mejor persona cada día más.
- A mi hijo Joshuar Magdiel por ser mi inspiración día a día para terminar este trabajo.
- A mi esposo Mario Rojas por su interés, comprensión y apoyo en todo momento.

***Heidy Marina Acosta Gómez.***

## **AGRADECIMIENTO**

A DIOS y a la Virgen Maria por ser el soporte más importante en nuestras vidas: por darnos la fuerza para seguir siempre adelante y superar los tropiezos y dificultades encontradas, por guiarnos en el camino con bien y verdad; permitiéndonos culminar nuestros estudios.

A nuestra tutora, Lic. Marcia Gómez, que con mucha paciencia esmero y dedicación nos brindo su ayuda incondicional para la elaboración de este trabajo monográfico.

A nuestra asesora, Lic. Patricia Castillo por su ardua labor en brindarnos ayuda en cada momento que necesitamos, por sus consejos, sugerencias y todas las indicaciones que nos hizo en la realización de este trabajo.

A todos nuestros profesores, por su abnegación, por habernos dado lo mejor de sus conocimientos sin pedir nada a cambio, por inculcar en nuestros valores responsabilidad, honestidad, puntualidad y por prepararnos para poder desempeñar nuestros conocimientos en el mundo profesional.

**¡MUCHAS GRACIAS!**

## **I. INTRODUCCIÓN**

La caña de azúcar *Zacharum officinarum* es una de las plantas de más alto rendimiento y de producción a nivel nacional ya que ocupa un área de siembra de 73,000 mz. Con una producción de azúcar de 517, 830 TM al año. La importancia económica de la caña de azúcar es en primer lugar que suministra sacarosa para azúcar blanca o moreno, tiene aproximadamente 40 Kg./tn de melaza, materia prima para la fabricación del ron, se pueden sacar unos 150 Kg/tn de bagazo, la producción de Etanol para consumo interno y exportación y el suministro de 80 MW de energía renovable durante zafra.

La producción de caña de azúcar genera aproximadamente unos 100,000 empleos y las exportaciones de esta son de 80 millones de dólares al año. En la mayoría de los países productores de caña de azúcar se presentan pérdidas más o menos graves. Bajo el nombre de plaga de caña de azúcar se suelen designar aquellos insectos que atacan a las plantas ocasionándoles algún daño, entre estos se encuentra la *Aeneolamia sp*, conocida como salivita, candelilla o meón, perteneciente a la familia Cercopidae, Orden Homóptera. El ciclo de vida es de más o menos dos meses y se inicia con la época húmeda del año. La salivita *Aeneolamia sp*, ocasiona daños principalmente en la época de lluvia y por las noches se adhieren a las raíces superficiales hasta entrar en ellas chupando la savia de las raíces segregando espuma blanca. Se estima que el coeficiente de pérdidas puede alcanzar un valor de 12.82 libras de azúcar por toneladas métricas por cada un adulto por tallo, al año el área afectada es de 17,513Ha, de las cuales 4,568 Ha mostraron daños severos.

Para el manejo de esta plaga existen una serie de prácticas culturales y productos sintéticos y bioplaguicidas que han sido utilizados con resultados variados. El control biológico con hongos Entomopatògenos es una práctica común en muchos países productores de caña como Guatemala, Cuba y Brasil que están incorporando en sus programas de fitoprotección alternativas menos contaminantes al ambiente y la salud humana y han alcanzado resultados hasta de 85% de control de *Aeneolamia sp*. y *Prosapia sp*.

En Nicaragua la alta dependencia de la producción a productos sintéticos que aumentan los costos de producción, las nuevas políticas regionales ambientales sobre protección del medio ambiente obliga a las instituciones de

investigación buscar alternativas que permitan reducir el impacto del uso de los plaguicidas. En ese sentido esta investigación pretende evaluar las cepas 114 y 121 del hongo *Beauveria bassiana* en salivita *Aeneolamia sp*, que permita presentar otra alternativa de manejo de plagas que pueda incorporarse en los programas de manejo de salivita en Caña de azúcar.

## **II. OBJETIVOS**

### **GENERAL.**

Evaluar la patogenicidad de las cepas 114 y 121 del Hongo *Beauveria bassiana* en ninfas de *Aeneolamia sp* .salivita En el Laboratorio de Hongos Entomopatogenos, Cámpus Agropecuario de la UNAN- León 2008.

### **ESPECIFICOS**

Determinar el tiempo de mortalidad causado por el hongo *Beauveria bassiana* en *Aeneolamia sp* en condiciones de laboratorio. (Laboratorio de Hongos UNAN-León.)

Comparar la patogenicidad de las cepas 114-121 del hongo *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio.

Seleccionar la cepa mas efectiva contra salivita *Aeneolamia sp* con miras a la reproducción a escala experimental.

### **III. HIPÓTESIS.**

Ho: Las cepas evaluadas de *Beauveria bassiana* no causarán mortalidad a *Aeneolamia sp* en condiciones de laboratorio Cámpus Agropecuario UNAN-León 2008.

H<sub>1</sub>: Al menos una de las cepas de *Beauveria bassiana* causará mortalidad (efectividad) en *Aeneolamia sp* en condiciones de laboratorio Campus Agropecuario UNAN-León 2008.

#### **IV. MARCO TEÓRICO**

La caña de azúcar *Zacharum officinarum L.* es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula

un jugo rico en sacarosa compuesto que al ser extraído y cristalizado en el ingenio forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis.

#### **4.1 Taxonomía de la caña de azúcar.**

##### **4.1.1 Generalidades de la caña de azúcar**

La caña de azúcar (*Zacharum officinarum*) procede originalmente de Asia, es una planta herbácea perenne, se adapta a condiciones climatológicas asociadas al clima tropical y subtropical, presenta una amplia tolerancia a la altura ya que se adapta desde el nivel del mar hasta los 1623 m.s.n.m.

##### **Clasificación Taxonómica:**

**Familia:** *Gramíneae*

**Tribu:** *Andropogonea*

**Género:** *Zacharum*

**Especies:** *Zacharum officinarum*, *Zacharum sinensi*, *Zacharum barberi*.

Pertenece a la familia de las gramíneas, género *Zacharum*. Las variedades cultivadas son híbridos de la especie *officinarum* y otras afines (*spontaneum*,) (consultado en [www.perafan.com](http://www.perafan.com)).

Procede del Extremo Oriente, de donde llegó a España en el siglo IX. España la llevó a América en el siglo XV. Es un cultivo plurianual. Se corta cada 12 meses y la **plantación dura aproximadamente 5 años.**

Tiene un tallo macizo de 2 a 5 metros de altura con 5 ó 6 cm. de diámetro. El sistema radicular lo compone un robusto rizoma subterráneo; puede propagarse por estos rizomas y por trozos de tallo. La caña tiene una riqueza de sacarosa del 14% aproximadamente, aunque varía a lo largo de toda la recolección.

La hoja de la caña nace en los entrenudos del tronco. A medida que crece la caña las hojas más bajas se secan, caen y son remplazada por la que aparecen en los entrenudos superiores. También nacen en los entrenudos las yemas

que bajo ciertas condiciones puede llegar a dar lugar al nacimiento de otra planta. Los factores que intervienen en la producción de caña de azúcar son: suelo, clima, agua enfermedades y plagas, (consultado en [www.elpalmar.com.ve](http://www.elpalmar.com.ve)).

La caña de azúcar es posiblemente el cultivo tropical de mayor eficiencia en la fotosíntesis y en los mecanismos de producción de biomasa, por ser una planta de tipo C<sub>4</sub> tiene la mayor capacidad para utilizar las altas intensidades de energía solar con un requisito reducido de agua y poder producir 3,8 veces más energía que los cereales, (consultado en [www.perafán.com](http://www.perafán.com)). El ser un cultivo perenne le permite una captura permanente de la energía solar, a pesar que la cosecha de la planta se realiza aproximadamente cada año, su máxima capacidad de rebrotes le permite varias cosechas sucesivas a partir de la siembra inicial. Por lo general las renovaciones del cultivo se realizan cada 4 – 8 años, esto logra disminuir los costos de producción ya que permite hacer un uso mas eficiente del agua y del suelo.

