

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA- LEON
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA
CARRERA DE INGENIERÍA EN AGROECOLOGIA TROPICAL



Evaluación de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa, Monte Rosa, de *Metarhizium anisopliae* para el manejo de *Cosmopolites sordidus*. Campus Agropecuario 1 y 2 de la UNAN
León, 2009.

Previo para optar al título de Ingeniero en Agroecología Tropical

Presentado por:

Br. Jairo Gonzalo Agüero Alaniz
Br. Josué Noé Escoto Calderón
Br. Eyrin Aurora Juárez Zapata

Tutor: Lic. Marcia Gómez Vega
Asistente Ing. Luís Francisco Moreno

LEÓN, AGOSTO, 2009

AGRADECIMIENTO

A Dios por darnos vida y fuerza para concluir nuestros estudios.

A nuestra tutora Lic. Marcia Gómez por su tiempo, disponibilidad durante nuestro trabajo y habernos brindado información valiosa.

Al Ing. Luis Moreno por su ayuda en la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB), Laboratorio de Hongos Entomopatógenos del Campus Agropecuario, por haber prestado sus instalaciones e instrumentos necesarios para la realización de este trabajo.

Jairo Gonzalo Agüero Alaniz
Josué Noé Escoto Calderón
Eyrin Aurora Juárez Zapata

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado vida y salud para poder terminar mis estudios universitarios y este presente trabajo y darle vida y salud a mis padres que sin su esfuerzo no lo hubiese logrado.

A mi mamá Elba María Calderón González por estar conmigo en momentos difíciles dándome apoyo y su amor de madre y ayudando en lo que he necesitado.

A mi papá Israel Escoto García por su apoyo incondicional y sus consejos que siempre me ayudarán en la vida.

A mi compañero y amigo Jairo Gonzalo Agüero Alaniz por ser una persona comprensible y que siempre estuvo presente en los momentos buenos y malos de toda nuestra carrera y la realización de éste trabajo.

Josué Noé Escoto Calderón

DEDICATORIA

A Dios por haberme brindado vida, salud y fe para no retroceder en los momentos difíciles y haberme permitido culminar mis estudios universitarios.

A mi familia, en especial a mis padres Jairo Agüero Corrales y Elvira Alanís Reyes porque me brindaron su apoyo y dedicación para que pudieran culminar mis estudios con éxito.

A mis hijos, Freddy y Douglas por ser mi parte inspiradora para salir adelante; a mis hermanos Jairo, Vilma y Dalila que se esforzaron para que no diera un paso atrás en mis estudios.

A mi familia universitaria que día a día nos apoyábamos para salir adelante en nuestros estudios y en la vida cotidiana.

A mi amigo y compañero de tesis Josué Noé Escoto Calderón por brindar el pie de apoyo que me hacía falta para escalar el peldaño del éxito.

Jairo Gonzalo Agüero Alaniz

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, la salud, la sabiduría y la fortaleza para poder perseverar y llegar a concluir esta meta.

A mis padres, José Vicente Juárez García y Lorenza Zapata Garzón por brindarme su apoyo incondicional y la fortaleza que me transmiten a través de su amor.

A mi hijo, Douglas Gonzalo Juárez Zapata por ser la razón de mi vida

A mis once hermanos, por el amor, la paciencia y el apoyo que me dan en cada momento de mi vida.

A todas aquellas personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

Eyrin Aurora Juárez Zapata

RESUMEN

El aumento de dosis para controlar las plagas y el encarecimiento de los productos químicos han traído consigo la introducción de nuevas alternativas para controlar daños ocasionando por especies insectiles, estas alternativas de manejo son el uso de controladores biológicos como los hongos entomopatógenos tales como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, dando estos buenos resultados al control de estos insectos. La investigación tiene como objetivo general: Evaluar eficacia de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill, la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin y la mezcla de estos para el manejo de picudo negro y como objetivos específicos: a) Evaluar la patogenicidad del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) sorokin y el combinado de *Metarhizium* y *Beauveria* en condiciones controladas de laboratorio; b) Determinar la mortalidad en campo del adulto de picudo negro de plátano *Cosmopolites sordidus* causado por el hongo *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin y el combinado de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*. Se realizaron dos etapas: 1) **Etapla de Laboratorio** para evaluar patogenicidad de los productos, se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos. Se evaluaron 3 tratamientos: a) combinación de *B. bassiana* + *M. anisopliae*, b) *M. anisopliae* y c) un testigo (tratado con agua), con 3 repeticiones cada uno. Se colectaron 180 insectos adultos de picudo negro del plátano, los cuales fueron inoculados con la suspensión fungosa para posteriormente medir mortalidad y esporulación de los mismos. 2) **Etapla de Campo:** Se realizó en el Campus Agropecuario No. 2 de la UNAN-León, ubicado a 1Km carretera a La Ceiba. El área utilizada fue de 5269.5 m² divididos en 8 subparcelas, se evaluaron 3 tratamientos: a) testigo absoluto, b) combinado (*M. anisopliae* + *B. bassiana*) y c) *M. anisopliae*. Se colocaron 20 trampas de pseudotallo por tratamiento, luego se recolectaron los insectos y se trasladaron a laboratorio para tomarles lecturas de mortalidad y de esporulación. El análisis de datos se realizó con un análisis de varianza para comparar los tratamientos y posteriormente se representaron en tablas y gráficos de líneas. Los Resultados en la etapa de laboratorio en cuanto a mortalidad y esporulación revelan que *M. anisopliae* alcanza mortalidades de 51.7 %, con esporulación de 77.4 %, mientras que el combinado obtuvo un índice de mortalidad de 88.4 % con esporulación de 98.1 %. En la etapa de Campo los datos muestran que el combinado obtuvo mortalidad de 90.5 %, con esporulación del 100 %; mientras que *M. anisopliae* alcanzó mortalidad de 60.7 %, con esporulación de 77.2 % y *B. bassiana* presentó mortalidad de 58.9 % con esporulación de 95.1 %. Considerando los parámetros de patogenicidad, los resultados obtenidos nos indican que el combinado de los hongos *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae* causan mayor mortalidad que *B. bassiana* y *M. anisopliae* aplicados de forma independiente tanto en laboratorio como en campo. Recomendamos utilizar el combinado (*M. anisopliae* + *B. bassiana*) ya que cumplieron con todos los parámetros establecidos para el control de plagas.

INDICE

Agradecimiento.....	i
Dedicatoria.....	ii
Resumen.....	v
I. INTRODUCCION	8
II. OBJETIVOS.....	9
III. HIPOTESIS.....	10
IV. MARCO TEÓRICO.....	11
4.1 Cultivo de platano	11
4.1.1 Origen:.....	11
4.1.2 Descripción botánica:	11
4.1.3 Importancia económica	11
4.1.4 Requerimientos edafoclimáticos	12
4.1.5 Siembra.....	12
4.1.6 Fertilización.....	12
4.1.7 Poda.....	13
4.2 Plagas	13
4.2.1 Trips	13
4.2.2 Cochinilla algodonosa	14
4.2.3 Ácaros.....	14
4.2.4 Taladradores o traza	14
4.2.5 Nematodos.....	14
4.2.6 Picudo negro de plátano	15
4.3 Métodos de control.....	17
4.3.1 Control químico.....	18
4.3.2 Control Botánico	18
4.3.3 Control cultural	18
4.3.4 Control biológico.....	19
4.4 Hongos entomopatógenos	19
4.4.1 <i>Beauveria bassiana</i>	19
4.4.2 <i>Metarhizium anisopliae</i>	21
V. MATERIALES Y METODOS	24
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	29
VII. CONCLUSIONES.....	34
VIII. RECOMENDACIONES	35
IX. BIBLIOGRAFÍA	36
X. ANEXOS.....	38

I. INTRODUCCION

El cultivo de plátano, *Mussa paradisiaca*, representa para nuestro país una fuente importante de alimento y de ingreso para pequeños y medianos productores. Nicaragua cuenta con aproximadamente 9,000 manzanas donde se encuentra establecido este cultivo, siendo Rivas, Ticuantepe, Masaya y Granada las áreas de mayor producción en 1998. La producción de musáceas se ha visto afectada por un conjunto de plagas y enfermedades. De este complejo se ha reportado que el picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* es una de las plagas de mayor importancia económica llegando a causar daños de 30-90% (Jiménez, 2001).

El daño consiste en la formación de galerías en el pseudo tallo de la planta en cualquier estado de desarrollo disminuyendo el rendimiento de la misma. El control de esta plaga ha sido orientado al uso de productos químicos, sin embargo, la problemática del aumento de las dosis y número de aplicaciones de insecticidas para el control de *C. sordidus*, ha traído consigo la introducción de nuevas alternativas para el control de esta especie insectil. Una alternativa de manejo es el control biológico con la utilización de hongos Entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con mortalidades mayores del 50%.

