

## ARTÍCULO ORIGINAL

### EFFECTO DE TRES CONCENTRACIONES DE *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN SOBRE EL DESARROLLO DE LARVAS DE *Stegasta* sp. (CHAMBERS), EN CONDICIONES DE LABORATORIO

### EFFECT OF THREE CONCENTRATIONS OF *Beauveria bassiana* (Balsam) VUILLEMIN ON THE DEVELOPMENT OF LARVAS OF *Stegasta* sp. (Chambers), IN LABORATORY CONDITIONS

**Silvia R. Segura-Contreras\* & Aída E. Carbajal- Villaverde\*\***

Laboratorio de Fitopatología y Entomología de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo .Perú  
E-mail: \*silvia\_sc16@hotmail.com; \*\*aidacarbajal@hotmail.com

#### RESUMEN

El control biológico es conocido por plantear alternativas de solución para regular y/o controlar poblaciones de insectos que pueden ocasionar pérdidas en la producción agrícola empleando para ello microorganismos e insectos, sus ventajas son no causar daño al medio ambiente, a las personas y animales; *Beauveria bassiana* es un hongo entomopatógeno capaz de ocasionar micosis que se desencadena en la muerte del huésped, por lo cual se planteó como objetivo evaluar el efecto del hongo sobre larvas de *Stegasta* sp, para lo cual se emplearon tres concentraciones del inóculo de *B. bassiana*  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  esp/mL, se evaluó el porcentaje de mortalidad, la concentración mínima del inóculo que causa mortalidad en las larvas, y los signos y síntomas en *Stegasta* sp parasitada; los resultados se analizaron mediante la fórmula de Abbott, Análisis de varianza y Rangos múltiples de Duncan; arrojando que *B. bassiana* es eficaz para controlar a *Stegasta* sp, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos con ambas pruebas estadísticas.

**Palabras claves:** *Beauveria bassiana*, *Stegasta* sp., entomopatógeno, control biológico.

#### ABSTRACT

The biological control is known for suggest alternative solutions to regulate or to control populations of insects that can cause losses in agricultural production using for it microorganisms and insects, their advantages are not causing environmental problems, to the persons and animals; *Beauveria bassiana* is an entomopathogenic fungus capable of causing mycosis that is triggered by the death of the host, for which was raised as aimed at evaluating the effect of the fungus on *Stegasta* sp larvae, for which used three inoculum concentrations of *B. bassiana*  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  esp/mL, evaluate the percentage of mortality, the minimum concentration of inoculum that caused mortality in larvae and the of signs and symptoms in *Stegasta* sp; the results were analyzed by means of Abbott's formula, Analysis of variance and Duncan's multiple Ranges; throwing that *B. bassiana* is effective to control *Stegasta* sp, existing significant differences between the processing with both statistical proof.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*, *Stegasta* sp., entomopathogenic, biological control.

**Recibido: 15 Agosto 2015**

**Aceptado: 22 Noviembre 2015**

#### INTRODUCCIÓN

Actualmente se desarrollan agentes de control biológico, organismos vivos como hongos, bacterias, virus e insectos que reducen la población de insectos plagas y patógenos que afectan a los cultivos. Los hongos en particular despiertan el interés de empresas y organismos de investigación por su papel en el control de insectos y enfermedades, sin dañar el medio ambiente y la salud (Guédez *et al.*, 2008). Entre los agentes entomopatógenos se incluyen hongos, bacterias, virus, nematodos y protozoos, de los cuales, los principales microorganismos utilizados para el control de plagas insectiles, son las bacterias y los hongos entomopatógenos, estos microorganismos son capaces de infectar y provocar enfermedades en insectos plagas,

causándoles finalmente la muerte (Echevarría, 2006; Sepúlveda *et al.*, 2008; Obando, 2010). Y afectan preferentemente a los insectos plagas de los cuales fueron aislados y son de baja o nula patogenicidad para el hombre y a los animales domésticos, pudiendo ser usados sin peligro (Obando, 2010).