#### **4.2 Constituyente de la caña.**

El tronco de la caña de azúcar está compuesto por una parte sólida llamada fibra y una parte líquida, el jugo que contiene agua y sacarosa. En ambas partes también se encuentran otras sustancias en cantidades muy pequeñas. Las proporciones de los componentes varían de acuerdo con la variedad de la caña, edad, madurez, clima, suelo, método del cultivo, abono, lluvia, riego, etc. Los valores de referencia general pueden ser: agua 73-76 %, Sacarosa 8-15 % y Fibra 11-16 %. La sacarosa del jugo es cristalizada en proceso como azúcar, la fibra constituye el bagazo una vez molida la caña. (consultado en [www.elpalmar.com.ve](http://www.elpalmar.com.ve)).

### **4.3 Condiciones agroclimáticas para la producción de caña**

#### **4.3.1 Características del suelo**

**Profundidad:** Los suelos deben ser fácilmente penetrables al menos hasta 50-70 cm. de profundidad.

**Color:** los mejores suelos en nuestro medio son aquellos que tiene el primer horizonte de color marrón gris o superior de color marrón , marrón grisáceo o marrón rojizo, que indica un drenaje regulado.

**Estructura:** la estructura granular bien desarrollada, o aquella de pequeños agregados, es la mejor.

**Textura:** La caña de azúcar acepta texturas medias (suelos o arcillosos) y de esta manera, los suelos tendrán cantidad de arcilla para almacenar agua y nutrientes para la caña; arena que despliega, aumenta los espacios y facilita el movimiento de agua, oxígeno y limo, que proporciona alimento a través de sus coloides.

**Lluvia:** la caña de azúcar, con fines agrícolas, requiere un óptimo de lluvia que va entre 1.500 – 1.700 mm anuales altamente distribuidos. Las deficiencias de agua deben suplirse con riego y los excesos con buenos drenajes

#### **4.3.2 Condiciones climáticas.**

**Temperatura:** la mayor producción se logran con temperatura de 25 y 26° C con un rango permisible de 20° C, ya que cuando las temperaturas son menores el crecimiento de la caña es más lento.

**4.3.3 Métodos de riego:** los sistemas de riegos más utilizados en la caña de azúcar son:

- Sistemas de riego por surco.
- Sistemas de riego por aspersión, (aspersores y pivotes central)
- Sistemas de riego por fluming.

#### **4.3.3 Condiciones climáticas**

**Temperatura:** la mayor producción se logran con temperatura de 25 y 26° C con un rango permisible de 20° C, ya que cuando las temperaturas son menores el crecimiento de la caña es más lento.

**Germinación:** las temperaturas óptimas para el brote de las estaquillas deben ser de 30 a 34° C ya que el ahijamiento es muy reducido al elevarse las temperaturas.

**Fertilización:** puede hacerse con el abono 15-15-15 suplementado con urea o preparar una fórmula propia con superfosfato, fosfato diamónico, cloruro de potasio y urea. (consultado en [www.elpalmar.com.ve](http://www.elpalmar.com.ve)).

#### 4.4 Insectos asociados al cultivo

Existen un sin número de plagas que atacan la caña de azúcar, bajo el nombre de plagas de la caña de azúcar se suelen designar aquellos insectos que atacan a la planta causándole algún daño como es salivita o salivazo también conocida como mosca pinta, baba de culebra o chinche salivosa, comprende 11 géneros aproximadamente 360 especies de Cercópodos registrado en el neotrópico de los cuales entre 20 -30 son plagas de gramíneas, los géneros principales son *Aenolamia sp*, *Deois sp*, *Mahanarvas sp*, *Prosapia sp* y *Zulia sp*. (consultado en [www.elpalmar.com](http://www.elpalmar.com)). todos pertenecen al orden Homóptera, familia Cercópidae. Es una plaga del continente americano que tiene una amplia distribución geográfica que va desde el sureste de los Estados Unidos de América hasta el noroeste de Argentina y una distribución altitudinal que va desde los 0-3000 msnm.

La salivita es una plaga que se desarrolla en muchas especies de planta, se reportan daños serios en el cultivo de caña de azúcar, maíz, arroz y numerosas áreas silvestres como pasto para alimentar ganado. Este insecto causa grandes daños a la caña de azúcar, siendo las especies del género *Aeneolamia* la plaga principal. (consultado en WWW.ORTON.CATIE.AC.CR.).

La salivita es una plaga de invierno, es en este periodo donde puede causar daño, sus ninfas segregan una masa espumosa con aspecto de saliva en la que se envuelven para protegerse del ambiente. La salivita *Aeneolamia sp*, es un insecto chupador que se alimenta exclusivamente de la savia de las plantas que extraen del xilema. Las ninfas se alimentan en las raíces superficiales y en los tallos en la base de la planta, por lo que cuando se presentan infestaciones altas causan estrés hídrico, retrazando el crecimiento de la planta y por lo tanto la producción de biomasa (consultado en WWW.ORTON.CATIE.AC.CR)

Los adultos se alimentan exclusivamente de la parte aérea en las láminas foliares y tallos de la planta. El insecto clava su estilete para succionar la savia en forma continua, interrumpiendo solo al cambiar su sitio de alimentación, picando continuamente sitios adyacentes y extrae grandes cantidades de savia; el exceso de líquido lo secreta por el ano en forma de pequeñas gotas, por lo cual también se le conoce vulgarmente como mión o meón. Al succionar la savia inoculan enzimas aminolíticas y oxidantes provocando una fitotoxemia en la planta (consultado en WWW.ORTON.CATIE.AC.CR). El estado patológico se manifiesta en pocos días, con la aparición de manchas lineales cloróticas, que paulatinamente se tornan amarillas y luego necróticas; como consecuencia de esto disminuye la capacidad fotosintética de las plantas, afectando el crecimiento y consecuentemente la producción de materia seca. Cuando se presentan infestaciones altas, las plantas presentan un panorama denominado “quema” en plena época de lluvias. La planta, en estas condiciones presenta baja calidad nutricional y es afectada la palatabilidad, por lo que el ganado rechaza las plantas afectadas, situación que ocurre en plena época de lluvias. Los daños causados por los adultos de salivazo en los pastos son proporcionales a su población y en infestaciones moderadas causan disminución del contenido de nutrimentos y calidad de producción, y en infestaciones severas causan el secamiento del follaje (consultado en ORTON. CATIE. AC. CR)

Las ninfas del género *Aeneolamia* crecen dentro del suelo y chupan los nutrientes de las raíces. Los adultos del insecto al alimentarse del follaje, al igual que las ninfas, inyectan una toxina que produce necrosis o secamiento (tostadura). Los huevos del insecto se pueden encontrar a una profundidad de 12 cm. según el tipo de suelo.

La Humedad Relativa (HR) influye en la eclosión de los huevos y la sequía incrementa su mortalidad por lo que la época de verano es la propicia para controlar esta plaga. (Lacayo. R, 2004)

La diversidad taxonómica de la salivita implica una variación biológica que se manifiesta en la duración de cada etapa del ciclo de vida. El desafío para el manejo de este insecto es establecer los patrones poblacionales de cada

especie en las diferentes regiones, lo que permite tomar decisiones sobre estrategia de control. (consultado en ORTON. CATIE. AC. CR).