En 1990, Castiñeiras et al, realizaron pruebas de virulencia de aislados de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre adultos de *Cosmopolites sordidus* mediante el método de inmersión y llegaron a obtener mortalidades con ambos hongos mayores del 50 %; tres años más tarde en 1993 Kaaya et al. realizó un trabajo con *Cosmopolites sordidus*, acerca de la patogenicidad de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y se obtuvieron mortalidades que van desde 33% hasta 68% y en el año 2003 Moreno y Espino evaluaron la eficacia de control de *B. bassiana* en *Cosmopolites sordidus* encontrando que la cepa 114 de *Beauveria bassiana*, aislada de *Hypothenemus hampei*, es altamente patogénica sobre *Cosmopolites sordidus*, causando mortalidades de en laboratorio hasta del 84%.

Aproximadamente el 62% de las fincas que cultivan plátano en Nicaragua están afectadas por el picudo negro. Con el fin de contribuir a la generación de información sobre este tema, se realizó este estudio que permite evaluar el efecto de *B. bassiana* combinado con *Metarhizium anisopliae* mediante condiciones controladas de laboratorio y campo y de esta manera poder potencializar estas dos cepas para bajar las poblaciones de *C. sordidus*.

II. OBJETIVOS

General:

Evaluar eficacia de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin y la mezcla de estos para el manejo de picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus*.

Específicos:

Evaluar la patogenicidad del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, *Beauveria bassiana* y el combinado de *Metarhizium* y *Beauveria* en condiciones controladas de laboratorio.

Determinar la mortalidad en campo del adulto de picudo negro de plátano *Cosmopolites sordidus* causado por el hongo *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin y el combinado de *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*.

III. HIPOTESIS

Ho: El combinado de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill y la cepa Monte Rosa; de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin logra causar mayor mortalidad en campo que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* cuando son aplicados de forma independiente contra *Cosmopolites sordidus* (Coleoptero: Curculionidae).

Ha: El combinado de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill y la cepa Monte Rosa; de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin no logra causar mayor mortalidad en campo que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* cuando se aplican de forma independiente contra *Cosmopolites sordidus* (Coleoptero: Curculionidae).

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 Cultivo de plátano

El plátano pertenece a la familia Musaceae, género *Musa*, especie *Musa cavendishii* (plátanos comestibles cuando están crudos) y *M. paradisiáca* (plátanos machos o para cocer).

4.1.1 Origen:

La mayoría de expertos en el cultivo de plátano (*Musa sp.*), coinciden en que la Península de Malasia en el continente Asiático es el centro de origen de todas las variedades de plátano conocidas en el mundo y que han sido introducidas en América.

4.1.2 Descripción botánica:

El plátano posee raíces superficiales que se distribuyen en una capa de 30-40 cm, concentrándose la mayor parte de ellas en los 15-20 cm. Las raíces son de color blanco, tiernas cuando emergen y amarillentas y duras posteriormente. Su diámetro oscila entre 5 y 8 mm y su longitud puede alcanzar los 2,5-3 m en crecimiento lateral y hasta 1,5 m en profundidad. El tallo crece dentro del suelo, se le conoce como rizoma. Del rizoma salen las vainas o yaguas de las hojas, las raíces y las yemas. Las yaguas nacen juntas y forman el tronco o pseudo tallo. Las hojas son alargadas y de forma elíptica, de color verde claro con una nervadura central prominente y numerosas nervaduras laterales. Sus flores nacen por el centro del pseudo tallo, en la parte superior entre las hojas y se conoce con el nombre de bellota. La flor esta dispuesta en grupos de dos hileras llamadas manos, cubiertas con una bráctea de color rojizo. En la inflorescencia hay varias manos de flores femeninas que son las que dan origen a los frutos o dedos. El fruto se presenta en racimos y cada racimo tiene varias manos o gajos, según la variedad y manejo de la plantación. Cada mano contiene 8 a 15 dedos o plátanos. El racimo esta listo para cortar entre los 60 a 90 días después de que aparece la flor. (Botánica. www.rjbalcala.com/dfd5.htm).

4.1.3 Importancia económica

El plátano es el cuarto cultivo más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz. Además de ser considerado un producto básico y de exportación, constituyendo una importante fuente de empleo e ingresos en numerosos países en desarrollo.

Las exportaciones de plátano de Nicaragua alcanzaron los 709 mil dólares durante los primeros ocho meses del 2005, por lo que las perspectivas de este nuevo clúster, creado oficialmente en el

primer trimestre del año, apuntan a que las ventas al exterior superarán los 1.2 millones de dólares al cierre del año 2005. En el 2007 las exportaciones rondaron en 1.1 millones de dólares. La demanda de la fruta en los Estados Unidos, uno de los principales mercados para la producción nacional, está creciendo a un ritmo del cinco por ciento anual, por lo que los productores nacionales están dispuestos a aprovechar tal oportunidad.

4.1.4 Requerimientos edafoclimáticos

Los climas denominados como medio y cálido, cuyas temperaturas varían entre 18 a 22° C y 22 a 38°C, requieren de suficiente agua disponible en el suelo. La cantidad de agua que necesita el plátano es de 1800 a 3600 mm al año bien distribuidos. El plátano se desarrolla y produce bien en altura de 1700 msnm. Para que tanto las plantas como los racimos se desarrollen bien, se necesita zonas con alta luminosidad. Vientos fuertes y frecuentes ocasionan rompimientos de hojas y volcamiento de las plantas. Los mejores suelos son aquellos que tengan buen drenaje, profundos, buen contenido de materia orgánica, con textura franca, buena fertilidad y pH de 6.5 a 7.

4.1.5 Siembra

“Una vez elegida la semilla se procede a la apertura y preparación de los hoyos, se recomiendan huecos de 0,30-0,40 x 0,30-0,40 x 0,30-0,40 m.”(INTA, 1997). Posteriormente, se procede a la colocación del corno en el hueco y se tapa con el resto de suelo que se sacó de allí. El suelo de relleno se apisona para evitar que queden cámaras de aire que faciliten pudriciones de las raíces por encharcamiento.

Distancias de siembra y población por hectárea:

Distancia de siembra (m)	Siembra en triángulo (plantas · ha ⁻¹)	Siembra en cuadro (plantas · ha ⁻¹)
2,6 x 2,6	1 700	1 479
2,7 x 2,7	1 600	1 372
2,8 x 2,8	1 500	1 276
3 x 3	1 666	1 100

Fuente: www.agronet.gov.co

4.1.6 Fertilización

Las primeras fases de crecimiento de las plantas son decisivas para el desarrollo futuro, por tanto es recomendable en el momento de la siembra utilizar un fertilizante rico en fósforo. Cuando no se haya realizado abonado inicial, la primera fertilización tendrá lugar cuando la planta tenga

entre 3 y 5 semanas, recomendándose abonar al pie en vez de distribuir el abono por todo el terreno, ya que esta planta extiende poco las raíces.

En condiciones tropicales, los compuestos nitrogenados se lavan rápidamente, por tanto se recomienda fraccionar la aplicación de este elemento a lo largo del ciclo vegetativo.

A los dos meses, es recomendable aportar urea o nitrato amónico, repitiendo el tratamiento a los 3 y 4 meses. Al quinto mes se debe realizar una aplicación de un fertilizante rico en potasio, por ser uno de los elementos más importantes para la fructificación del cultivo.

En plantaciones adultas, se recomienda emplear una fórmula rica en potasio (500 g de sulfato o cloruro potásico), distribuida en el mayor número de aplicaciones anuales, sobre todo en suelos ácidos. Se tendrá en cuenta el análisis de suelo para determinar con mayor exactitud las condiciones actuales de fertilidad del mismo y elaborar un adecuado programa de fertilización.

4.1.7 Poda

Para obtener crecimiento vegetativo uniforme y producciones comercialmente rentables, los chupones que crecen del rizoma deben controlarse; la multiplicación de los mismos conduce a la producción de racimos de frutos pequeños. Normalmente se deja sólo uno como reemplazo eventual del pseudotallo principal, que morirá después de fructificar. Los restantes se extraen, y sus restos se abandonan en el suelo para fertilizarlo, los chupones pueden cortarse de varias maneras para asegurarse que no volverán a aparecer; la más efectiva es arrancarlos a mano con lo que se extrae también la yema subyacente, pero es lento y trabajoso (Silva, L. 1999).

4.2 Plagas

Entre las plagas más importantes y que causan daño en plátano están:

4.2.1 Trips (*Hercinothrips femoralis*)

Los trips disponen de un pico chupador-raspador, alas plumosas y en número de dos pares, de color marrón oscuro. Su tamaño es de 1,5 mm. Las larvas no son voladoras y de color amarillento translúcido, ataca directamente al fruto y el daño se inicia en los plátanos con una zona de color plateado, que después pasa a color pardo-cobrizo y termina en color casi negro.

El daño del trips se diferencia del de la araña roja, en que en la primera fase del ataque o zona plateada existen unos puntos negros, típicos del ataque de Trips; en una fase más avanzada aparecen las zonas de color cobrizo, debido a la oxidación de la savia que brota por las raspaduras del insecto.

4.2.2 Cochinilla algodonosa (*Dysmicoccus alazon*)

Se puede encontrar las cochinillas debajo de las vainas foliares en el falso tallo, junto al nervio central de las hojas por el envés y entre los dedos del racimo.

La cochinilla es de forma ovalada, su cuerpo está segmentado y es de color rosado al quitarle la borra algodonosa que la protege. Normalmente suele salir de sus refugios invernales en primavera, multiplicándose durante el verano y otoño. Se recomienda limpiar las hojas secas antes de efectuar el tratamiento para dejar al descubierto las cochinillas y puedan así ser fácilmente alcanzadas por el tratamiento.