Según Pucheta *et al.* (2006), los hongos entomopatógenos tienen un gran potencial como agentes controladores, constituyendo un grupo con más de 750 especies, diseminados en el medio ambiente y provocando infecciones fungosas a poblaciones de artrópodos; para López y Hans (2001), entre los géneros más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, mientras que para la FAO (2011), los géneros de importancia son *Metarhizium*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*.

Una especie utilizada frecuentemente en el control biológico es *Beauveria bassiana*. Este hongo pertenece a la clase Deutomycetes, orden Moniliales, familia Moniliaceae (Barnet y Hunter 1972). Se ha reportado atacando a más de 200 especies de insectos de diferentes órdenes, incluyendo plagas de gran importancia agrícola (Monzón, 2001).

*B. bassiana* es un organismo eucariótico heterótrofo, con células quitinizadas, hifas septadas que forman conidióforos, los cuales sostienen los conidios. Parasita otros insectos, mediante mecanismos físicos y químicos de infección. Fue descrita por primera vez por Jean Beauverie, en 1911, con el nombre de *Botrytis bassiana*. Un año más tarde en 1912, Vuillemin la clasificó en su clase actual. El ataque de este hongo sobre el insecto huésped, se realiza en diferentes etapas: adherencia, germinación, diferenciación, penetración y finalmente, se produce la invasión y proliferación de las hifas en el tracto digestivo del cual se alimenta y lo momifica (Echevarría, 2006).

Entre las plagas más importantes controladas por este hongo están la broca del café, la palomilla del repollo y el picudo del plátano *Cosmopolites sordidus*.

Algunas referencias encontradas, muestran su uso virulento (*B. bassiana* y *M. anisopliae*) para controlar larvas de *Phyllophaga crinita* "gallina ciega", un coleóptero que es considerado plaga rizófaga de gran importancia económica tanto en pastos ornamentales como en diversos cultivos de gramíneas en el estado de Texas, Estados Unidos, y Tamaulipas, México, respectivamente (Nájera y col., 2005). También se evaluó el efecto de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre larvas de *Ancognatha scarabeoides* que causan daños en cultivos de trigo y papa en los municipios del departamento de Nariño (Colombia), presentándose en altas infestaciones de poblaciones de "chisas" encontrándose hasta 350 larvas/m<sup>2</sup>, representando un factor limitante para la producción de los cultivos (Lucero *et al.*, 2004).

Otro registro encontrado de *B. bassiana*, atacando larvas de *C. externa*, se determinó que al ser aplicado afectan no solo a los insectos plagas; sino también, a los insectos benéficos, por lo cual se determinó la compatibilidad dentro del programa de manejo integrado de plagas (Obando, 2010).

Un trabajo realizado con *Musca domestica* evidencia el efecto del hongo *B. bassiana* sobre el control del III estadio larval de esta especie en condiciones de laboratorio arrojando resultados positivos en su control, concluyéndose como letal sobre la plaga (Chafloque, 2012).

También se evaluó el efecto biocida de dos microorganismos entomopatógenos, donde *B. bassiana* fue uno de ellos; se determinó que las diferentes concentraciones utilizadas en los bioensayos, presentan una alta capacidad biocida sobre el III estadio larval de *A. aegypti* en condiciones de laboratorio (Rebaza, 2010).

Evidencias de trabajos realizados describen el uso de estos hongos al combatir las poblaciones de *Ceratitis capitata* "mosca del mediterráneo", la cual mostró resultados positivos en laboratorio; de tal manera que existen diversidad de plagas que pueden ser atacadas por hongos entomopatógenos (Porrás & Leucona, 2008).

García *et al.*, (2006), realizando reaislamientos sucesivos de subcultivos de *B. bassiana* sobre *P. vorax* informan que las conidias provenientes del tercer subcultivo presentaron la mayor actividad entomopatogénica, con un porcentaje de mortalidad del 96%, sugiriendo que dicho subcultivo es el adecuado para realizar las producciones masivas de conidias.