#### **4.5 Ciclo de vida del género *Aeneolamia***

El insecto llamado salivita comprende tres estadios que son: **Huevos** (10-20 días) para la eclosión. Estos huevos presenta una coloración amarilla cremoso recién ovipositados, son alargados con una longitud de 1mm y 0.3 mm de diámetro con superficie lisa. La humedad relativa influye notablemente en la duración del período de incubación en condición de humedad del 80 ò 90% y temperatura de 26°C los huevos incuban en un periodo de 15 días, a baja humedad relativa el período de incubación puede prolongarse a 20 ó 30 días y en ocasiones se inhibe la incubación y los huevos entran en diapausa que puede durar varios meses hasta que las condiciones sean favorables. **Ninfas** (30-35 días) recién eclosionadas se encuentran desprovistas de zonas quitinizadas, son sumamente activas e inmediatamente buscan refugio en las partes húmedas y sombreadas de la base de la planta e inician su alimentación, situándose generalmente en las raíces secundarias o tallos de la planta hospedera, generalmente la posición de la alimentación es con la cabeza hacia abajo. Se caracterizan principalmente por la masa de espuma o “saliva” que produce que sirve de defensa de enemigos naturales y como protección de condiciones climáticas adversas. Las ninfas presenta cinco estadios, en el primer y segundo estadio las ninfas son de color blanco cremoso con manchas color naranja-rojizo, en el tercer y cuarto estadio el color pasa a ser café amarillento, las manchas se observan difusas, su abdomen es abultado debido a la alimentación y masa espumosa. El quinto estadio es una etapa de transición entre el estado ninfal y el adulto. La ninfa deja de secretar la saliva y completa la formación de sus alas, y aunque inicialmente se observan descoloridas, estas cambian su coloración a través del tiempo. La duración de la fase ninfal depende de la especie de salivita y de las condiciones ambientales. **Adultos** (15-20 días) presenta inicialmente un color blanco y permanece inmóvil durante varias horas dentro de la masa espumosa. Al contacto con el aire, el cuerpo y las alas van adquiriendo lentamente su coloración normal por oxidación de sus pigmentos El macho de *Aeneolamia sp.* mide de 7-8 mm de largo y la hembra es ligeramente más

grande, sus dimensiones son de 8-9 mm de largo y de 5-6 de ancho. El cuerpo tiene una forma oval, la cabeza es de color oscuro o negro brillante, tiene ojos simples (ocelos) muy cercanos uno del otro, aparte de los ojos compuestos que se encuentran desarrollados. (consultado en ORTON. CATIE. AC. CR).

#### **4.6 Manejo de salivazo.**

La estabilidad ecológica y la autorregulación son características de los ecosistemas naturales que se pierden cuando el hombre modifica las comunidades naturales, mediante el establecimiento de monocultivos extensos generalmente con plantas genéticamente similares o idénticas y seleccionadas por su mayor palatabilidad.

La disminución en la producción del cultivo de caña de azúcar *Zacharum officinarum* se debe al mal manejo de una de las principales plagas que afectan este cultivo como es salivita *Aeneolamia sp.* y las continuas aplicaciones de productos químicos lo que hace que estas presenten resistencia a estos productos, por lo que es necesario encontrar alternativas que ayuden a disminuir las poblaciones de plagas y a la vez contrarresten los daños causados al ambiente y a la salud humana como son hongos entomopatògenos se ha utilizado como controlador biológico de insectos plagas. (consultado en ORTON. CATIE. AC. CR)

#### **4.7 Hongos Entomopatogenos.**

El empleo de hongos entomopatogenos en campo comenzó a finales del siglo XIX. Los hongos entomopatògenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plagas. El género más estudiado para el control de plagas es: *Beauveria bassiana*, el cual fue uno de los primeros hongos entomopatògenos en ser descritos. Este hongo es conocido desde 1836 como el agente causal de la “muscardina blanca” en los gusanos de seda *Bombix morí L*, desde entonces es considerado un organismo importante en el control biológico de insectos. El hongo fue descubierto por Bassi de Lodi, el que mostró la naturaleza patogénica y contagiosa del hongo infectando al gusano de la seda y también desarrollo medidas para controlar la enfermedad. *Beauveria bassiana* es conocido por su amplio rango de hospederos y distribución geográfica. Su patogenicidad se ha probado contra más especies

de insectos que cualquier otro hongo (Bustillo, 1991, citado por Gallegos et, al 2003).

#### **4.8 Género *Beauveria bassiana***

##### **4.8.1 Morfología de *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* tiene conidios globosos o sub globosos, conidióforos formando densos cachos, posee una capa de micelio blanco algodonoso que envuelve al insecto, con granulaciones pequeñas del mismo color. En el medio de cultivo se describe como una colonia blanca de apariencia algodonosa y esponjosa, en el que se denotan pequeñas esferas (como nieve) de color crema pálida en la parte inferior. Puede ser capaz de iniciar epizootias a densidades altas y bajas del hospedero (Alves, 1986).

Este hongo presenta estructuras que son visibles al microscopio llamadas fialidas o células conidiógenas que tienen una base globosa o sea en forma de botella y se extienden apicalmente en grupos densos. Estas fialidas presentan un raquis que es denticulado y se extiende apicalmente con un conidio por denticulo. El conidio es aceptado, globoso y menor a 3.5 mm para *Beauveria bassiana*. El micelio es de color blanco y los conidios presentan una coloración blanco a crema. Los cadáveres de insectos infectados por *B. bassiana* presentan una cubierta blanca muy densa formada por el micelio y esporulación del hongo. Generalmente, los cadáveres de insectos atacados se momifican quedando adheridos en la planta, principalmente en el envés de la hoja.

##### **4.8.2 Taxonomía de *Beauveria bassiana***

**Reino:** Mycetae

**División:** Amastigomicotina

**Sub división:** Deuteromycotina

**Clase:** Deuteromicetes

**Orden:** Moniliales

**Familia:** Monilaceae

**Genero:** *Beauveria*

**Especie:** *bassiana*

(Alexopoulos y Mims, 1979; Mc Coy et al, Samson, 1988, citado por Gallegos et al, 2003).

#### **4.8.3 Ciclo de vida**

El ciclo de vida de *Beauveria bassiana* comprende dos fases, una patogénica y la otra saprófita. La fase patogénica involucra cuatro pasos principales: adhesión, germinación, diferenciación y penetración. El proceso de infección se inicia con la unión de los conidios del hongo a la cutícula del insecto. Existen sitios preferenciales del tegumento del insecto hospedante donde los conidios se adhieren, germinan y penetran. Estos lugares corresponden a las regiones intersegmentales del insecto donde la composición y estructura es sensiblemente diferente al resto del tegumento. Las condiciones óptimas para la germinación son: temperatura de 23 a 25 °C y humedad del 92%. El conidio germina originando un tubo germinativo en cuyo extremo se diferencia un apresorio cuya función podría ser debilitar la cutícula en los puntos de contacto o simplemente es una transición hacia la formación del pico o estaquilla de penetración. La fase saprófita ocurre dentro del hemocele, con un crecimiento prolífico del hongo. Esta multiplicación del hongo ocurre por germinación produciendo formas micelianas libres y unicelulares llamadas blastosporas y también la producción de hifas. Finalmente, el hongo invade los tejidos y como consecuencia ocurre la muerte del hospedante.

#### **4.8.4 Modo de entrada de *Beauveria bassiana***

El hongo ingresa a través de la cutícula, principalmente por las partes frágiles con la participación de procesos físicos y químicos a través de las enzimas producidas durante la germinación y penetración como quitinazas, proteasas y lipasas que actúan en un orden determinado por el sustrato de la cutícula, primero sobre la porción cerosa de la epicutícula y luego sobre la matriz de proteína y quitina. Previo a la penetración del hongo, hay una actividad metabólica a nivel de apresorio que ayuda a degradar la capa cerosa de la epicutícula, probablemente con enzimas proteasas, amilopeptidasas y esterazas que facilitan el proceso de penetración. Otra vía de entrada es a través del tracto digestivo pero, generalmente los conidios no pueden germinar en el intestino

#### **4.8.5 Modo de acción de *Beauveria bassiana*.**

Los hongos Entomopatógenos actúan principalmente por contacto, el hongo es capaz de penetrar dentro del insecto e invadirlo, provocándole la muerte por micosis. Estos hongos producen sustancias líticas y toxinas que ayudan a la penetración y a inhibir los mecanismos de defensa de los insectos, aún cuando muchas de estas toxinas se producen solo en el interior del insecto. Se ha demostrado que muchas especies de hongos pueden producir, durante su reproducción, metabolitos bio-activos con efectos insecticidas, lo que potencia su acción. Según Alves (1986) las etapas en el desarrollo de una micosis pueden simplificarse en las siguientes:

- 1) Germinación
- 2) Formación de apresorio
- 3) Penetración
- 4) Colonización
- 5) Reproducción

#### **4.8.6 Germinación**

Una buena germinación ocurre en 12 horas a temperatura de 23-30 °C y una humedad relativa de 80%, requiriendo fuentes de nitrógeno, carbono y energía, para la formación de tubo germinativo. La habilidad del hongo para utilizar estos elementos está en función de su agresividad, virulencia, cantidad de esporas (requerida para matar), tiempo de germinación y penetración después a la adhesión de la cutícula de hospedero.