4.2.3 Ácaros (*Tetranychus telarius* y *Tetranychus urticae*)

La araña roja suele localizarse en el envés de las hojas a lo largo del nervio central, cerca del racimo, notándose su presencia por unos puntitos de color rojo junto con las telas de araña y los huevos. Después pasan al racimo, causando daños en la fruta con la aparición de zonas de color blanco-plateado, que poco a poco se van haciendo más oscuros.

El adulto es de forma ovoide, de coloración rojiza. Se puede observar a simple vista en el envés de las hojas. Las larvas, que son transparentes, sólo tienen al nacer tres pares de patas. Los huevos son esféricos, lisos y más o menos transparentes.

4.2.4 Taladradores o traza (*Hieroxestis subcervinella*)

La oruga que ocasiona el daño es estrecha, delgada y con la cabeza marrón brillante, siendo típicas las dos manchas de color gris oscuro en cada anillo del abdomen. Son orugas barrenadoras, transparentes y de color blanco sucio. Forma galerías hasta las primeras manos del fruto, también causa pudrición una vez que se ha efectuado el corte de la planta después de la recolección y es donde se ponen las mariposas que dan lugar a la oruga.

4.2.5 Nematodos (*Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*)

Las hembras tienen forma de saco, se fijan a la planta, y al morir dejan en su interior los huevos. Los nemátodos parásitos poseen un estilete, que clavan en el tejido de la planta, para succionar la savia de la que se alimenta. Los daños causados por nematodos se producen en las raíces, dando lugar a una disminución de la producción. Los daños se manifiestan en las plantaciones por un amarilleo de las hojas, la muerte de las ramas bajas, agallas en las raíces y sobre producción de raicillas (Infoagro, 2008).

4.2.6 Picudo negro de plátano

4.2.6.1 Taxonomía

Taxonómicamente pertenece al; Orden: Coleoptero, Suborden: Curculionidae, Familia: Curculionidae, Sub-familia: Rhynchophorinae, Tribu: sphenophorini, Género: *Cosmopolites*, Especie: *sordidus* (Germar). (Moreno, 2003)

4.2.6.2 Biología y ciclo de vida

El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleóptera: Curculionidae) es una plaga importante del banano y plátano. El picudo adulto es negro y mide 10-15 mm. Vive libremente, aunque es más común encontrarlo entre las vainas foliares, en el suelo en la base de la mata o asociado con los residuos del cultivo. El picudo es activo de noche y muy susceptible a la desecación.

Los adultos pueden permanecer en la misma planta por largos períodos de tiempo, y sólo una pequeña parte de ellos podrá moverse a una distancia mayor de 25 m durante un período de 6 meses. Los picudos vuelan raramente. La diseminación ocurre principalmente a través del material de plantación infestado. El picudo negro del banano es un insecto seleccionado como “k” con un prolongado período de vida y baja fecundidad.

La mayoría de los huevos se ponen entre las vainas foliares y en la superficie del rizoma. Las plantas florecidas y los residuos de los cultivos son los lugares favoritos para la oviposición. Se han registrado tasas de oviposición de más de un huevo por día, pero más comúnmente, la oviposición es estimada a un huevo por semana. La hembra pone sus blancos huevos ovalados individualmente en los hoyos excavados por su pico.

Las larvas emergentes se alimentan preferiblemente dentro del rizoma pero pueden atacar el pseudotallo. Las larvas pasan a través de 5-8 etapas. Bajo condiciones tropicales, el período que le toma a un huevo convertirse en un picudo adulto es de 5-7 semanas. El desarrollo de los huevos no ocurre con temperaturas menores de 12 °C; este umbral puede explicar porqué es raro encontrar esta plaga a alturas mayores de 1600 m sobre el nivel del mar. (Castillo, J, 2001)

La formación de la pupa ocurre en celdas desnudas cerca de la superficie de la planta hospedera. Las tasas de desarrollo dependen de la temperatura.

Muchos adultos viven un año, mientras que algunos pueden sobrevivir hasta por cuatro años. En substratos húmedos, el picudo puede sobrevivir sin alimentarse durante varios meses. La tasa de machos y hembras es de 1:1.

4.2.6.3 Distribución

El picudo negro del banano evolucionó en el Sudeste de Asia y se ha propagado a todas las regiones productoras de bananos y plátanos en trópicos y subtropicos. El estado de plaga puede variar a través de los sitios y fincas: en un estudio, se encontraron diferencias de 100 veces en las densidades de los picudos negros del banano entre las fincas de la misma cuenca.

4.2.6.4 Síntomas en las plantas

Los picudos negros adultos son atraídos por las sustancias volátiles emanadas de las plantas hospederas. Los rizomas cortados presentan una atracción especial. Por lo tanto, puede ser difícil establecer un nuevo cultivo en campos infestados anteriormente o cerca de los campos severamente infestados. Los picudos negros del banano son atraídos por los rizomas cortados, lo que convierte a los retoños que se utilizan como material de plantación especialmente susceptibles al ataque.

Se han registrado pérdidas de más de 40% del cultivo debido al picudo negro del banano. Se informa que los ataques de los picudos negros interfieren con la iniciación de las raíces, matan las raíces existentes, limitan la absorción de nutrientes y reducen el vigor. Las plantas, demoran la floración y aumentan la susceptibilidad a plagas y enfermedades. Las reducciones de rendimiento son causadas tanto por la pérdida de plantas (muerte de las plantas, el rompimiento de los rizomas, caída de las plantas), como por el peso reducido de los racimos estas caídas, más comúnmente atribuido a los nematodos, ha sido observada bajo condiciones de fuertes ataques de los picudos negros en ausencia de nematodos.

4.2.6.5 Muestreo

Una de las formas más factibles de determinar las poblaciones de *C. sordidus* es con el uso de trampas, para esto se corta el pseudotallo de la planta madre cosechada, 10-15 cm arriba de la superficie del suelo. De esta se sacan los discos de unos 5-10 cm de diámetro el cual se coloca encima de la base. Dos días después se cuentan los adultos atraídos por esta trampa. El uso de 10 trampas por manzana por mes es suficiente para las plantaciones pequeñas. Se deben colocar 25 trampas por hectárea si se espera una población baja. En Nicaragua el trampeo de picudo negro ha demostrado que los meses de junio, agosto y noviembre es cuando se aparecen las mayores poblaciones de insecto y el nivel crítico es de 4-5 picudos por trampa (Guía INTA N° 16, 1997).

4.2.6.6 Niveles críticos

Los niveles de picudos negros del banano a menudo son bajos en un campo recién sembrado. Con bajas tasas de oviposición, el crecimiento de la población es lento y los problemas de los picudos negros se encuentran con mayor frecuencia en los cultivos de segundo ciclo. En un ensayo, las pérdidas del rendimiento han aumentado de 5% en el primer ciclo de cultivo a más de 40% en el tercer ciclo del cultivo. En las áreas donde los bananos o plátanos se replantan después de 1-3 años, las poblaciones de picudos negros pueden no tener suficiente tiempo para crecer hasta niveles de plaga, aún en presencia de germoplasma susceptible (Zamorano, 1998).

4.3 Métodos de control

Los métodos de control para el picudo negro del banano probablemente varían de sistema a sistema y reflejan la importancia y el estado de la plaga del picudo negro. En las plantaciones comerciales, el control químico es el método más difundido para controlar el picudo negro. El control cultural es muy valioso para prevenir el establecimiento del picudo negro y es el único medio comúnmente disponible mediante el cual los pequeños productores con recursos limitados pueden reducir las poblaciones establecidas. Los agentes del control biológico, incluyendo artrópodos y hongos entomopatógenos, se encuentran bajo estudio y pueden convertirse en agentes importantes en el desarrollo de estrategias integradas para el manejo del picudo negro del banano.

4.3.1 Control químico

El control que se realiza en las plantaciones bananeras comerciales es principalmente químico, utilizando nematicidas con actividad insecticida e insecticidas específicos aplicados en la base de la planta. Los insecticidas son de acciones rápidas y eficaces. Anteriormente se utilizaban ampliamente los insecticidas cyclodiénicos, pero eventualmente fueron abandonados debido al desarrollo de resistencia y a las implicaciones ambientales.

Se encuentran disponibles órgano fosforados menos persistentes pero son más costosos y tóxicos para los manejadores y por lo tanto menos adecuados para los sistemas de producción a pequeña escala. Actualmente, el picudo negro del banano ha mostrado la habilidad de desarrollar resistencia a la mayoría de los químicos.

4.3.2 Control Botánico

Los compuestos botánicos pueden servir como sustitutos de los plaguicidas. La inmersión de los retoños en una solución a 20% de semillas de neem (*Azadirachta indica*) durante la siembra, protege a los retoños jóvenes de los ataques de los picudos negros reduciendo la oviposición a través del efecto repelente sobre los picudos negros adultos. Las tasas de eclosión de huevos también pueden ser reducidas en las plantas tratadas con Neem.