Rodríguez *et al.* (2006), mediante estudios realizados en laboratorio evaluaron la virulencia y efectividad de Qu-M558 de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* y Qu-B912 de *Beauveria bassiana*. En un segundo estudio al aplicar suspensiones de 0 a  $10^8$  conidias mL<sup>-1</sup> del aislamiento Qu-B912, sobre hojas de tomate a través de la torre de pulverización Potter, demostraron que las larvas del tercer estadio de *T. absoluta* al ser alimentadas con esas hojas infectadas. Trece días después de la inoculación los porcentajes de mortalidad alcanzaron un 68% a la máxima concentración de inóculo.

Castillón *et al.* (2002), realizaron investigaciones para el control de picudo negro *Cosmopolites sordidus* (Germar) en cultivos de plátano “Dominico hartón” Musa AAB con prácticas culturales y aplicación del hongo nativo patógeno *Beauveria bassiana* (Bauveril), mostrando diferencias significativas en la reducción de la población de *C. sordidus* y otras especies dañinas como *Metamasius hebetatus* y *M. hemipterus* con parasitismo superior al 30%. Igualmente se redujo el coeficiente de infestación en 90%. Se aumentó el peso del racimo en 5.5 kg con una calidad uniforme en el peso de los dedos (450 kg), considerada de primera para el mercado en Colombia.

El uso excesivo de pesticidas para controlar a las plagas insectiles en cultivos agrícolas, ha ocasionado alteraciones biofísicas en el medio ambiente, así como, el desequilibrio biológico debido al desarrollo de resistencia y a la destrucción de los enemigos naturales, ocasionando una serie de disturbios bioecológicos al originar la aparición de plagas consideradas anteriormente como potenciales, hoy en día; son plagas de importancia económica en la agricultura (Obando, 2010). Por lo cual, la protección al medio ambiente y el desarrollo humano sustentable deban ir de la mano. Sin embargo, uno de los problemas importantes que se vive a nivel mundial es la conservación del ambiente y la salud humana, por lo que resulta innegable la necesidad de aplicar en la agricultura, la investigación sobre la creación y utilización de métodos biológicos para la protección de los cultivos (Guédez *et al.*, 2008).

El manejo integrado de plagas contempla el fortalecimiento del control natural con el apoyo de otras estrategias, incluyendo el control químico, para mantener reguladas las poblaciones de las especies plaga en niveles que no causen daño económico. El uso de entomófagos y entomopatógenos en el control de plagas, no busca eliminar la aplicación de insecticidas, sino su uso racional y el empleo de métodos más amigables con el ambiente (Ávila y col., 2006). Es por ello, que surge la necesidad de utilizar métodos alternativos para la eliminación de plagas, convirtiéndose el control biológico en el más recomendado debido a sus múltiples bondades, que mediante el empleo de enemigos naturales como: parasitoides, depredadores y patógenos; regulan densidades poblaciones de una plaga a un nivel menor del que deban existir en un campo sin causar pérdidas por daños (Sánchez, 2003; Urbina, 2002; Vergara, 2004).

Por todo lo antes mencionado mediante esta investigación se demostró el efecto de *B. bassiana* sobre larvas de *Stegasta* sp, evaluando el porcentaje de mortalidad, la concentración mínima del inóculo que causo mortalidad en las larvas de *Stegasta* sp, y la descripción de signos y síntomas en *Stegasta* sp causados por *B. bassiana*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó durante los meses de Abril a Julio del 2013, en los laboratorios de Entomología aplicada y Fitopatología, que forman parte de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional de Trujillo.

### 1. Obtención, reactivación, dosificación e inoculación de *B. bassiana*

#### 1.1. Obtención de *B. bassiana*

*B. bassiana* se adquirió en Soluciones Agrosostenibles S.A.C. "Solagro". La presentación del producto fue en una bolsa de polipropileno de 800 gr, el mismo que contenía al agente biológico (conidias desde  $1 \times 10^9$  por cada gramo), este se encontraba en un sustrato estéril y es conocido comercialmente como Beauvesol ([www.solagro.com.pe](http://www.solagro.com.pe)).