Hay evidencias que indican, que ciertos aislamientos de hongos en Entomopatógenos, como *Beauveria bassiana*, pueden germinar en agua, y la mayoría de ellos sugieren la adhesión de nutrientes, como son las fuentes de carbono y nitrógeno (Clark, 1986 y Grula, 1981, Leger, 1991, citado por Rosas, 2000).

#### **4.8.7 Formación de apresorio.**

En la extremidad del tubo germinativo ocurre una dilatación de hifas formando una estructura denominada apresorio, esta estructura se presenta en *B. bassiana*, *Nomuraea* y *Erynia*, este tubo germinativo penetra por aberturas naturales del insecto (tráqueas, poros y regiones íntersegmentales).

#### **4.8.8 Penetración.**

El crecimiento superficial de los hongos entomopatógenos, previo a la penetración de la cutícula es variable, generalmente ocurre en 24 horas, los estímulos causan la orientación del tubo germinativo de la espóra a través de la cutícula e indican alguna forma de reconocimiento químico como prerrequisito para la penetración. La penetración se divide en dos procesos:

- 1) Físico: Es cuando las hifas rompen áreas membranosas o esclerosadas.
- 2) Químico: Es cuando el hongo produce enzimas como las proteasas, lipasas y quitinasas que facilitan la penetración mecánica. Alrededor del área de penetración, aparecen síntomas de histólisis (descomposición de tejidos por la acción de enzimas). El aparato bucal, ano, regiones inter segmentales son probablemente las áreas más comunes de penetración. Una penetración vía oral puede ocurrir con los siguientes hongos: *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *N. rileyi*, en *Anticarsia gemmatalis* y *B. bassiana* en *Solenopsis* sp.

#### **4.8.9 Colonización**

A partir de la penetración el proceso de la colonización del hospedero, en ese momento se forman pequeñas colonias de cuerpos hifales que se van engrosando y ramificando, la colonización inicia en hemocelos del insecto y luego pasa al resto del cuerpo como: sistema digestivo, cuerpos grasos, tubos de malpighi, sistema nervioso, músculo y tráquea. El tiempo de colonización puede variar entre 76- 120 horas dependiendo del patógeno, del insecto y las condiciones ambientales.

#### **4.8.10 Reproducción del patógeno.**

Después de 4-5 días de muerto el insecto comienzan a emerger las hifas por los espiráculos y regiones íntersegmentales y después de 24-48 horas de

emergencia de las hifas se inicia la formación de conidias, esto se logra dependiendo del patógeno, temperatura, humedad y radiación ultravioleta.

#### **4.8.11 Síntomas**

Los síntomas de las enfermedades pueden aparecer como manchas oscuras en las patas, regiones inter segmentales y distribuidas por todo el tegumento. El insecto deja de alimentarse tornándose flaco y desorientado. Posteriormente el tegumento se torna rosado dependiendo del hongo (*B. bassiana* o *M. anisopliae*), para después tomar una coloración blanquizca, debido al crecimiento del micelio. El cubre toda la superficie del cuerpo, iniciando por los espiráculos y áreas inter segmentales. El crecimiento se da por condiciones de temperatura y humedad favorable. La esporulación y conidiogénesis del hongo que pueden ser reconocidos por la formación polvorienta que recubre todo el cuerpo del cadáver. El cadáver presenta en esta fase coloración variable conforme las especies de hongo que causa la enfermedad (Alves, 1986)

#### **4.9 Patogenicidad y Virulencia**

Patogenécidad es la capacidad de un organismo de provocar una enfermedad. Es un atributo cualitativo, es decir, un micro organismo puede o no ser patogénico. Otro término utilizado es virulencia, este se refiere a la intensidad o grado de la enfermedad, este parámetro es relativo y tiene que ser comparado con otras cepas sobre el mismo hospedero. La virulencia es expresada como porcentaje de mortalidad en dosis letal cincuenta (DL 50) o concentración letal cincuenta (CL50) (Nelson, 1977 citado por Lecuona, 1995).

#### **4.10 Características de las cepas 114 y 121 de *Beauveria bassiana*.**

##### **Cepa 114:**

Su fuente de origen es la broca del café, su procedencia es San Juan de Río Coco (Madriz) en la hacienda El Refugio, su coloración es blanca, crecimiento es uniforme, tiene producción de conidias sueltas, crece en medios de cultivos PDA, MEA. (Papa, Dextrosa, Agar, Extracto de Malta Agar, siglas en ingles). Es patógena para *Hypothenemus hampei*, *Anthonomus grandis*, *Anthonomus eugenii*, *Oevalus insularis*.

**Cepa 121:**

Su fuente de origen es *Nezara*. Su colección se hizo para el año 1993 en León, Nicaragua en el Centro Experimental del Algodón, su coloración es blanca, crece bien en medios de cultivos como PDA, MEA, con producción de conidias sueltas, es patógena para *Nezara sp*, *Hypothenemus hampei*.

**4.11 Ventajas del uso hongos entomopatógenos.**

Los agentes microbiológicos, en particular los hongos entomopatògenos, ofrecen varias ventajas en el control de plagas: bajos costos de producción, bajo impacto ambiental, en particular no tiene efectos secundarios sobre organismos acuáticos y animales de sangre caliente, son más selectivos que los productos químicos adecuados para utilizarse en áreas de producción orgánica y áreas protegidas, la eliminación de residuos es relativamente fácil, basta con exponer el producto un par de días al sol para que las esporas se inactiven casi totalmente. (Milner y Hunter; 2001, Jenkin et al, 1998, citado por Barrientos, 2002).

**4.12 Impacto ambiental de los hongos entomopatógenos.**

Algunos hongos entomopatógenos son bastante específicos, diversos estudios sobre efectos secundarios han indicado que no se pone en riesgo a organismos acuáticos, poco o ningún impacto sobre artrópodos terrestres y no afecta vertebrados o animales de sangre caliente (aunque se recomienda usar el equipo de protección adecuado y no inhalar las esporas), también se señala que no hay efectos notables de *B. bassiana* en insectos voladores (dípteras, himenópteras, lepidópteros, neurópteras y coleópteros), si embargo, las abejas cortadoras de hojas de alfalfa son altamente susceptible a *B. bassiana*. La FAO recomienda el uso de micoinsectidas en áreas sensible. Aunque los trabajos de investigación realizados a la fecha indican bajos o ningún impacto ambiental de hongos entomopatógenos. Es necesario estudiar con precisión el efecto de micoinsecticida disponible sobre insectos que no son plagas y coexisten con especies plagas, a las que se dirige el control. (Milner y Hunter, 2001; Kooyman et al, 1997; Milner, 2002, citado por Barrientos, 2002).

#### **4.13 Uso actual y futuro de hongos entomopatógenos.**

La tecnología para formular y aplicar hongos entomopatógenos en forma eficiente y efectiva ha sido desarrollada. Sin embargo, esta tecnología necesita ser transferida de países en desarrollo donde los costos económicos y ambientales para la aplicación de productos químicos son extraordinarios. Países como México y Brasil están tratando de desarrollar su propia tecnología para el uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas, usando aislamientos nativos y evitando la introducción de cepas exóticas.

Las autoridades responsables de la sanidad vegetal en países en desarrollo deben propiciar la transferencia de tecnologías, la cual permitirá que extensionistas con productores y técnicos de campo se familiaricen con el uso, aplicación y bondades del producto biológico, sobre todo como un elemento importante en Programas de Manejo Integrado. Otro aspecto importante a considerar para lograr el éxito de hongos entomopatógenos, es el estudio del comportamiento, actividad diaria y capacidad termoregulatoria de las especies plagas a controlar, pues muchas de ellas pueden inactivar el efecto del entomopatógenos (Milner et al, 2001, citado por Moreno, 2003).

## **V. MATERIALES Y METODOS.**

Este trabajo se realizó en las instalaciones del laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos, ubicado en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, durante el período comprendido del mes de mayo 2007 – septiembre 2008.