4.3.3 Control cultural

Donde sea posible, las nuevas áreas de producción deben ser establecidas en los campos no infestados utilizando material de plantación limpio. Las plántulas procedentes de los cultivos de tejidos se utilizan ampliamente en las plantaciones bananeras comerciales para el control de plagas y enfermedades. En los lugares donde el cultivo de tejidos no está disponible, los agricultores deberían pelar los retoños para remover las larvas y huevos de los picudos negros.

Los retoños severamente dañados no deben ser utilizados para la siembra. El tratamiento con agua caliente también ha sido promovido ampliamente para el control de los picudos negros y nematodos. Las recomendaciones sugieren la inmersión de los retoños pelados en tinas con agua caliente a 55°C por 15-27 minutos. Estos baños son muy eficaces para eliminar los nematodos, pero matan sólo una tercera parte de las larvas de los picudos negros. De esta manera, es más probable que el material de plantación limpio proporcione protección contra los picudos negros solo durante unos pocos ciclos de cultivo. La colocación sistemática de trampas con pedazos de rizoma puede ser eficaz para reducir poblaciones de picudos negros adultos.

Sin embargo, la colocación de trampas es un trabajo laborioso y a menudo limitado por la disponibilidad de los materiales. También se cree que el saneamiento de los cultivos (es decir, la destrucción de los residuos) elimina los refugios y sitios de desarrollo y así reduce las cantidades de los picudos negros (www.ecologia.edu.mt).

4.3.4 Control biológico

El picudo negro del banano es más importante en los lugares donde es una plaga introducida (por ejemplo, África, Australia, América), sugiriendo que el control biológico clásico puede ser posible. Se encontraron varios escarabajos predadores alimentándose de las larvas de los picudos negros en el área de origen del insecto en el Sudeste de Asia. Sin embargo, los intentos de introducir estos enemigos naturales en otras regiones bananeras en gran parte fracasaron.

La investigación de los predadores endémicos (escarabajos, tijeretas) en África sugiere sólo un potencial limitado para el control en las condiciones de campo. En contraste, las hormigas mirmecinas *Tetramorium guinense* y *Pheidolemegacephala* han contribuido al control exitoso del picudo negro en el plátano en Cuba.

Las hormigas pueden ser alentadas a anidarse en los pedazos de pseudotallo que luego pueden ser utilizados para su propagación. Las hormigas mirmecinas están muy propagadas y también pueden ser predadores importantes del picudo negro en otras localidades.

Los nematodos entomopatógenos, *Steinernema* y *Heterorhabditis spp.*, atacan tanto a los picudos adultos como a las larvas en el campo, pero el costo y la eficacia de estos nematodos permiten utilizarlos sólo en los lugares con altas densidades de poblaciones de los picudos negros, limitando su uso a gran escala por el momento (www.ecologia.edu.mt.junio 2008).

El uso de los hongos entomopatógenos por ejemplo, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control del picudo negro del banano ha sido estudiado desde los años 70. Numerosas cepas han sido cribadas con respecto a su actividad contra los picudos adultos y muchas de ellas producen la mortandad de más del 90% (Altieri, M. et al, 1989).

4.4 Hongos entomopatógenos

4.4.1 *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana se da a conocer cuando en 1834 Agostino Bassi demostró que el hongo era agente causal de una enfermedad en el gusano de seda *Bombix mori*. En América central su uso más importante ha sido para el control de la broca de café.

4.4.1.1 Taxonomía

Taxonomicamente pertenecen al Reino Fungi, División Deuteromycotina, Clase Deuteromycetes, Orden Moniliales, Familia Moniliaceae, Género y especie: *Beauveria bassiana* (Balsamo)Vuillemin, (Castillo, J, 2001).

4.4.1.2 Modo de acción.

El ciclo biológico de *Beauveria bassiana* comprende dos fases: una patogénica y otra saprófita. Primera fase o fase patogénica ocurre cuando el hongo entra en contacto con el tejido vivo del huésped y la humedad en el microclima es del 85% o más.

El hongo *B. bassiana* es parásito facultativo, el cual posee conidias que constituyen la unidad infectiva del hongo. El proceso infectivo involucra 3 pasos: germinación de esporas, penetración de hifas al cuerpo del hospedero e invasión de tejidos. La penetración del hongo al hospedero ocurre a través de la cutícula. Cuando la penetración se da por la cutícula intervienen lipasas, quitinasas y proteasas.

La patogenicidad del hongo sobre los insectos depende de una compleja relación entre la habilidad del hongo para penetrar la cutícula y la fortaleza del sistema inmunológico del insecto para prevenir el desarrollo del hongo. Esta relación se debe a factores muy concretos incluidos las diferencias cuticulares, la penetración cuticular y las reacciones inmunes.

El desarrollo del hongo sobre el insecto puede ser influenciado por la eficacia de los hemocitos en encapsular y melanizar el patógeno. Casi siempre los hematocitos se agregan al lugar de la penetración cuticular, formando algunas veces nódulos alrededor de las esporas inyectadas.

En el interior de los insectos la germinación usualmente procede de esporas que están fuera de la agregación de hematocitos pero para que se desarrollen siempre deben de estar afuera del agregado.

Posteriormente se da la invasión de los tejidos por parte del micelio del hongo hasta causar la muerte del insecto, dura de 2 a 3 días. Durante el proceso de invasión del hongo se producen una gran variedad de metabolitos tóxicos. *Beauveria bassiana* produce metabolitos secundarios, como son: Beauvericin, Beauveriloides, Bassianolide, Isarolide, Enniatinas y Oosporeina.

Segunda fase o fase saprófita en donde ocurre la esporulación y el inicio de un nuevo ciclo. El micelio del hongo se observa primero en las articulaciones y partes blandas de los insectos y en días posteriores se incrementa a todo el cuerpo hasta finalmente cubrirlo. Tras la muerte del insecto y bajo condiciones de humedad relativa alta las conidiosporas pueden extenderse a través del cuerpo cubriéndolo con material fungoso característico. (Carballo, M. et al, 2004)

4.4.1.3 Síntomas

Los síntomas de la enfermedad en el insecto son: la pérdida de sensibilidad, movimientos descoordinados y parálisis. Cuando el insecto muere queda momificado. Algunas veces se pueden presentar zonas de pigmentación localizadas que corresponden a los sitios de penetración de las conidias en el tegumento.

Si las condiciones de humedad son óptimas, se inicia de nuevo el ciclo. El micelio cubre el insecto, se producen esporas, las cuales son arrastradas por el viento y las lluvias, pudiendo atacar nuevamente otro insecto (Alves, 1986, citado por Moreno, L. 2003).

4.4.2 *Metarhizium anisopliae*

4.4.2.1 Taxonomía

Pertenece al: Reino Eumycota, Filo Dikaryomycota, Subfilo Deuteromycotina, Clase hyphomycetes, Orden Moniliales, Género *Metarhizium*, Especie *anisopliae*. (Castillo, J. 2001)

Metarhizium es un hongo imperfecto de color verde oliva. Su reproducción es asexual en conidióforos que nacen a partir de hifas ramificadas.

Metarhizium anisopliae, antes conocido como *Entomophthora anisopliae*, es un hongo que crece naturalmente en los suelos en todo el mundo y causa enfermedad en varios insectos que actúan como un parásito, por lo tanto, pertenece a los hongos entomopatógenos.

Se sabe que puede infectar a más de 200 especies de insectos, incluyendo las termitas. En la actualidad está siendo usado como un insecticida biológico para el control de una serie de plagas. El hongo se desarrolla dentro del cuerpo eventualmente matar a los insectos al cabo de unos días; este efecto letal es muy probable ayudados por la producción de insecticidas péptido cíclicos (destruxinas), (Castillo, J. 2001).

4.4.2.2 Modo de acción

El modo de acción de *Metarhizium anisopliae* inicia con la retención de las conidias al contacto del cuerpo del insecto, dando origen así a la relación hongo- hospedero e iniciar el proceso de infección.

La primera etapa es la germinación de la espora que inicia con el hinchamiento de la misma, favorecida por una humedad alta (70% durante 14h); la germinación es disparada por mensajeros que generalmente son carbohidratos presentes en las proteínas cuticulares del insecto.

La hidratación de la espora es favorecida por la acción antidesecante de su cubierta mucilaginosa, que además funciona como protector ante la presencia de polifenoles tóxicos y enzimas, secretadas por sistema inmune del insecto. *Metarhizium anisopliae* presenta un alto contenido de aminopeptidasas e hidrofobina, las cuales favorecen la acción de enzimas extracelulares sobre la cutícula del insecto.

Después del hinchamiento de la espora tiene lugar la formación del tubo germinativo mediante el proceso de polarización típico del crecimiento apical de los hongos, que estimula la síntesis de la pared celular. El tubo germinativo rastrea y reconoce la superficie del insecto para la localización de sitios receptores, habilitando a la hifa para la penetración de la cutícula. El apresorio sirve para el anclaje de la espora y ejerce una presión hacia el interior del insecto. Paralelamente, el hongo excreta una gran cantidad de enzimas entre las que se incluyen proteasas, quitinazas, quitobiasas, lipasas, lipooxigenasas y otras enzimas hidrolíticas, que van degradando la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo.