## 1.2. Reactivación de *B. bassiana*

La reactivación del hongo se realizó a partir de la siembra de los granos de arroz en placas Petri, las cuales contenían medio de cultivo PDA.

### 1.2.1 Preparación de medio de cultivo

Se realizó la preparación del medio de cultivo PDA, se usó (20 g papa, 100 ml agua destilada, 2 g sacarosa, 3 g agar agar).

En un vaso de precipitación se colocó la papa lavada, pelada y picada en pequeños trozos, se agregó 50 ml de agua destilada y posteriormente se llevó a una cocina eléctrica hasta obtener una papilla. Seguidamente en un matraz se colocó los 50 ml de agua destilada restante y se le agregó 3 g de sacarosa hasta disolverla, así mismo, se calentó la solución y se le fue agregando el agar agar hasta ser disuelto completamente. Una vez disuelto por completo el agar se agregó el extracto de la papa en el matraz (este debe ser filtrada por una tela nylon, para evitar la presencia de cualquier grumo), terminado este procedimiento se llevó a autoclave para ser esterilizado a  $100^{\circ}\text{C}$ , 30 `.

Al término del tiempo de esterilización se agregó el antibiótico, que consistió en la aplicación de una cápsula de Doxiciclina, ésta para evitar la contaminación del medio de cultivo PDA, este se hizo cuando el medio estaba a  $30^{\circ}\text{C}$ .

## 1.3 Siembra de hongo entomopatògeno en medio de cultivo estéril

Al inicio de este paso se tuvo en cuenta las condiciones de asepsia para evitar cualquier tipo de contaminación, por lo cual se realizó las siguientes actividades: desinfección de la cámara de siembra y mesa de trabajo con lejía diluida al 5% y etanol  $90^{\circ}$ , uso de mecheros a los costados para disminuir los microorganismos presentes en el ambiente, esterilización del material usado como placas Petri y pinzas.

Al término de los pasos antes mencionado le siguió la dispensación del medio de cultivo en las placas Petri, se agregó 15 ml aproximadamente en cada placa Petri y luego que solidificó, proseguimos con la siembra de los granos de arroz colonizado en las placas. Se colocaron 4 granos de arroz por cada placa Petri, estos fueron distribuidos en toda la superficie de la placa con ayuda de una pinza estéril. Todo este procedimiento bajo las condiciones de asepsia ya especificadas.

Las placas Petri sembradas se dejaron en el laboratorio hasta observar la aparición del micelio del hongo, a partir del cual se realizó un monocultivo, el mismo que sirvió para realizar las distintas concentraciones de las dosis

## 1.4 Monocultivo de *B. bassiana*

Para la obtención del monocultivo o cultivo puro se realizó un reaislamiento del hongo a partir de la primera siembra en placas Petri, este monocultivo se realizó tomando una muestra de micelio con el asa bacteriológica estéril en un nuevo medio de cultivo PDA. Este cultivo se conoce como puro porque únicamente está el hongo que se desea que crezca, sin contaminantes (Fig. 1).

Para este paso se realizó el mismo procedimiento en la preparación del medio de cultivo (1.2.1) y se tuvo en cuenta las mismas condiciones de asepsia.

## 1.5 Preparación, propagación y estandarización del inóculo

S. Segura & A. Carbajal: Efecto de tres concentraciones de *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Stegasta* sp.

A partir del cultivo puro (monocultivo) se hizo una resiembra en frascos de Roux y penicilina con PDA inclinado, para dejarlos en incubación a temperatura ambiente durante siete días, posteriormente se agregó una solución acuosa de 10-40 mL de Tween 80 al 0.1 % en los frascos, obteniendo una suspensión de esporas las que fueron recibidas en un matraz estéril. A partir de esta suspensión se realizó un recuento de esporas /mL en la cámara de Neubauer, y se estandarizó a una concentración de  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  esporas /mL, las que nos sirvieron de inóculo para los distintos tratamientos.