### **5.1 Reactivación de las cepas 114 y 121 en *Aeneolamia* sp.**

La reactivación de las cepas consta en sumergir las ninfas de *Aeneolamia* sp. en la solución del hongo de *Beauveria bassiana*, de las que están preservadas en silica gel, secarlas y ponerlas en vasos con alimentos a base de raíces de caña y luego se observa si hay mortalidad y si hay esporulación, luego que presenten esporulación se raspa del cuerpo del hospedero para sembrar las conidias del hongo en medio de cultivo PDA. (Papa, Dextrosa, Agar).

### **5.2 Recolección de muestras de Salivita *Aeneolamia* sp en campo**

La colección de insectos para evaluar se realizó en la finca La Esperancita propiedad del Ingenio San Antonio: Se realizaron dos colectas y en cada colecta se tomaron muestras de 300 ninfas, estas se colocaron en tazas plásticas donde se les colocó raíces de caña como alimento luego se trasladaron al Campus Agropecuario donde se procedió la desinfección de estos y así mismo el biensayo ver anexo nº 1.

### **5.3 Desinfección de alimento e insectos**

Los insectos fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 2% por un minuto y luego se enjuagaron para eliminar el exceso de hipoclorito. Para alimentar a las ninfas se utilizó raíces de caña de azúcar, las cuales fueron desinfectadas con el procedimiento anterior y se colocaron en platos petri plásticos estériles y se les colocaron las ninfas ya inoculadas la cantidad de alimento empleado fue de 1 onza.

#### **5.4 Preparación de la suspensión fungosa y conteo de Conidias.**

Las cepas 114 y 121 que tenemos en los platos petri fueron raspadas con una espátula estéril, las conidias obtenidas se colocaron en tubos de ensayo con agua estéril y Tween al 0.01%; se agitó para tener una suspensión fungosa homogénea.

Para realizar el conteo de la solución anterior se realizaron dos o tres diluciones seriadas con la solución del hongo en platos petri con medio. Con la última dilución se colocó 1ml en la cámara de Neubauer y utilizando el microscopio óptico se realizó el conteo de conidia. La cámara contiene una serie de cuadrantes, el conteo lo realizamos en los cuadrantes pequeños que tiene un factor de  $4 \times 10^6$ . Se contaron cinco puntos de la cámara, los extremos y el centro para un total de 25 cuadros pequeños y tres repeticiones para cada muestra.

La fórmula para determinar la concentración de conidias por mililitro de solución esta dada por:  $n \times 4 \times 10^6$

Donde:

**n:** Promedio de conidias encontradas en cada muestreo: el total de conidias encontradas fue 102.45

**4 X10<sup>6</sup>:** factor de los cuadrantes pequeños (diámetro/profundidad/volumen)

#### **5.5 Montaje de la prueba de mortalidad de la cepa 114 y 121 en *Aeneolamia* sp.**

Las cepas 114 y 121 de *Beauveria bassiana* que se encuentran en el cepario de hongos entomopatógenos fueron seleccionadas para ser utilizadas en la prueba, debido a que tiene facilidad de crecimiento en medios de cultivos y han sido evaluadas en otros hospederos con excelentes resultados. La técnica de reactivación consiste en someter al hospedero a una concentración del hongo, utilizando la técnica de inmersión, se evalúa la mortalidad causada en base a la esporulación del hongo en el cuerpo del insecto muerto. Las ninfas muertas por efecto del hongo (cepas 114 y 121) se pasaron a esporulación en medios de cultivo con PDA (Papa Dextrosa-Agar) para obtener inóculo primario reactivado en el hospedero y de esta manera pasar a las pruebas de patogenicidad

## 5.6 Prueba de viabilidad

La suspensión fungosa que se emplea debe tener una viabilidad entre 90 y 100%. La prueba de viabilidad permite conocer la cantidad total de conidias capaces de germinar, esta capacidad se mide con una prueba de germinación, colocando unas gotas de la suspensión del hongo en un plato con medio de cultivo (PDA), se pone en el incubador y 24 horas después se cuenta el número de conidias germinadas y no germinadas. Se observaron de 5 a 10 campos de visión del microscopio de manera que lleguen a contabilizarse un mínimo de 200 conidias en total. Mediante una regla de tres se obtuvo el porcentaje de conidias germinadas, a partir del número total de conidias germinadas y el número total de conidias observadas.

## 5.7 Montaje del Bioensayo de Patogenicidad.

Se utilizaron tres concentraciones  $10^{10}$ ,  $10^9$ ,  $10^8$ , para garantizar tener esas concentraciones, tomando en cuenta el resultado obtenido en el conteo de conidias. Se procede a disminuir la concentración utilizando la fórmula propuesta por (Lecouna, 1995), donde se logra conocer la cantidad de hongo a utilizar para realizar el bioensayos.

La fórmula es:  $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$C_1$

Donde:

$C_1$ : Concentración Inicial

$C_2$ : Concentración Final

$V_1$ : Volumen Inicial

$V_2$ : Volumen Final

El método utilizado para el bioensayo es el de inmersión de las ninfas de *Aeneolamia sp.* en la suspensión de conidias con una concentraciones de  $1 \times 10^8$  c/ml, durante 2-3 segundos, luego los insectos se escurren sobre papel toalla para eliminar el exceso de la suspensión sobre sus cuerpos y se trasladan a copas plásticas transparentes de bioensayo, con capacidad de una onza colocando 5 ninfas por copa con alimento fresco, el alimento empleado son raíces que provienen de un lugar donde no se ha aplicado insecticidas.

Las copas se colocaron en bandejas y se dejan en cuarto con condiciones favorables para el desarrollo del hongo, temperatura de entre 25-27 °C y Humedad Relativa de 80%, ver anexo n°1. En las cepas 114 y 121 se hicieron tres pruebas de patogenicidad, utilizamos 24 individuos para cada prueba, 25 para cada concentración y 75 para cada bioensayo, ver anexo n°1.

La lectura sobre mortalidad de los insectos se realizó cada dos días a partir el primer día hasta 15 después de la inoculación y se contabilizaron los insectos vivos y los muertos en base a la esporulación del hongo en el cuerpo del insecto. Una vez hecha la infección se procedió a observar el tiempo de mortalidad y tiempo de esporulación del hongo en las ninfas, esto se realizaba cada dos días, ya muertas las ninfas se trasladaron a cámara húmeda para observar su esporulación. Las variables evaluadas fueron tiempo de mortalidad, tiempo de esporulación, porcentaje de mortalidad. Se calcula el porcentaje de mortalidad a partir de la fórmula de Abbott (1925) que permite corregir la mortalidad producida por el agente causal, frente a la muerte natural. Se emplea solo cuando la mortalidad en el testigo es menor o igual al 10%.

$$MC = \frac{X - Y}{Y} \times 100$$

Donde: MC= es muerte por el agente causal.

X= porcentaje de individuos muertos por el tratamiento

Y= porcentaje de individuos muertos en el testigo.

El porcentaje de individuos muertos por cada cepa, se obtiene mediante una regla de tres: # Total de insectos muertos

# Total de insectos empleados en el bioensayo x 100. (Gómez M, 1995)

## 5.8 Análisis de los resultados

La concentración de conidias expresada en número de conidias por mililitros de la solución como son  $10^{10}$ ,  $10^9$ ,  $10^8$ /ml.