Una vez dentro del insecto, el hongo prolifera formando cuerpos hifales secundarios, que se ramifican en la pro cutícula conformada principalmente de fibrillas lameladas de quitina embebidas en una matriz proteínica que actúa como cubierta física protectora ante las secreciones extracelulares del patógeno. Posteriormente, los cuerpos hifales se encuentran con la capa epidérmica y con su respectiva membrana basal y se diseminan a través del hemocele. Así, invaden diversas estructuras como tejidos musculares, cuerpos grasos, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico y membrana nuclear. Al agotarse los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento miceliar invadiendo todos los órganos del hospedero. Finalmente, las hifas penetran

la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando la humedad relativa es adecuada.

Cabe destacar que durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos. (www.oriusbiotecnologia.com. Carballo, M. et al, 2004).

Este hongo es capaz de adherirse a la cutícula de los insectos y de entrar a su interior por las partes blandas o por vía oral. Una vez dentro del hospedero, las esporas germinan y el micelio produce toxinas que le producen la muerte al huésped en cuestión de 3 a 4 días.

4.4.2.3 Síntomas

Los síntomas que causa *Metarhizium* son variables: Los adultos infectados presentan movimientos lentos, no se alimentan, reducen su radio de vuelo y las hembras no ovipositan. Pueden morir en lugares distantes de donde fueron contaminados. El ciclo total de la enfermedad es de 8 a 10 días. Después de la muerte, los individuos presentan un crecimiento micelial blanco seguido por la típica esporulación verde. (Carballo, M. et al, 2004).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Estudio de Laboratorio:

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos en el laboratorio de hongos entomopatógenos del Campus Agropecuario de la UNAN-León ubicado a 1 ½ km carretera a La Ceiba en el período comprendido marzo 2008 a agosto 2009

5.1.1 Colección de insectos:

Los insectos que se utilizaron se recolectaron utilizando trampas de disco de pseudotallo de 5 a 10 cm de diámetro, estos se ubicaron en cultivos de plátano del Campus Agropecuario N^o 2 ubicado a 1 km carretera La Ceiba. Se colectaron 180 adultos de picudos de plátano.

El trabajo se llevó a cabo en dos etapas:

Etapas de laboratorio

Bioensayo

Preparación de suspensión fungosa:

Se tomaron muestras de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, se colocaron en tubos de ensayo con agua estéril y se agitaron para obtener una suspensión fungosa homogénea.

Medición de la concentración de la suspensión fungosa:

Se realizó un conteo de conidias utilizando la cámara de NEUBAUER, empleando el campo más pequeño de la cámara y utilizando la fórmula propuesta por Alves (1986).

FÓRMULA: $n \times 4 \times 10^6$

n= número total de conidias observadas

4= constante

10^6 = constante.

Prueba de viabilidad:

La prueba de viabilidad se mide mediante una prueba de germinación colocando 5 gotas de suspensión del hongo en un plato petri con medio de cultivo (PDA).

Se dejó en el incubador y 24 horas después se contó el número de conidias germinadas y no germinadas, se observaron de 5- 10 campos de visión del microscopio de manera que se pueda contabilizar un mínimo de 200 conidias en total, mediante una regla de tres se obtuvo el porcentaje de conidias germinadas a partir del total de conidias observadas.

Montaje del bioensayo

El método que se utilizó consistió en la inmersión de los adultos del picudo del plátano en la suspensión de conidias durante 2 a 3 segundos. Luego, para quitar el excedente de la suspensión de su cuerpo, se colocaron en papel toalla. Se utilizó un total de 180 insectos para 3 tratamientos con 3 repeticiones. (No se realizó pruebas de laboratorio para *Beauveria bassiana*, por que la patogenicidad de este ya está comprobada). Los insectos inoculados se trasladaron a tazas plásticas colocando 5 insectos en cada una. Estas se colocaron en bandejas rotuladas con su respectivo tratamiento y se dejaron en el laboratorio durante 4 semanas, bajo temperatura de 27°C y humedad relativa de 75- 85 %.

Tratamientos evaluados:

Testigo: insectos sumergidos en agua estéril.

B. bassiana + *M. anisopliae*: 12 gr de cada hongo diluidos en 2.4 lts de agua.

Metarhizium anisopliae: 24 gr del hongo diluidos en 2.4 lts de agua.

VARIABLES A MEDIR:

- Mortalidad de *Cosmopolites sordidus*

Se tomaron lecturas de la mortalidad del adulto del picudo negro del plátano a partir del primer día hasta los 25 días después de la inoculación con recuentos cada dos días, se contabilizaron los insectos vivos (se mueven) y los muertos (no se mueven).

- Medición de esporulación:

Los insectos muertos se colocaron en cámara húmeda donde se mantuvieron por un lapso de 8 a 12 días, con el objetivo de proporcionarle al hongo las condiciones óptimas para que esporule o simplemente se desarrolle el micelio. Las cámaras húmedas son platos petri de plástico con papel toalla donde se colocaron los insectos muertos. Se agregó de 2 a 3 gotas de agua destilada hasta tener humedad, se selló con papel para film y se colocó en condiciones ambientales similares a las del bioensayo, se revisó cada dos días para ver el tiempo que tardó el hongo en esporular.

Análisis de resultados:

Cálculo de mortalidad corregida:

El porcentaje de individuos para cada cepa se obtienen mediante una regla de tres:

Número total de insectos muertos x 100

Número total de insectos empleados en bioensayo

Cálculo de porcentaje de esporulación:

Para cada cepa se cuenta el número de insectos que lograron esporular en cada cámara húmeda y se calcula mediante la siguiente regla de tres:

Número total de insectos esporulados x 100

Número total de insectos muertos.

5.2 Estudio de campo

Ubicación:

El trabajo de investigación se realizó en el Campus Agropecuario No. 2 de la UNAN-León ubicado a 1 kilómetros carretera a La Ceiba en el periodo comprendido marzo de 2008 – Agosto 2009, el municipio de León presenta un clima tropical de sabana con una pronunciada estación seca para los meses de noviembre a abril y una estación lluviosa entre los meses de mayo a octubre con temperatura promedio de 27 a 33 °C y una humedad relativa de 67 a 89%.

Diseño experimental:

El diseño utilizado fue un diseño de bloque al azar, para disminuir la variabilidad de las condiciones entre cada uno de los tratamientos. El área en el que se realizó el estudio es una parcela ya establecida con una edad de 2 años aproximadamente, tiene una extensión de 5269.5 metros cuadrados; divididos en 8 subparcelas que corresponden a los tratamientos evaluados (658.6 m² para cada una). Las distancias de siembra utilizadas fueron 3 metros entre surco y 1.5 metros entre plantas, con una densidad poblacional de 3900 plantas. La muestra utilizada para cada subparcela fue de 487 plantas.

Tratamientos a evaluar:

Testigo: Consiste en plantas a las cuales no se les hará ningún tipo de aplicación, únicamente se utilizara como parámetro de evaluación.

Metarhizium anisopliae: se utilizaran 200 gr del hongo disueltos en 20 litros de agua.

Beauveria bassiana + *Metarhizium anisopliae*: se utilizaran 100 gr del hongo *Beauveria bassiana* y 100 gr del hongo *Metarhizium anisopliae* disueltos en 20 litros de agua.

Beauveria bassiana: se utilizaran 200 gr de este hongo disueltos en 20 litros de agua.

VARIABLES A MEDIR:

- Mortalidad de *Cosmopolites sordidus*:

Se tomaron lecturas de la mortalidad del adulto del picudo negro del plátano a partir del primer día hasta los 25 días después de la inoculación con recuentos cada dos días, se contabilizaron los insectos vivos (se mueven) y los muertos (no se mueven)

- **Esporulación:**

Los insectos muertos se colocaron en cámara húmeda donde se mantuvieron por un lapso de 8 a 12 días, con el objetivo de proporcionarle al hongo las condiciones óptimas para que pudiera esporular o simplemente se desarrolle el micelio. Las cámaras húmedas son platos petri de plástico con papel toalla donde se colocaron los insectos muertos. Se agregó gotas de agua destilada hasta tener humedad, se selló con papel para film y se colocaron en condiciones ambientales similares a las del bioensayo, se revisó cada dos días para ver el tiempo que tarde el hongo en esporular.

Las conidias de *Beauveria bassiana* son de color blanco con aspecto arinoso polvoso y las *Metarhizium anisopliae* son de color verde oscuro y más secas.

Método de muestreo:

Previo al muestreo se procedió a la realización de las trampas que consistió en cortar un pseudotallo de 5-10 cm. de diámetro en forma de disco en los cuales después se roció la solución, luego estos fueron colocados en cada una de las subparcelas.

Se colocaron 10 trampas en cada sub-parcela para un total de 80 trampas, las trampas se revisaron día de por medio para recolectar los insectos y trasladarlos al laboratorio para verificar que la muerte fue causada por los hongos; los discos se cambiaron para procurar mantener frescas las trampas.

Análisis de los datos:

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico SPSS(versión 12) y se representaron en gráficos de líneas (mortalidad en el tiempo), gráficos de barra para el porcentaje de esporulación, también se utilizó la prueba Post hoc para hacer comparaciones múltiples y verificar así las diferencias entre cada uno de los tratamientos evaluados.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

En el gráfico N° 1 se representa el porcentaje de mortalidad en el tiempo causada por *M. anisopliae* y una combinación de *B. bassiana* y *M. anisopliae*, sobre *Cosmopolites sordidus*.