## 1.6 Inoculación

Obtenidas las dosis de los hongos  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  esporas/mL; se realizó la inoculación por aspersión sobre las larvas de *Stegasta* sp., las que fueron colocadas en placas de plástico, este paso se realizó en otro ambiente.

Tomando como ejemplo la metodología usada por Obando, 2010. La muestra estuvo constituida por cuatro grupos (A, B, C, D) de 25 ejemplares cada uno, de los cuales 100 (25:25:25) fueron ejemplares problema y 25 los ejemplares testigo, haciendo este ensayo una suma de tres repeticiones por grupo. A los ejemplares problema se les inoculó por aspersión una solución de Tween conteniendo las diferentes concentraciones de las esporas ( $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  esporas /mL.); mientras que a los ejemplares testigo se les inoculó por aspersión una solución acuosa al 0.1 % de Tween 80, tratando en lo posible, en ambos casos de suministrar la misma cantidad de inóculo correspondiente a cada testigo y problema de cada grupo.

Después de la inoculación se evaluó cada 24 horas la mortalidad de los ejemplares a prueba; así como también la aparición de síntomas y/o signos de la infección micótica de los insectos en cada grupo. Cabe mencionar también que a los ejemplares problema y testigo se les siguió proporcionando alimento.

## 2. Colecta y crianza de la plaga *Stegasta* sp.

### 2.1 Captura y colección de *Stegasta* sp

La captura de la plaga se realizó en el campo de cultivo ubicado en el caserío de Zaraque, perteneciente a la provincia de Virú, departamento de La Libertad.

La captura se realizó durante dos salidas de campo programadas, específicamente a cultivos de *Arachis hypogaea* L., "maní" en donde encontramos los diferentes estados biológicos de la plaga, colectando algunos individuos a partir de los cuales, se realizó una crianza en el laboratorio; recuperando así: adultos, huevos, larvas. (Anexo 4)

### 2.2 Crianza de *Stegasta* sp.

Las larvas capturadas fueron colocadas en recipientes de plástico y para mantenerlas, se les alimentó con hojas de maní, hasta que inicie la fase de pupa, luego fueron colocados en recipientes pequeños, de plástico y con un pequeño algodón húmedo para evitar la desecación de la misma hasta la emergencia del adulto.

### 2.3 Acondicionamiento del sistema de crianza (insectario)

El insectario estuvo conformado por un recipiente de plástico de 20 cm de altura y de 15 cm de diámetro aproximadamente, en la parte superior de la abertura del recipiente se le confeccionó una manga hecha a base de tela tul u organza, esto para facilitar el ingreso de la mano del experimentador para proveer de alimento a los insectos adultos. En el interior del recipiente se colocaron los insectos adultos machos y hembras, a los cuales se les alimentó con agua azucarada y agua pura empapados en algodón y colocados en chapitas plásticas en el interior del recipiente.

Para la ovoposición, dentro del mismo sistema se acondicionó una base plástica que sirvió de soporte para el frasquito de penicilina que contenía agua, y algodón que sujetaban la plantita (brote tierno) la que sirvió cuando la hembra se encontraba lista para colocar los huevos. (Fig. 2)

En el recipiente se colocaron varios individuos, el dimorfismo sexual está representado por la diferencia de tamaño de los especímenes.

### 3. Tratamiento

El diseño experimental presentó tres tratamientos que fueron las diferentes concentraciones del hongo sobre las larvas de *Stegasta* sp. Los tratamientos son  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  esporas/mL y cada concentración tuvo 3 repeticiones, el diseño también contó con un grupo testigo con Tween 80 al 0.1 %.

Tabla 1. Diseño experimental para las diferentes concentraciones de esporas de *B. bassiana*

Tratamientos	Repeticiones		
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Grupo testigo A (tween 80 al 0.1% /agua destilada)	Larvas /Tween	Larvas /Tween	Larvas /Tween
Grupo B (esporas /ml)	$10^5$	$10^5$	$10^5$
Grupo C (esporas /ml)	$10^6$	$10^6$	$10^6$
Grupo D (esporas /ml)	$10^7$	$10^7$	$10^7$

### 4. Evaluación del bioensayo

#### 4.1 Observación de síntomas y signos

Antes y después de la aplicación tópica de las suspensiones del hongo entomopatògeno sobre las larvas de *Stegasta* sp. , observó el progreso de la infección micòtica, anotando la aparición de cambios en el comportamiento, síntomas como pérdida de apetito y/o parálisis, pigmentaciones, u otros, que se presentaron mientras duró el bioensayo, siendo el tiempo de evaluación no mayor de 14 días(Mendoza ,2002).