La viabilidad expresada en porcentaje de conidias germinadas, a partir del número total de conidias observadas se realizó una regla de tres para obtener el porcentaje de viabilidad. La patogenicidad con los valores del porcentaje de mortalidad corregida se elaboran gráficas en líneas y para el porcentaje de

esporulación se elaboran gráficos en barras, esto permite ver de manera clara cual de las cepas evaluadas de *Beauveria bassiana* son las promisorias.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 6.1 Reactivación de las cepas 121 y 114 de *Beauveria bassiana* sobre *Aeneolamia sp*

Se realizaron tres pases de reactivación sobre el hospedero con las dos cepas. En la gráfica uno se muestra las mortalidades de cada cepa, podemos observar que en el primer pase de reactivación las mortalidades de ambas cepas fueron entre 12% para la cepa 121 y 25% para la cepa 114. Para el segundo pase la cepa 114 baja el porcentaje de mortalidad, mientras que la cepa 121 aumenta un 13% más en comparación con el primer pase. En el tercer pase de reactivación la cepa 114 logra aumentar solamente un 9% de mortalidad con respecto al primer pase, en cambio la cepa 121 logra 4% con respecto al segundo pase y 17% con respecto al primer pase. Estos datos nos indican que la cepa 121 es la que presenta mayor vigor (actividad) en los índices de mortalidad contra la especie *Aeneolamia sp*

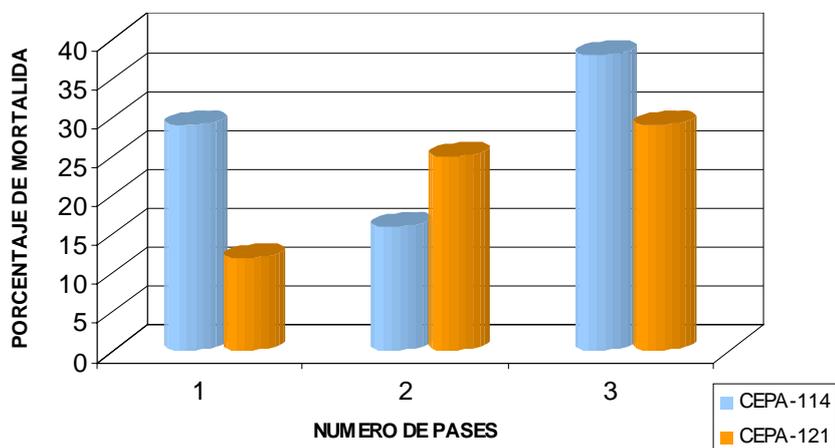
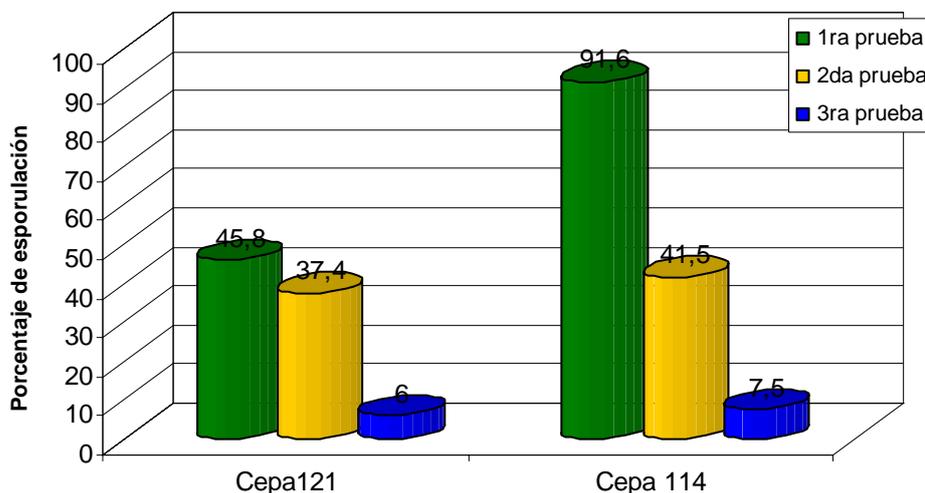


Gráfico. N°. 1 Porcentaje de mortalidad en la reactivación de las cepas 121 y 114 del hongo *Beauveria bassiana*. Laboratorio de Hongos UNAN-LEÓN, 2008.

## 6.2 Pruebas de Esporulaci3n

En la Gr3fica dos se observa el porcentaje de esporulaci3n de las ninfas de salivita *Aeneolamia sp* con la cepa 121 y 114 del hongo *Beauveria bassiana* en tres pruebas realizadas.

En la primera prueba observamos que la cepa 121 alcanza un porcentaje de esporulaci3n de 45.8%, en cambio la cepa 114 logra alcanzar 91.6% de esporulaci3n, es decir present3 el doble de esporulaci3n que la cepa 121. Esto indica que la cepa 121 es una cepa agresiva o sea que se aviva. En cambio en la segunda prueba la cepa 121 present3 37.4 % y la 114 present3 41.5% de esporulaci3n, es decir una diferencia del 4.1% con respecto a la cepa 121. En la tercera evaluaci3n la cepa 121 obtuvo un 6% y la 114 de 7.5% de esporulaci3n. Estos cambios en la respuesta de esporulaci3n del hongo se deben principalmente al estado de susceptibilidad del hospedero y a las condiciones de temperatura y humedad relativa del ambiente (Alves 1986). En el estudio se presentaron problemas en las condiciones ambientales por lo que atribuimos este comportamiento a dicho problema. Ambas cepas tienen niveles bajos de respuesta en el hospedero para considerarlas como potenciales para el manejo de *Aeneolomia sp*



Gr3fico. N3. 2 Porcentaje de esporulaci3n de las cepas 121 y 114 del hongo *Beauveria bassiana*. Laboratorio de Hongos UNAN-LE3N.

En la gráfica tres encontramos el porcentaje de esporulación por concentración y cepas evaluadas. En general observamos que la cepa 121 presentó los mas bajos porcentajes de esporulación entre 12-6% en la diferentes concentraciones utilizadas. Comparando con la cepa 114 que obtuvo porcentajes de 18% y 16% de esporulación en la concentración de  $10^{10}$  y  $10^8$  con la concentración  $10^9$  se obtuvo un porcentaje de esporulación muy bajo, consideramos que se debió a las condiciones ambientales.

Alves, 1986 explica que las condiciones ambientales son las que determinan la esporulación en el hospedero y las epizootias en el campo.

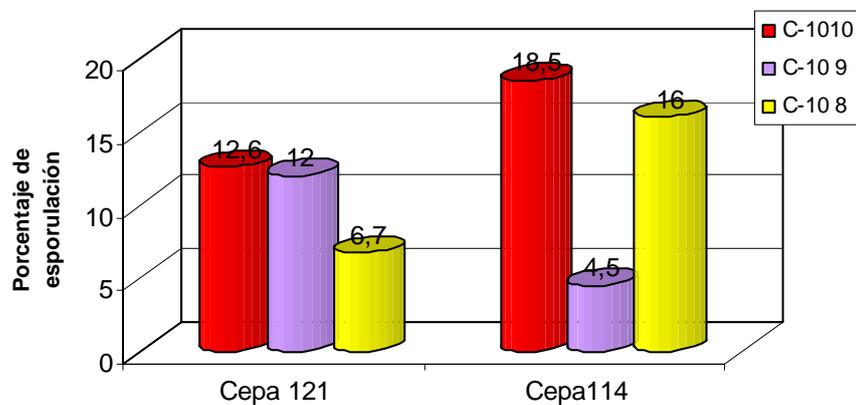


Gráfico N°. 3 Porcentaje de esporulación de tres concentraciones las cepa 121 y 114 del hongo *Beauveria bassiana*. En el laboratorio de hongos UNAN-LEON, 2008.

En la gráfica cuatro observamos el porcentaje total acumulado de esporulación para cada cepa. En la cepa 121 tenemos un 26% de insectos esporulados en cambio en la cepa 114 se alcanzó 45% de los insectos esporulados, los porcentajes son aún muy bajos para considerarlas como cepas vigorosas o agresivas para el hospedero evaluado, se puede considerar a la cepa 114 la que dio mejor respuesta ya que el resultado obtenido de esta cepa fue mas satisfactorio que el de la cepa 121.

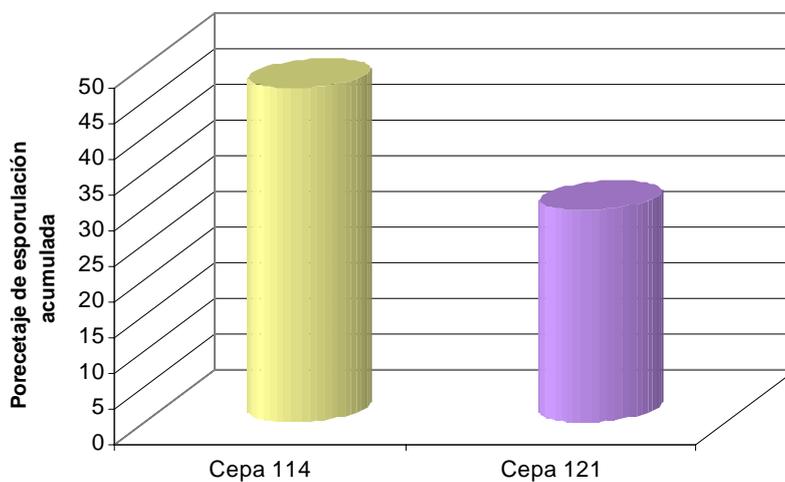


Gráfico. N°. 4 Comportamiento de la esporulación acumulada de las cepas 121 y 114 del hongo *Beauveria Bassiana* en las Laboratorio de hongos UNAN-LEON, 2008.

