

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Académico Profesional de Biología Microbiología**

**“Concentración óptima de conidias de *Beauveria bassiana* para el  
biocontrol de las larvas de *Spodoptera frugiperda* J.E.Smith  
(Lepidóptera-Noctuidae) en condiciones de Laboratorio”**

**TESIS**

**Presentada por:**

**BACHILLER ISAURA EUGENIA LUQUE CANDIA**

**Para optar Título Profesional de:**

**BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO**

**TACNA-PERÚ**

**2014**

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA  
FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS 216

TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO  
– MICROBIÓLOGO

El secretario Académico Administrativo de la facultad de ciencias, certifica que mediante la resolución de la Facultad N°7756 – 2014 – FACI/UNJBG se ha designado como jurado calificador para la sustentación de la tesis: "Concentración optima de conidias de *Beauveria bassiana* para el biocontrol de las larvas de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidóptera – Noctuidae) en condiciones de Laboratorio", conformado por:

PRESIDENTE:	MSc. César Efraín Rivasplata Cabanillas
SECRETARIO:	Mblgo. Luis Lloja Lozano
VOCAL:	Blgo. Víctor Carbajal Zegarra

Quienes calificaron el trabajo de tesis sustentado en acto público el día 06 de Junio del 2014, a las 10:00 horas, por la Bachiller ISAURA EUGENIA LUQUE CANDIA, de la Escuela Académico Profesional de Biología – Microbiología, para optar el título profesional de Biólogo – Microbiólogo.

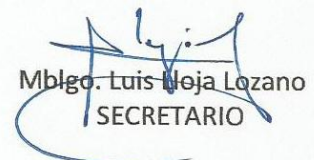
El jurado calificador en forma secreta e individual, emitieron sus calificaciones con el siguiente resultado:

Aprobado por unanimidad con la nota de 16 (DIECISEIS) con el calificativo de bueno.

Para ratificar firman:



MSc. César Efraín Rivasplata Cabanillas  
PRESIDENTE



Mblgo. Luis Lloja Lozano  
SECRETARIO



Blgo. Víctor Carbajal Zegarra  
VOCAL

## DEDICATORIA

*A Dios por estar siempre a mi lado y guiarme por el buen camino.*

*A mis padres y hermanos por todo su apoyo, confianza, consejos y amor en todo momento de mi vida.*

*A mis maestros y amigos por sus enseñanzas y amistad.*

*A Luis por su amor, apoyo y dedicación incondicional en el logro de mis anhelos.*

## AGRADECIMIENTO

*A mis profesores por ayudarme a mejorar mi trabajo con sus recomendaciones.*

*A mi asesor de tesis, Ms.Sc. Daladier Castillo Cotrina, por su asesoría y apoyo constante en la ejecución del presente trabajo.*

*A Luis y a mis amigos por su entusiasmo y voluntad de colaborar, y a todas aquellas personas que de varias formas contribuyeron en la realización de este trabajo.*

## RESUMEN

Se evaluó la concentración óptima de conidias de *Beauveria bassiana* para el biocontrol de larvas de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio. El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Micología – Virología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, a una temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa de  $90\pm 2\%$  durante los meses de Agosto a Noviembre 2013. Se utilizó cinco concentraciones diferentes de con/ml de *B. bassiana*; tratamiento experimental y un tratamiento control constituido por agua destilada. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones y 20 unidades experimentales (larvas de *S. frugiperda*) por repetición. Las suspensiones de conidias fueron aplicadas tópicamente sobre cada una de las 20 larvas de *Spodoptera* y cada una de las larvas fue evaluada durante 7 días en que duró la experimentación.

Se evaluó el máximo número de larvas muertas acumuladas; esto sirvió para determinar el mayor porcentaje de mortalidad de cada tratamiento. El mayor valor de los máximos porcentajes a su vez sirvió para establecer la concentración óptima de conidias de *B. bassiana* en

que se produjo. También se evaluó la tasa de mortalidad dividiendo el máximo número de larvas muertas acumuladas entre el número de días en que estas muertes se produjeron. El mayor valor de tasa de mortalidad sirvió para determinar la concentración óptima de conidias de *B. bassiana* que a su vez fue donde se dio el mayor valor de tasa de muerte.

Se determinó que la concentración óptima de conidias dado por el tratamiento  $1 \times 10^9$  con/ml de *B. bassiana* originó el mayor porcentaje de mortalidad sobre las larvas de *S. frugiperda*; así mismo, esta misma concentración produjo la mayor tasa de mortalidad siendo de 2,33 larvas/día sobre *S. frugiperda*.