#### 4.2. Determinación del porcentaje de muerte

Los porcentajes de mortalidad luego de 14 días de evaluación se corrigieron mediante la fórmula de Abbott (Alves y col. 1998 en Obando, 2010), y los datos generados fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de contraste múltiple de rangos Duncan (Obando, 2010).

$$\%Mortalidad = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

$P_i$  = población inicial

$$Pf = \text{poblaciòn final}$$

La mortalidad se corrigió utilizando la fórmula de Abbott

$$\text{Mortalidad corregida} = \frac{\% MT - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100$$

Donde:

*MT* = Mortalidad en el tratamiento

*Mt* = Mortalidad en el testigo

## RESULTADOS

Tabla 2: Mortalidad (%) de larvas de *Stegasta* sp (III estadio), sometidos a tres concentraciones diferentes de esporas de *B. bassiana*.

Tratamientos	Mortalidad	
	%	Corregida <sup>1</sup>
<b>Test. Tween<sup>2</sup></b>	5.33	-
<b>1,23x10<sup>5</sup> esp/ml</b>	76.7	72.0
<b>1,23 x 10<sup>6</sup> esp/ml</b>	83.3	80.0
<b>1,23 x 10<sup>7</sup> eps/ml</b>	100	100

1. Mortalidad corregida mediante la fórmula de Abbott

2. Testigo: agua destilada + tween 80 (0.1%)

Los tratamientos 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> y 10<sup>7</sup> esp/ml de *B. bassiana* causan la muerte de larvas de *Stegasta* sp, aumentando la mortalidad conforme aumenta la concentración del inóculo del hongo empleado.

Tabla 3: Análisis de varianza (ANOVA) para mortalidad de larvas de *Stegasta* sp (III estadio), sometidos a tres diferentes concentraciones de *B. bassiana*.

Fuente de variación	Gl	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	3	118,917	39,6389	158,56	0,0000
Intra grupos	8	2,0	0,25		
Total	11	120,917			

La razón F, que en este caso es igual a 158,56, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de grupos. Puesto que el valor P del test F es inferior a 0,05 hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de larvas muertas entre un nivel de tratamiento y otro, con un nivel del 95,0 % de confianza.

Tabla 4: Análisis de comparación de medias mediante la prueba de múltiple rangos de Duncan para larvas muertas por tratamiento

<b>Tratamientos</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
tween80 (0.1%)	3	1,66667	X
1.23x10(5) esporas/ml	3	7,66667	X
1.23x10(6)esporas/ml	3	8,33333	X
1.23x10(7)esporas/ml.	3	10,0	X

Se observa la identificación de tres grupos homogéneos según la alineación de las medias (X) en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellas medias que compartan una misma columna, con un nivel del 95,0 % de confianza.

Tabla 5: Síntomas y signos producidos en larvas de *Stegasta* sp, tratados con tres concentraciones de *B. bassiana*. (Fig. 3)

<b>Síntoma /signo</b>	<b>Tratamientos</b>			
	<b>Testigo<sup>1</sup></b>	<b>1,23x10<sup>5</sup> esp /ml</b>	<b>1,23 x 10<sup>6</sup> esp /ml</b>	<b>1,23 x 10<sup>7</sup> eps /ml</b>
<b>Movimientos y reflejos lentos</b>	-	+	+	+
<b>Alteración del color del tegumento</b>	-	+	+	+
<b>Deformación del cuerpo del insecto</b>	-	-	-	+
<b>Aparición de micelio sobre el cuerpo de la plaga</b>	-	+	+	+

<sup>1</sup> Testigo: Agua destilada + tween 80 (0.1%)

Leyenda:

+ : Presencia de síntoma o signo

- : Ausencia de síntoma o signo





Fig. 3. Observación de síntomas y signos en larvas de *Stegasta* sp. tratadas con *B. bassiana*, a los 14 días de la inoculación. A (sup. izq.). Larva sana, B (sup. centro). Larva deforme, C (sup. der.). Alteración de color de tegumento (rosado-negro), D (inf. izq.). Aparición del micelio, E (inf. der.). Momificación.