### 6.3 Pruebas de Viabilidad

En la gráfica cinco podemos observar que las cepas 114 y

121,

tienen alta viabilidad de sus conidias y después de 18 días después de inoculadas se logra en la cepa 114 96% de viabilidad y en la cepa 121 87% de viabilidad, según Alves, 1986 una cepa de calidad debe presentar una viabilidad mayor al 90% por lo que la cepa 114 fue la mas satisfactoria.

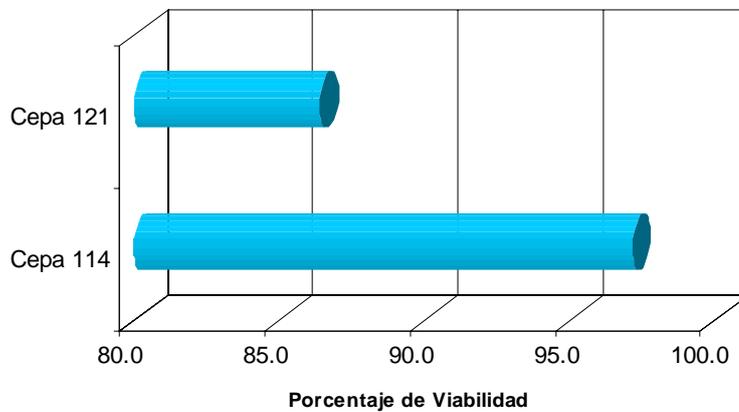


Gráfico N°. 5 Prueba de viabilidad de conidias de las cepas 114 y 121 del Hongo *Beauveria bassiana* laboratorio de Hongos UNAN-LEON, 2008.

#### 6.4 Pruebas de Patogenicidad.

En la gráfica seis se puede observar el comportamiento de las tres pruebas de patogenicidad hechas para la cepa 121 del hongo *Beauveria bassiana*. Los tres bioensayos muestran el mismo comportamiento de mortalidad. Podemos observar que la mortalidad inicia a cinco días después de inoculados (DDI) la primera prueba fue de 12% la segunda de 25% y la tercera 29%. El rango de mayores porcentajes de mortalidad se encuentra entre el séptimo y noveno día después de haberse inoculado. Esto es una característica biológica muy importante, ya que la cepa mantiene su patogenicidad en función del tiempo, esto quiere decir que el hongo sigue causando daño por mas tiempo aun después de varios días de inoculado el insecto, esto nos garantiza que este material responde bien con el hospedero evaluado.

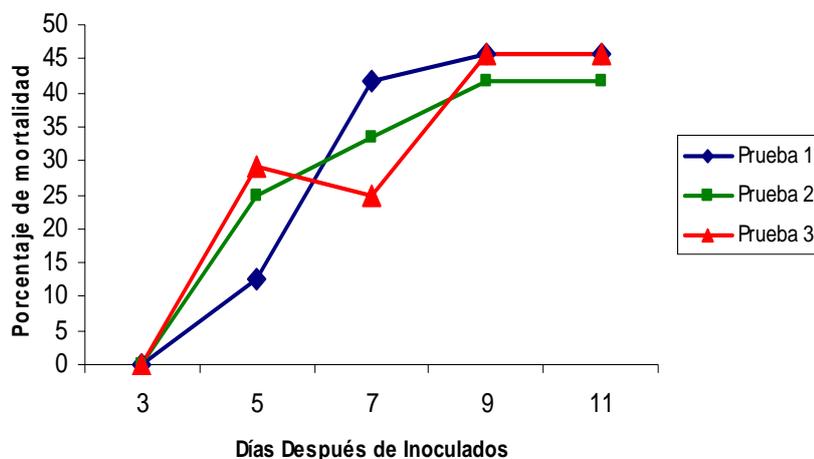


Gráfico N°. 6 Porcentaje de Mortalidad de la cepa 121, del hongo *Beauveria bassiana* laboratorio de Hongos UNAN-LEON, 2008.

En la gráfica siete se explica el comportamiento de las tres pruebas de patogenicidad hechas para la cepa 114 del hongo *Beauveria bassiana*. El comportamiento de mortalidad inicio a los tres días después de haberse inoculado, sin embargo la respuesta de mortalidad del hospedero fue diferenciada en la primera fue de 29% en la segunda 16% y 38% en la tercera prueba. Posterior al tercer día cada prueba tiene un comportamiento de mortalidad diferente en función del tiempo, esto hace que la cepa no tenga buen comportamiento con el hospedero evaluado, esto puede ser debido a susceptibilidad del hospedero o la edad del hospedero. Aunque se obtuvo porcentajes de mortalidad del 42%, aun no se logran los resultados deseados, esto quiere decir que la cepa no esta matando luego del séptimo día lo que hace que disminuya el índice de mortalidad. Lo recomendado por Alves, 1986, para índices de mortalidad son porcentajes mayores del 80%.

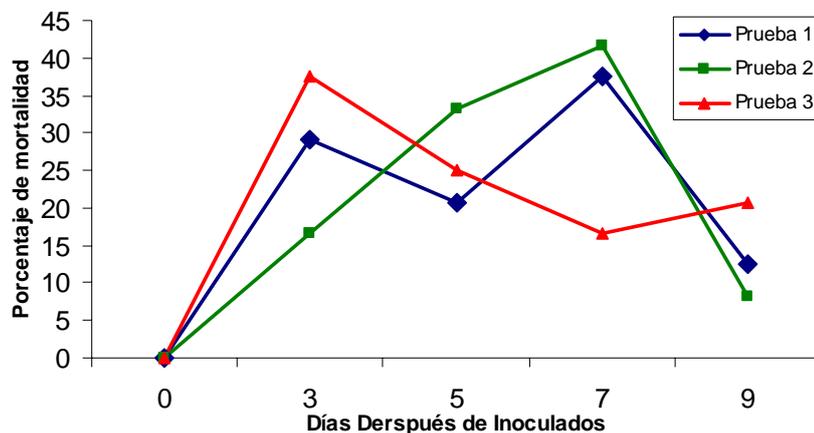


Gráfico N°.7 Porcentaje de Mortalidad de la cepa 114 del hongo *Beauveria bassiana* laboratorio de Hongos UNAN-LEON, 2008.

En la gráfica ocho se expresa el comportamiento de mortalidad de la cepa 121 con diferentes concentraciones  $10^{10}$ ,  $10^9$ ,  $10^8$ , del hongo *Beauveria bassiana*. Podemos observar que desde el día cinco inició la mortalidad de la cepa 121 pero es en ese día que la concentración de  $10^8$  indicaba que estaba causando mayor mortalidad con 58% que las concentraciones  $10^9$  y  $10^{10}$  que alcanzaron mortalidades de 44% y 49% las cuales pudieron ser afectadas por fallas del laboratorio que impidió el buen desarrollo del hongo respectivamente. Todas las concentraciones utilizadas logran su máxima mortalidad a los cinco días después de inoculada, luego baja la mortalidad hasta la mitad de lo alcanzado a los cinco días.

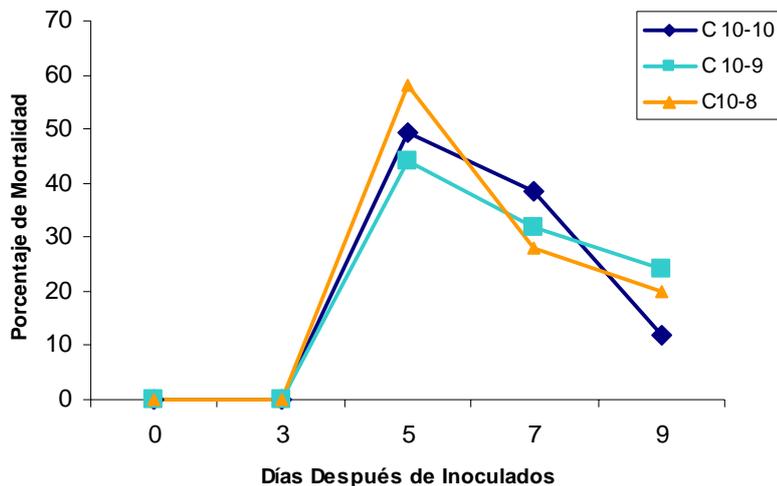


Gráfico N°.8 Porcentaje de Mortalidad de la cepa 121 a diferentes concentraciones del hongo *Beauveria bassiana vuill*. Laboratorio de hongos UNAN-LEON, 2008.