## ÍNDICE

<b>Contenido</b>		<b>Pág.</b>
	HOJA DE JURADO	i
	DEDICATORIA	ii
	AGRADECIMIENTO	iii
	RESUMEN	iv
	ÍNDICE	vi
	LISTA DE CUADROS	ix
	LISTA DE FIGURAS	xi
	LISTA DE ANEXOS	xii
I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Problemática de la investigación	2
1.2	Objetivos	4
1.3	MARCO TEÓRICO	5
1.3.1	Generalidades	5
1.3.2	Características generales de <i>S. frugiperda</i>	12
A.	Ubicación taxonómica	12
B.	Hábitat y distribución	12
C.	Descripción biológica	13

D.	Ciclo de vida	16
1.3.3	Características generales de <i>B. bassiana</i>	18
A.	Ubicación taxonómica	19
B.	Descripción morfológica	19
C.	Modo de acción	20
II.	MATERIAL Y MÉTODOS	25
2.1	Lugar de experimentación	25
2.2	Material biológico	25
2.3	Diseño de la investigación	26
2.4	Obtención de almacigo de maíz	26
2.5	Determinación del ciclo biológico de <i>S. frugiperda</i>	28
2.6	Obtención de diferentes concentraciones de conidias de <i>Beauveria</i>	30
2.7	Experimentación del biocontrol por aplicación de <i>B. bassiana</i>	31
2.8	Evaluación de la experimentación	32
2.9	Identificación del hongo	33
2.10	Determinación de la concentración óptima de conidias de <i>B. bassiana</i>	34
2.11	Establecimiento de la concentración óptima de conidias de <i>B. bassiana</i>	34
2.12	Análisis estadístico	35

III.	RESULTADOS	36
IV.	DISCUSIÓN	48
V.	CONCLUSIONES	52
VI.	RECOMENDACIONES	53
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
VIII.	ANEXOS	67

## LISTA DE CUADROS

### Cuadro

	Pág.
1. Promedios del porcentaje de mortalidad de 20 larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> causadas por diferentes concentraciones de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> .	37
2. Valores máximos de mortalidad de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> en sus tres repeticiones ( <i>R</i> ) y promedios causadas a los siete días de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> .	40
3. Análisis de varianza para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas a los siete días por las diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> .	41
4. Prueba de Duncan para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> .	42
5. Valores de tasa de muerte correspondientes a los valores	

- repeticiones (*R*) y promedio causados a los siete días de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana*. 44
6. Análisis de varianza para los valores máximos de la tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* causadas a los siete de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana*. 45
7. Prueba de Duncan para los valores máximos de la tasa de mortalidad las 20 larvas de *S. frugiperda* causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio. 46

## LISTA DE FIGURAS

### Figuras

	Pág.
1. Curvas de los promedios de los porcentajes de mortalidad de las 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> .	38
2. Barras comparativas para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> .	43
3. Barras comparativas de la tasa de mortalidad promedio de las larvas de <i>S. frugiperda</i> .	46

## LISTA DE ANEXOS

### Anexos

	Pág.
1. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_0$ de <i>B. bassiana</i> .	68
2. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_1$ ( $1 \times 10^5$ con/ml) de <i>B. bassiana</i> .	68
3. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_2$ ( $1 \times 10^6$ con/ml) de <i>B. bassiana</i> .	69
4. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_3$ ( $1 \times 10^7$ con/ml) <i>B. bassiana</i> .	69
5. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_4$ ( $1 \times 10^8$ con/ml) de <i>B. bassiana</i> .	70
6. Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de <i>S. frugiperda</i> causadas por la concentración $T_5$ ( $1 \times 10^9$ con/ml) de <i>B. bassiana</i> .	70
7. Almacigos de maíz.	71

8. Larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> sobre maíz.	71
9. Crianza de <i>S. frugiperda</i> en vasos descartables.	72
10. Larva de <i>S. frugiperda</i> criada en vaso descartable.	72
11. Obtención de huevecillos de larvas de <i>S. frugiperda</i> .	73
12. Preparación de las diferentes concentraciones de <i>B. bassiana</i> .	73
13. Larvas de neonatas de <i>S. frugiperda</i> listas para la aplicación de conidias de <i>B. bassiana</i> .	74
14. Aplicación de diferentes concentraciones de conidias de <i>B. bassiana</i> sobre de larvas de <i>S. frugiperda</i> .	74
15. Individualización de larvas de <i>S. frugiperda</i> sometidas a cada tratamiento con <i>B. bassiana</i> .	75
16. Incubación de larvas de <i>S. frugiperda</i> infectadas con las diferentes concentraciones de <i>B. bassiana</i> .	75
17. Cámara húmeda para larvas muertas de <i>S. frugiperda</i> por acción de conidias de <i>B. bassiana</i> .	76
18. Lámina con larvas de <i>S. frugiperda</i> sobre las cuales sobresale el micelio de <i>B. bassiana</i> .	76
19. Observación con microscopio de larva de <i>S. frugiperda</i> infectada, cubierta completamente con micelio de <i>B. bassiana</i> .	77
20. Preparación de medio de cultivo para aislamiento de <i>B. bassiana</i> .	77

21. Medio de cultivo Agar papa dextrosa con *B. bassiana* después de 20 días de incubación. 78
22. Observación con microscopio, estructuras de *B. bassiana*. 78

## I. INTRODUCCION

El control biológico constituye una alternativa viable para el control de plagas que busca fortalecer los factores naturales de mortalidad de plagas, al formar una verdadera barrera de inmunidad y prevención, donde los factores de resistencia del medio ambiente actúen antes de que los organismos potencialmente perjudiciales lo puedan hacer; de esta manera controlar el crecimiento de sus poblaciones a fin de evitar la necesidad de tratamientos químicos tóxicos (MADRIGAL, 2001).