El combinado *B. bassiana* + *M. anisopliae* inicia a presentar mortalidad a los 4 DDI a diferencia de *M. anisopliae* que inicia su efecto a los 7 DDI, ambos tratamientos presentaron muertes constantes, sin embargo el combinado alcanzó máximo porcentaje de mortalidad a los 18 DDI, no así, *M. anisopliae* que su nivel máximo lo alcanzo a los 21 DDI. El tratamiento más efectivo fue el combinado de *B. bassiana* + *M. anisopliae* ya que presentó un 88.4 % de mortalidad y *M. anisopliae* con mortalidad de 51.7 %. Los mayores resultados de mortalidad fueron encontrados entre los 11 y 21 días después de la infestación en ambos tratamientos, sin embargo, Lecuona, 1995 reporto mortalidades entre 20-35 días después de inoculados.

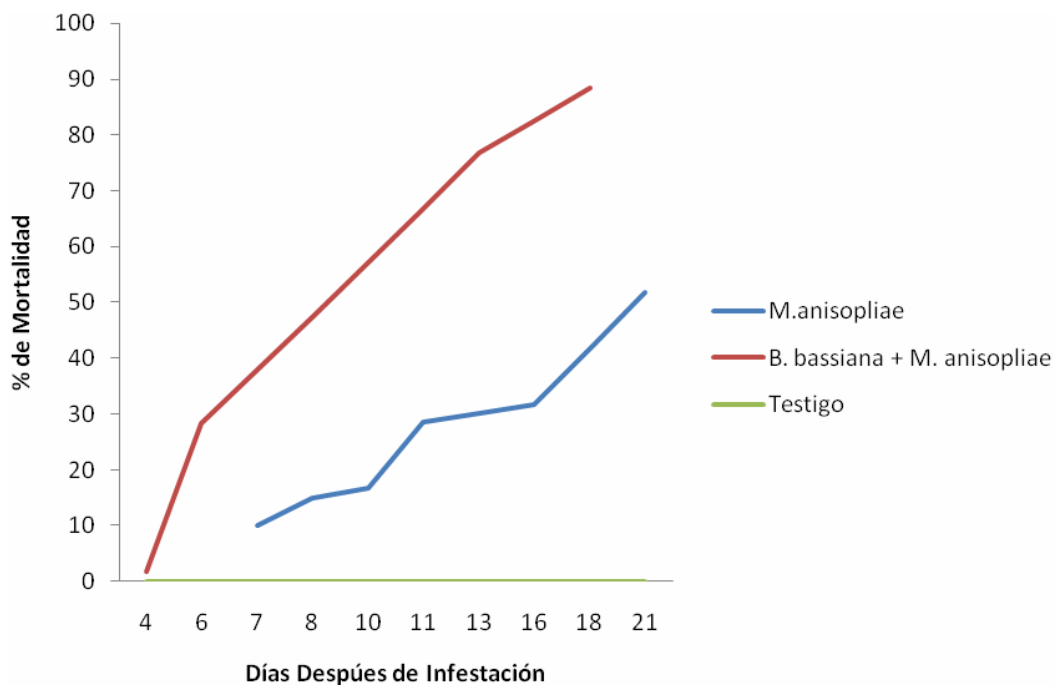


Gráfico N° 1: Porcentaje de mortalidad de *M. anisopliae* y el combinado de *B. bassiana* + *M. anisopliae* sobre *C. sordidus* en condiciones controladas de laboratorio.

En el gráfico N° 2 podemos observar los porcentajes de esporulación obtenidos en cada uno de los tratamientos empleados en el trabajo investigativo para el control de picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*) en condiciones controladas. El tratamiento con la combinación de *B. bassiana* + *M. anisopliae* obtuvo el mejor porcentaje de esporulación alcanzando un 98.1 %, a los 2 DDM (días después de muertos). El tratamiento a base de *M. anisopliae* obtuvo una esporulación menor que el combinado con 77.4% a los 4 DDM. El micelio se identifica por ser de color blanco y se observa en las patas, en la base de las antenas y las alas, en el pico, entre la cabeza y el tórax. Cuando estos hongos logran esporular se diferencian por el color de sus conidias (blancas para *Beauveria* y verde oscuro para *Metarhizium*).

Nuestros resultados difieren de los encontrados por Quiroz, 1994 quién afirma que lograron esporulación menores al 30 %, pero coinciden con la afirmación de Leucona, R 1995 que considera que para que sea satisfactorio un bioensayo la esporulación debe ser mayor del 20 %.

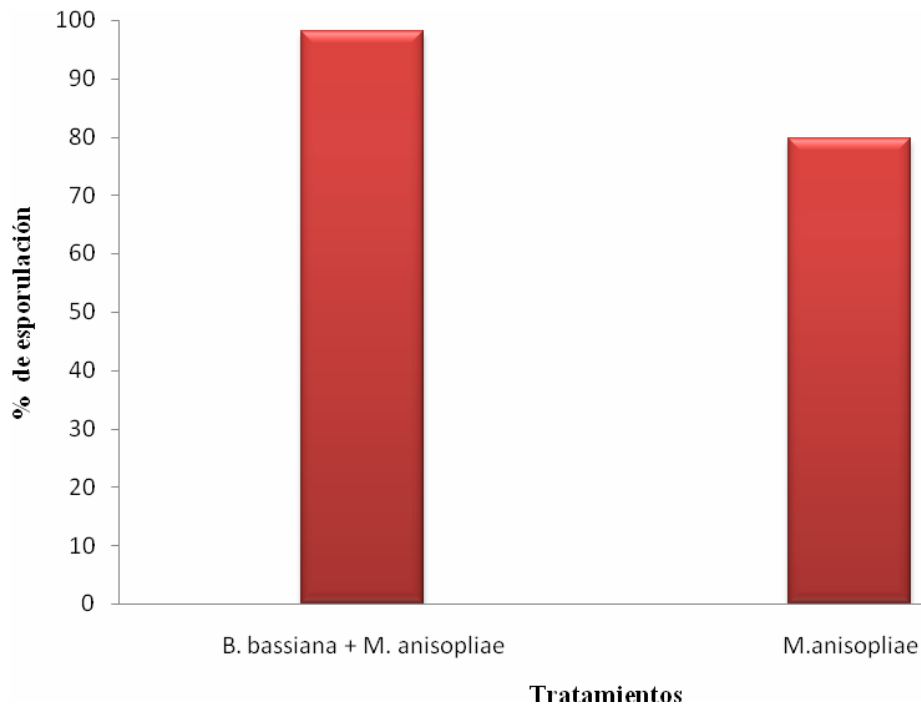


Gráfico N° 2: Porcentaje de esporulación del combinado de *B. bassiana* + *M. anisopliae* y *M. anisopliae* en *C. sordidus* en condiciones controladas de laboratorio.

Fase de campo

En el siguiente gráfico podemos apreciar el comportamiento de la mortalidad de *C. sordidus* causada por los tratamientos aplicados en campo. Los tratamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* después de los 9 DDI presentaron comportamientos distintos de mortalidad en donde *B. bassiana* aumentó considerablemente hasta alcanzar una mortalidad de 58.9 % a los 25 DDI y *M. anisopliae* mantuvo una mortalidad constante pero mínima la cual aumentó a partir de los 21- 25 DDI obteniendo una mortalidad mayor a la de *B. bassiana* con un 60.7 %. Se observa que los tratamientos a excepción del testigo (Tratado con agua) inician mortalidad a los 3 DDI, manteniendo mortalidades en aumento y es hasta los 9 DDI que el combinado presenta mortalidades mayores a los demás tratamientos hasta alcanzar una mortalidad total de 90.5 % a los 25 DDI. Según Alves, 1986 los rangos de mortalidad pueden alcanzar un 80% , pero también señalan que esto dependerá de las condiciones ambientales.

Los niveles de mortalidad más altos se obtuvieron entre los días 11-18 después de la infestación, para el combinado y *B. bassiana*, no siendo así para el tratamiento de *M. anisopliae* pues presentó los niveles más altos entre los días 23- 25 DDI. Nuestros resultados difieren con los de Jimenez, 1994, quien encontró que las mayores mortalidades se alcanzan entre 3- 4 días después de infestados.