En la gráfica nueve se observa el comportamiento de mortalidad de la cepa 114 con las distintas concentraciones  $10^{10}$ ,  $10^9$ ,  $10^8$ . En este bioensayo podemos observar que la cepa 114 inicia la mortalidad a los tres días después de inoculados para las tres concentraciones alcanzando entre 42-36-40% de mortalidad respectivamente. Posterior al tercer día la mortalidad va decreciendo hasta los nueve días después de inoculados. El rango de mayor mortalidad se encuentra para todas las concentraciones entre tres y los cinco después de inoculado el hospedero.

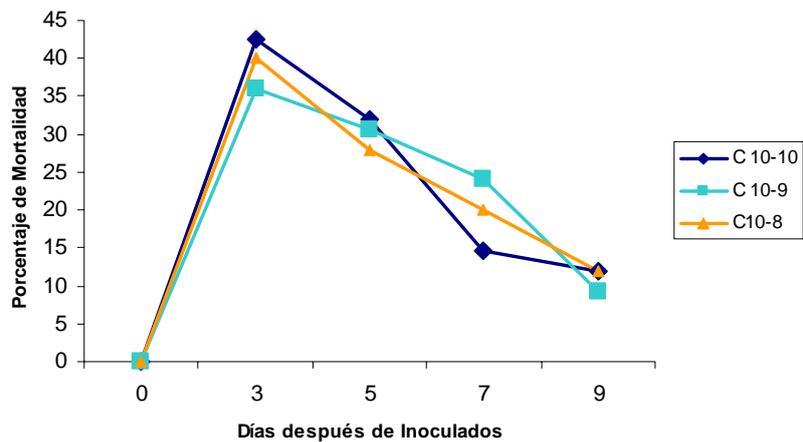


Gráfico. N°9 Porcentaje de Mortalidad de la cepa 114 a diferentes concentraciones del hongo *Beauveria bassiana*. Laboratorio de hongos UNAN-LEON, 2008.

En comparación las cepa 114 y 121 muestran la misma tendencia a causar mortalidad entre estos rangos, sin embargo podemos asumir que la cepa 121 logró un mejor porcentaje en concentraciones bajas ya que con la concentración  $10^8$  se obtuvieron resultados satisfactorios.

## VII. CONCLUSIONES

1. Podemos decir que las cepas 114 y 121 utilizadas, para el control de salivita en laboratorio de hongos UNAN-León se obtuvo un porcentaje de mortalidad mayor en concentraciones bajas en la cepa 121 que en la cepa 114.
2. De las dos cepas evaluadas 114 y 121, la que presentó mayor porcentaje de esporulación de ninfas de salivita, *Aeneolamia sp.* fue la cepa 114 con un 45% en comparación con la cepa 121 que obtuvo un 26% y que resultó ser efectiva en mortalidad aun en concentraciones bajas, del hongo *Beauveria bassiana*. sobre ninfas de salivita *Aeneolamia sp.*
3. Según el estudio realizado la cepa 114 del hongo *Beauveria bassiana* es efectiva contra salivita *Aeneolamia sp.* por lo que podrá ser utilizada en reproducciones a escala experimental en otras investigaciones del cultivo de la caña de azúcar *Zacharum officinarum*.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Para el control de salivita *Aeneolamia sp* en el cultivo de caña de azúcar *Zacharum officinarum* recomendamos el uso de la cepa 114 en otros trabajos investigativos que darán a conocer si *Beauveria* es recomendable en aplicaciones de campo,
2. Consideramos en base a los resultados obtenidos en este estudio, que es de mucha importancia la divulgación de estos para futuras investigaciones, en las que considere probable el uso de el hongo *Beauveria bassiana* para el control de salivita *Aeneolamia sp*.

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. Alves, S. B. 1986. Controle Microbiano de insectos. Editora, Manole, Ltda. 99-104 pp.
2. Barrientos L. 2002 uso de hongos Entomopatógenos en el control de plagas en campo; comercialización, uso actual y futuro de hongos Entomopatógenos, Curso de Patología de Insectos, Ciudad de Victoria Tamaulipas, México.
3. Gallegos. G. et al 2003. Entomopatogenos, Trillas, México. 141 pág.
4. Generalidades de la Caña de Azúcar. Disponible en [www.perafan.com/ea02canahtml](http://www.perafan.com/ea02canahtml). consultado el 20 de septiembre del 2008.
5. Gómez M. del S. 1995. Evaluación de la Patogenicidad de 10 cepas de *Beauveria bassiana* y 10 de cepas de *Metarhizium anisopliae* sobre el picudo del algodón. León Nicaragua Tesis, UNAN LEON. 45 p.
6. Importancia de control de ninfa del chinche salivosa (*aenolamia spp*) en gramínea. Consultado el 7 de febrero 2009. disponible en [www.cenicana.org](http://www.cenicana.org)
7. Lacayo, R, et al 2004 (El Pailero, I.S.A, Chichigalpa, Nicaragua) 24-25, pp.
8. Lecuona R. 1995 Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insecto plaga. 338 pág.
9. Moreno. L. Espino. E. 200-2003 Evaluación de la eficacia del control de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill en picudo negro del plátano *cosmopolites sordidus* (GERMAR), Coleóptera cucurlionidae. Tesis de ingeniería Agroecológica. 46 pág.
10. Plagas que atacan la Caña de Azúcar, la caña de azúcar: constituyentes de la caña de azúcar. Disponible en [www.elpalmar.com.ve/pages.canicultores](http://www.elpalmar.com.ve/pages.canicultores). consultado el 27 de mayo del 2008.
11. Ciclo de vida del salivazo. Disponible en [www.orton.catie.ac.cr/repdoc/ao748e/ao748e.pdf](http://www.orton.catie.ac.cr/repdoc/ao748e/ao748e.pdf). consultado el 7 de Febrero del 2009.

12. Quiroz .et al. 1994. Disponibilidad de hongos Entomopatógenos para el Manejo de Plagas Inséctiles de Importancia de la Región. Editados por CATIE-INTA/MIP (NORAD-ASDI Informe final del proyecto hongos Entomopatógenos Centro Nacional de Diagnostico Fitosanitario, MAG.Managua Nicaragua.
13. Rosas. J. 2000 Hongos Entomopatogenos, curso internacional de patología de insectos, ciudad victoria Tamaulipas. 35 pág.
14. Taller de producción y uso de Entomopatogenos (UNA-CATIE/ INTA-FAITAN) Managua, Abril del 2000.
15. Taxonomía y Morfología de caña de azúcar. Consultado el 25 de febrero 2008. Disponible en [www.abcagro.com/herbaceos/industriales/cana azucar.taxonomia](http://www.abcagro.com/herbaceos/industriales/cana_azucar.taxonomia)

***ANEXOS***

## Anexos 1.

En anexos 1. imágenes de colecta de salivitas y elaboración del bioensayo.



Imagen N°1.

Colecta de ninfas de salivita campo fueron en el mes de agosto en la finca Esperancita Ingenio San Antonio del año 2008.



Imagen N°2

Preparación de la suspensión fungosa para inocular las ninfas de *Aeneolamia sp.*

Imagen N°3

Preparación de ninfas para ser inoculadas con *Beauveria bassiana* dando inicio al bioensayo dado en el Laboratorio de Hongos UNAN León.

Imagen N°4.

Ninfas de *Aeneolamia sp* en vasos en vasos de ensayo con aprox. 1 onza de raíces de caña de azúcar como alimento rotulado con fecha N° de repetición y N° de concentración.