## DISCUSIÓN

Los porcentajes de mortalidad considerados en el experimento, muestran como la dosis máxima a la concentración  $1,23 \times 10^7$  (Tabla 2) esp/ml, mediante la cual se logra eliminar a todas las larvas consideradas en la población inicial, este efecto obviamente se produjo por las unidades infectivas que constituyen las esporas de *B. bassiana* sobre el cuerpo del insecto. Obando (2010), expresa que el efecto del mismo hongo a la concentración de  $1,24 \times 10^7$  cond/mL, tuvo el menor efecto patógeno sobre la supervivencia de los diferentes estados larvales de *Chrysoperla externa* reflejando la mortalidad en un 20 %, el cual es mínimo comparado con el porcentaje de mortalidad obtenido en el experimento realizado que fue de 100 % (Tabla 2) Este resultado también puede deberse a la susceptibilidad propia de cada individuo como lo menciona Nájera y col (2005), el que coincide con los resultados obtenidos por Poprawski and Yule (1991); quienes evaluaron aislamientos de *M. anisopliae* y *B. bassiana* contra larvas de *Phyllophaga anxia*, y concluyeron que *P. anxia* es más susceptible a la infección causada por *Metarhizium*.

Los signos y síntomas observados durante los 14 días que duró la experiencia (Tabla 5), muestran cada uno de los ataques que causó el hongo entomopatógeno, los mismos que empiezan una vez que la spora viable se fija al integumento del insecto y encuentra el espacio propicio para establecer la asociación patógeno –hospedero como lo menciona Nájera y col., (2009). Los signos y síntomas observados se deben a las toxina que el hongo excreta entre las que se incluyen proteasas, quitina, quitobiasas, lipasas y otras enzimas hidrolíticas que van degradando la cutícula y proporcionan a su vez nutrientes al hongo (Monzón, 2001).

La inoculación se realizó mediante “aspersión”, arrojando un porcentaje de mortalidad de 72 % a una concentración de  $1.23 \times 10^5$  esp/ml, lo contrario sucede en la experiencia de Zúñiga y Redolfi (1981), quienes experimentando con *B. bassiana* sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*, determinaron que el hongo es más efectivo si es inoculado por espolvoreo y en larvas más jóvenes recién emergidas que en las de III estadio, debido a que existe una inmunidad por maduración en la cual las larvas jóvenes son más susceptible que las larvas viejas para la

mayoría de enfermedades. Indicando además que *B. bassiana* en condiciones de laboratorio infecta huevos, larvas y pupas de *Spodoptera frugiperda*.