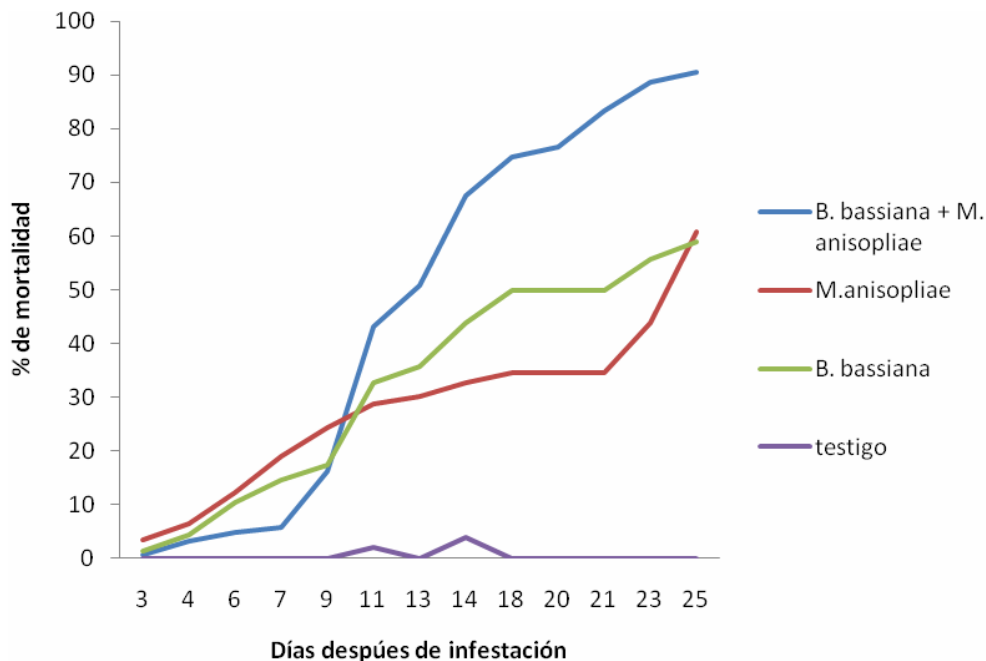


Gráfico Nº 3: Comportamiento de la mortalidad en campo de picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*) en el tiempo causada por el combinado de *B. bassiana* + *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* y testigo.

El gráfico N° 4 muestra la esporulación en porcentaje de cada uno de los tratamientos empleados para el control de *Cosmopolites sordidus* en plátano en la etapa de campo, cuyo máximo de esporulación lo alcanzó el combinado (*B. bassiana* + *M. anisopliae*) con un 100%, seguido de *B. bassiana* con una esporulación de 95.1 % , ambos tratamientos esporularon a los 3 DDM (días después de muertos) aproximadamente y *M. anisopliae* que presentó la esporulación más baja con un 77.2% y esporuló a los 4DDM. Los datos obtenidos en nuestra investigación coinciden con los de Moreno, L. 2003 quién realizó una evaluación de la eficacia de control de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill en picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus*; y obtuvo esporulaciones en campo similares a las nuestras con un 76%.

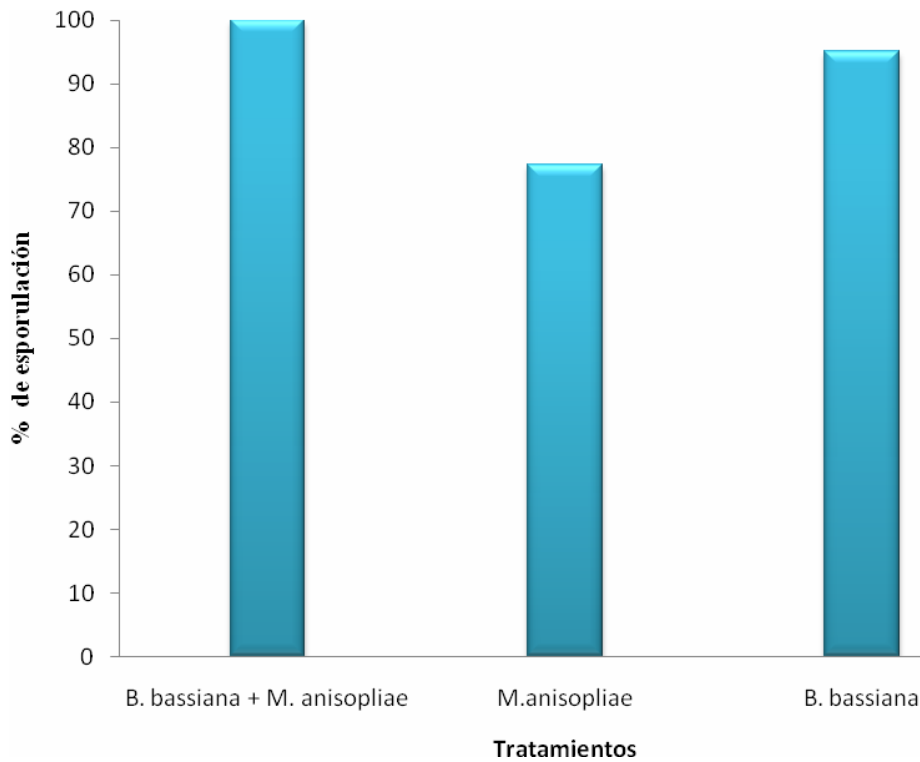


Gráfico 4: Porcentaje de esporulación de *C. sordidus* causada por *M. anisopliae*, *B. bassiana* y una combinación de *Beauveria* y *Metarhizium* para controlar *Cosmopolites sordidus* en campo, en el cultivo de plátano

Análisis de varianza para los tratamientos evaluados:

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig. (.5%)
Inter-grupos	188,143	3	62,714	1,774	,179
Intra-grupos	848,286	24	35,345		
Total	1036,429	27			

El análisis de varianza realizado con el programa estadístico SPSS indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos lo que indica que todos los tratamientos presentaron distintos porcentajes de control sobre el picudo negro *Cosmopolites sordidus*.

No se realizó otro análisis para comprobar estadísticamente, solo se asume por los mayores porcentajes que muestra el combinado y se puede decir que se acepta la hipótesis nula que el combinado de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* logran causar mayor mortalidad en campo que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de forma independiente contra *Cosmopolites sordidus* (Coleóptero: Curculionidae).

VII. CONCLUSIONES

- El tratamiento combinado de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* fue el que obtuvo mayor mortalidad alcanzando un 88.4% en laboratorio y 90.5% en campo.
- La combinación de las cepas 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* logra los más altos porcentajes de esporulación, en campo con 100% y en laboratorio con un 98.1%.
- El combinado de la cepa 114 de *Beauveria bassiana* y la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* es altamente patogénica sobre el picudo negro del plátano, *Cosmopolites sordidus*.

VIII. RECOMENDACIONES

- Recomendamos que *Beauveria bassiana* y el combinado de *Metarhizium anisopliae* + *Beauveria bassiana* pueden ser utilizados en campo para el control de *Cosmopolites sordidus* ya que cumplieron con todos los parámetros establecidos para considerarles aceptables para el control de la plaga y también su re-aislamiento debido a que es más fácil ya que presentan buena esporulación.
- Evaluar otro tipo de formulación de *Metarhizium anisopliae* + *Beauveria bassiana* para el control de *Cosmopolites sordidus*.
- Hacer aislamientos de la cepa Monte Rosa de *Metarhizium anisopliae* a partir de los insectos esporulados.
- Evaluar persistencia de los hongos después de terminar la fase de campo para verificar la patogenicidad de éste después de un periodo de tiempo determinado.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Alves. S.B. Control microbiano de insectos, Editore Manole LTDA, 1986. Sao Paulo, Brasil 1993. 125 p.
- Altieri, M.A (et al). El control biológico clásico en América latina en su contexto histórico. Revista internacional sobre banano y plátano, volumen 10 N° 1, Colombia, junio 1989 78 p.
- Barrientos, L. Uso de hongos entomopatógenos en el control de plagas en el campo; comercialización, uso actual y futuro de hongos entomopatógenos, curso de patología de insectos. Ciudad Victoria. Tamaulipas, México, 2002, 192 p.
- Biotecnología. Hongos entomopatógenos. (En línea) Consultado el 28 de Mayo del 2008. Disponible en www.oriusbiotecnologia.com
- Botánica. Descripción botánica. (En línea) consultado el 03 de Julio del 2008 disponible en www.rjbalcala.com/dfd5.htm
- Carballo, M (et al).Control biológico de plagas agrícolas. Managua, Nicaragua, 2004. 232p.
- Castiñeiras, et al, 1990. Virulencia de 17 aislamientos de *Beauveria bassiana* y 11 de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *Cosmopolites sordidus*. Ciencias y Técnicas en la Agricultura. 51p.
- Ecología. Control cultural (En línea) consultado el 03 de julio del 2008 disponible en www.ecologia.edu.mt
- Gómez, M. Evaluación de la patogenicidad de 10 cepas de *B. bassiana* (Balls) Vuill y 10 cepas de *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin sobre adultos del picudo del algodón *Anthonomus grandis*. Tesis para optar al título de Lic. en Biología. UNAN LEON, 1996. 45 p.
- Germar. Gorgojo negro del plátano (*Cosmopolitas sordidus*). Caracas, Venezuela. 1824. Machete 18, 21 p.
- Guzmán, M. (et al). 1999. Elementos sobre enfermedades y plagas que afecten el cultivo del banano y el plátano en Costa Rica (en línea). Consultado el 10 de Agosto. 2009. Disponible en: www.fao.org/ag/agp/agpp/IPM/weeds/download/ban_ven.pdf
- INTA. Guía tecnológica MIP-Musáceas. Managua, Nicaragua 1997. 50 p.
- INTA. Guía Tecnológica MIP- MUSACEAS, N° 16. Managua, Nicaragua, 1997.