## CONCLUSIONES

- Las diferentes concentraciones utilizadas de *B. bassiana* causan un alto porcentaje de mortalidad sobre el III estadio larval de *Stegasta* sp, en condiciones de laboratorio.
- Las concentraciones de *B. bassiana* causaron variaciones en el desarrollo de las larvas, esto se observó con la presencia de signos y síntomas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, J.; L. Rodríguez & N. Maldonado. 2006. Libro Técnico: Manejo integrado de plagas de soya en el Trópico de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Inifap).
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3th ed. Burgess Publishing Company. Minneapolis, MN, USA. 241 p.
- Castillón, A.; J. Urrea; C. Cardona; A. Zuluaga; O. Morales & A. Huberto. 2002. Potencial del hongo nativo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, como un componente de manejo integrado del Picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) en Colombia (en línea). Consultado 3 Junio 2013. Disponible en [http://www.musalit.org/pdf/IN030045\\_es.pdf](http://www.musalit.org/pdf/IN030045_es.pdf).
- Chafloque, C. 2012. Efecto de diferentes concentraciones de *Beauveria bassiana* CCB-LE 265, *Isaria fumosorosea* CCB-LE 821 y *Metarhizium anisopliae* CCB-LE 302 sobre larvas del III estadio de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Tesis para optar el título de Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo.
- Echevarría, F. 2006. Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Biología. Trabajo Final de Graduación para optar el grado de Bachiller en Ciencias Biológicas.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparásitos: estado actual con énfasis en América Latina. En Motta, P., Murcia, B. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science (en línea) 2011, 6 (Sin mes): Consultado el 27 de noviembre de 2013. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92819767006>> ISSN 1980-993X
- García, M.; L. Villamizar; L. Torres & A. Cotes. 2006. Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* (Costa Rica), nº 77.
- Guédez, C.; C. Castillo; L. Cañizales & R. Olivar. 2008. Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 7 (13), 50 – 74.  
[http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/canadeazucar/cana1501/texto/aplicacion.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/canadeazucar/cana1501/texto/aplicacion.htm)
- López, L. & J. Hans. 2001. Biodiversidad del suelo: control biológico nematodos fitopatógenos por hongos nematófagos. *Cuaderno de biodiversidad*, 6 (12-15), 145-173.
- Monzón, A. 2001. Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No- Sintéticos: Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas*, 63(1), 95-103.
- Nájera, M.; M. García; R. Crocker; V. Hernández & L. Rodríguez. 2005. Virulencia de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, nativos del occidente de México, contra larvas de tercer estadio de *Phyllophaga crinita* (Coleoptera: Melolonthidae) bajo condiciones de laboratorio. *Fitosanidad*, 9(1).
- Obando, G.C. 2010. Efecto de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, sobre larvas de *Chrysoperla externa* Hagen, bajo condiciones controladas de laboratorio. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo.
- Poprawski, T. & W. Yule. 1991. Incidence of Fungi in Natural Population of *Phyllophaga* spp. and Susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Col., Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina), J. Appl. Ent. 112:359-365, E.U.
- Porras, L., y Leucona, R. (2008). Estudios de laboratorio para el control de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (Mosca del Mediterráneo) con *Beauveria bassiana*. *Rev. Agronomía Costarricense*, 32 (2), 119-128.
- Pucheta, M.; A. Flores; S. Rodríguez & M. De la Torre. 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia*, 31 (12), 856-860.
- Rebaza, N.L. 2010. Capacidad biocida de *Bacillus thuringiensis* SH-14 var. *Israelensis* y *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo.

S. Segura & A. Carbajal: Efecto de tres concentraciones de *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Stegasta* sp.

- Rodríguez, M.; M. Gerding & A. France.** 2006 .Efectividad de aislamientos de hongos entomopatógenos sobre larvas de polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultura técnica (Chile)*, 66(2), 159-165.
- Sánchez, J. A.** 2003. Adiestramiento en la producción de hongos *Paecilomyces fumosoroseus* Wize y *Paecilomyces lilacinus* Thom, en el laboratorio de control biológico de la asociación de propietarios de terrenos de Chavimochic (APTCH), San José –Virù. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo.
- Sepúlveda, M.; M. Gerding & A. France.** 2008. Entomopatógeno *Bioinia*: Un Producto de la Investigación. Plagas y
- Urbina, R.** (2002). Producción de hongos entomopatógenos en el laboratorio de la asociación de propietarios de los terrenos de Chavimochic de Febrero a Abril. Tesis para optar el título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo.
- Vergara, R.** 2004. Enfoque agroecológico del empleo de entomopatógenos para el control de plagas, Conferencia dictada en el Octavo Seminario de Agroecología Agromedicina y Medio Ambiente. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Zúñiga, D. & I. Redolfi.** 1981. Infección de *Beauveria bassiana* (Bals.)(Deuteromycetes: Moniliales) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) en laboratorio. *Revista Peruana de Entomología*, 24(1), 103-106.