- Infoagro. El cultivo del plátano. (En línea) Consultado el 5 de Marzo del 2008. Disponible en www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/platanos.
- Jiménez, C. Uso de hongos entomopatógenos para el manejo de picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*) Editado por el CATIE INTA-MIP. Informe final del proyecto hongos entomopatógenos, Centro Nacional de Diagnostico Fitosanitario, MAG. 1941-94, Managua Nicaragua, 1994. 46 p.
- Jiménez, J. El control Biológico de plagas en banano. Habana, Cuba 2001. 38 p.
- Kaaya, (et al). 1993. Patogenicidad de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* para control de picudo negro de plátano *Cosmopolites sordidus*, 187p.
- Lecuona R. Microorganismo patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas. 1995. 338 p.
- Moreno, L. Evaluación de la eficacia de control de *Beauveria bassiana* (Balls) Vuill en picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (germar) (Coleóptera, Curculionidae) campus agropecuario 2002-2003. Tesis. Para optar a título de Ing. En agroecológica tropical. UNAN-LEON; 2003. 51p.
- Castillo, J. Evaluación agroeconómica de insecticidas para el control de insectos plaga del suelo (*Scaptocoris talpa* (Hemíptera: Cydnidae) y *Agriotes spp*; *Conoderus spp* (Coleóptero: Elateridae)) en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*); CONCEPCION, Escuintla, Guatemala. Como requisito para optar a título de ingeniero agrónomo en sistemas de producción agrícola. USC, Guatemala, 2001.
- Manuel Carballo (et al.) Control biológico de plagas agrícolas / 1ª Managua: CATIE, 2004. 232p. (serie técnica. Manual técnico/CATIE, N°53.
- Quiroz I. et al. Disponibilidad de aislados patogénicos de hongos entomopatógenos para el manejo de plagas insectiles de importancia de la región. Editado por CATIE-INTA/MIP. (NORAD-ASDI). Informe final de proyecto hongos entomopatógenos. Centro nacional de diagnostico fitosanitario, MAG. 1991-94. Managua Nicaragua, 1994.
- Silva, L. El cultivo del plátano: Guía práctica, Colombia, 1999. 42 p.
- Taller de producción y uso de hongos entomopatógenos. UNA-CATIE. Managua, Nicaragua. Abril 2000. 49p.
- Wikipedía. Plátano. (En línea) Consultado el 5 de Marzo del 2008. Disponible en es.wikipedia.org/wiki/Plátano.
- Zamorano. Guía para el manejo de plagas invertebradas en Honduras. Honduras, 1998.

X. ANEXOS

ANEXO 1

TABLAS:

Tabla # 1: Concentración encontrada en los platos utilizados para la prueba de patogenicidad para *Metarhizium anisopliae*.

Concentración	1×10^8 C/ml
---------------	----------------------

Tabla # 2: Mortalidad en porcentaje de *Cosmopolites sordidus* en bioensayo

DDI	<i>M. anisopliae</i>	<i>B. bassiana + M. anisopliae</i>	Testigo
4	0	1,7	0
6	0	26,7	0
7	10	0	0
8	5	0	0
10	1,7	0	0
11	11,7	38,3	0
13	0	10	0
16	3,3	0	0
18	0	11,7	0
21	20	0	0

Tabla # 3: Esporulación de los tratamientos sobre *Cosmopolites sordidus* en Bioensayo

<i>B. bassiana + M. anisopliae</i>	<i>M. anisopliae</i>
98.1 %	77.4 %

Tabla # 4: Mortalidad en porcentaje de *Cosmopolites sordidus* en campo

DDI	<i>B. bassiana</i> + <i>M. anisopliae</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>B. bassiana</i>	Testigo
3	0,75	3,5	1,4	0
4	2,6	2,9	3	0
6	1,7	5,9	6	0
7	0,75	6,7	4,3	0
9	10,6	5,4	2,8	0
11	26,7	4,4	15,15	2,1
13	7,75	1,4	3	0
14	16,2	2,4	8,2	1,8
18	7,8	1,9	6,1	0
20	1,7	0	0	0
21	6,8	0	0	0
23	5,3	9,3	5,7	0
25	1,9	16,9	3,3	0

Tabla # 5: Esporulaci3n de los tratamientos sobre *Cosmopolites sordidus* en Campo

<i>B. bassiana</i> + <i>M. anisopliae</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>B. bassiana</i>
100 %	77,2 %	95,1 %

ANEXO 2

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

Presupuesto para la validación de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de picudo negro del plátano (*Cosmopolites sordidus*)

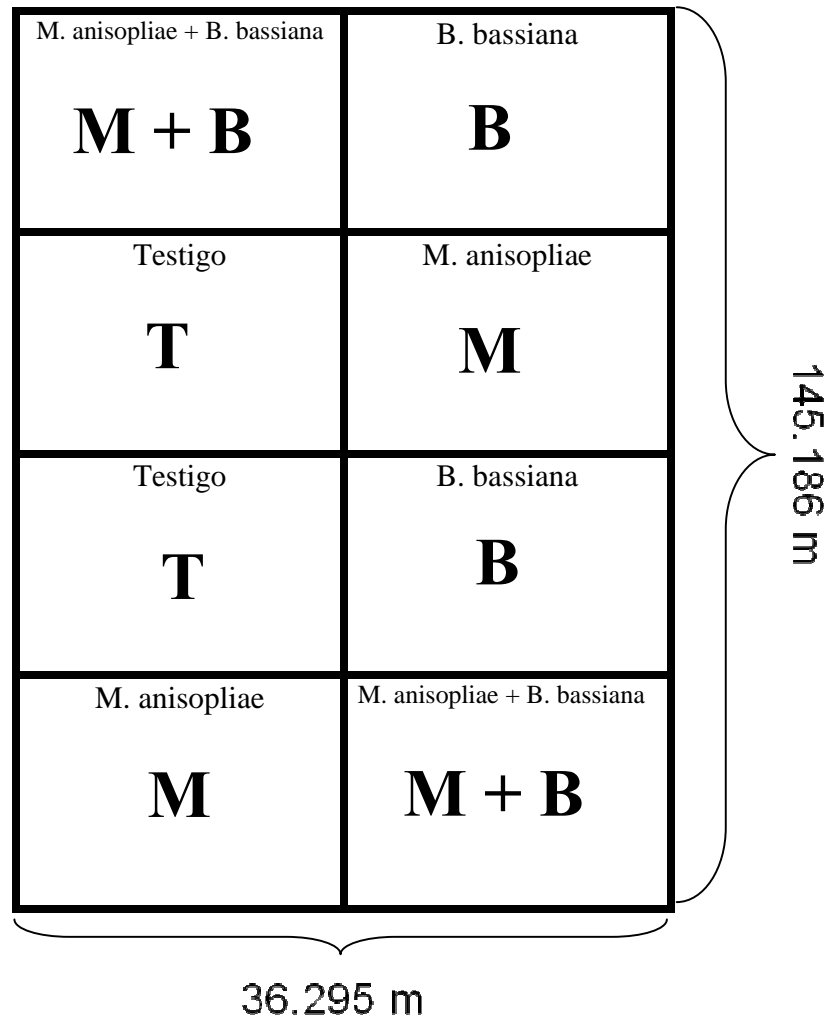
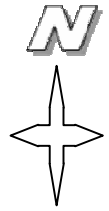
RUBRO	DESCRIPCION	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Material de laboratorio				
Beauveria bassiana	Dosis/ Mz	6	94.75	568.5
Metarhizium anisopliae	Dosis/Mz	7	180	1260
Alcohol	Litro	1	80	80
Papel toalla	Rollo	1	15	15
Pinzas	Unidades	2	76	152
Cloro	Litro	1	45	45
Algodón	Rollo	1	30	30
Papelería				
Marcadores	Unidades	3	14	42
Fotocopias	Unidades	260	0.5	130
Impresiones(B/N)	Unidades	110	3	330
Empastada	Unidades	5	120	600
Presentación en CD	Unidades	3	15	45
Impresiones color	Unidades	45	10	450
Imprevistos			10%	374.55
Total				C\$ 4120.05
Total				\$217.4

Nota: Tasa de cambio a 18.95

ANEXO 3

Diseño de la parcela
Campus Agropecuario № 2

Área Total: 5268.5 m²
Área Subparcelas: 658.6 m²



ANEXO 4

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

DMS

(I) Tratamientos en estudio	(J) Tratamientos en estudio	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
testigo	Metarhizium	-3,00000	3,17784	,355	-9,5587	3,5587
	Beauveria	-3,14286	3,17784	,333	-9,7016	3,4159
	MB	-7,28571(*)	3,17784	,031	-13,8444	-,7270
Metarhizium	Testigo	3,00000	3,17784	,355	-3,5587	9,5587
	Beauveria	-,14286	3,17784	,965	-6,7016	6,4159
	MB	-4,28571	3,17784	,190	-10,8444	2,2730
Beauveria	Testigo	3,14286	3,17784	,333	-3,4159	9,7016
	Metarhizium	,14286	3,17784	,965	-6,4159	6,7016
	MB	-4,14286	3,17784	,205	-10,7016	2,4159
MB	Testigo	7,28571(*)	3,17784	,031	,7270	13,8444
	Metarhizium	4,28571	3,17784	,190	-2,2730	10,8444
	Beauveria	4,14286	3,17784	,205	-2,4159	10,7016

* La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05.