El uso indiscriminado de plaguicidas se debe a que los insectos causan daños muy severos y destructivos al cultivo afectando su rendimiento, entre las plagas más dañinas del cultivo de maíz tenemos al gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*); el daño principal es causado por la larva joven, la cual se alimenta de las partes de cogollo y que puede causar la muerte de la planta en su primera etapa de desarrollo (COMPTON, 1990).

El cultivo de maíz es uno de los más ampliamente difundidos a nivel nacional. Este cultivo está expuesto al ataque de diversas plagas,

siendo la de mayor importancia por su daño severo que produce; la oruga cogollera *S. frugiperda* (J. E. Smith). Y debido a que su ataque es durante todo el desarrollo vegetativo de la planta, haciendo que disminuya su rendimiento, calidad y valor alimenticio; y aumente los costos de su producción, por la necesidad de implantar medidas de control químico para controlar el ataque de esta plaga (CASTRO, 2012).

El umbral de daños producido por el gusano cogollero *S. frugiperda* sobre el maíz es del 40% por ello es necesario tomar medidas que permitan su control (PINEDA, 1995).

### **1.1 Problemática de la investigación**

El interés de diferentes instituciones ha logrado que se inicie una serie de proyectos de investigación; encaminados a conocer más sobre las implicancias ecológicas que involucra el empleo de pesticidas químicos sobre la flora, la fauna y la fertilidad de los suelos; así como, la acumulación de residuos tóxicos en los alimentos; que representa para los animales salvajes, domésticos, aves, peces y aun para el mismo hombre, un peligro mortal, y así estar en condiciones de buscar mejores alternativas de explotación de los recursos naturales (LEZAMA, 1993).

Actualmente, se cuenta con pocas investigaciones que permita seleccionar un agente de control microbiológico para el gusano cogollero; sin embargo por trabajos realizados en laboratorio se tiene la posibilidad de utilizar hongos como *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. farinosus*, *Empusa sp.*, *Entomophthora sp.*, *Erynia radicans*, *Aspergillus flavus*, y *A. parasiticus* como biocontroladores (LEZAMA, 1993).

Por esta razón se planteó el siguiente problema: ¿Cuál es la concentración óptima de conidias de *Beauveria bassiana* que ejerce un mayor grado de biocontrol sobre las larvas del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*, en condiciones de laboratorio?

Se planteó la siguiente hipótesis:

- El mayor grado de biocontrol de las larvas de *Spodoptera frugiperda* se ejerce a la concentración de  $10^9$  con/ml de *Beauveria bassiana*

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo General**

Determinar la concentración óptima de conidias de *Beauveria bassiana* para el biocontrol de larvas de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Determinar la concentración óptima de conidias de *B. bassiana* para el mayor porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda*.
- Determinar la concentración óptima de conidias de *B. bassiana* para la mayor tasa de muerte de las larvas de *S. frugiperda*.

## **1.3 MARCO TEÓRICO**

### **1.3.1 Generalidades**

*Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae), conocido comúnmente como gusano cogollero; es una de las principales plagas de los sembríos de maíz, sorgo, arroz, algodón, alfalfa, entre otros, donde se alimenta de las hojas y tallos tiernos. Su hospedante preferido es el maíz, que es atacado en todas las etapas de su crecimiento, hasta la destrucción completa de la planta (PASHLEY, 1998; BUSATO et al, 2004).

El gusano hace raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translúcidas. Una vez que la larva alcanza cierto desarrollo, empieza a comer follaje perfectamente en el cogollo el cual al desplegarse, las hojas muestran una hilera regular de perforaciones a través de la lámina o bien áreas alargadas comidas. En esta fase es característico observar los excrementos de la larva en forma de aserrín (ANDREWS, 1990).

*Spodoptera frugiperda* es una especie fitófaga que causa grandes daños y pérdidas económicas en los cultivos de maíz de la Sierra Central de Perú. El método de lucha utilizado para su control basado en la aplicación de plaguicidas químicos orgánicos de síntesis supone un mayor costo de producción del maíz por ello en algunos casos no se realiza control alguno debido a la escasez de recursos técnicos y económicos de la zona (AQUESOLOK, 2011).

En el Perú el control químico del "cogollero" fue iniciado por Willie en 1932 mediante aplicaciones de arseniato en espolvoreos o pulverizaciones. A partir de entonces se han recomendado una serie muy diversa de productos como el DDT, BHC, Alrín, Parathion, Toxapheno, etc (PEREZ, 1993).

Tradicionalmente, las poblaciones de *S. frugiperda* han sido controladas por medio de plaguicidas químicos orgánicos de síntesis cuyo costo representa una fracción importante de la producción total del cultivo debido a que se requieren entre dos y cuatro aplicaciones de insecticidas químicos durante el ciclo del cultivo pudiendo llegar a suponer un costo de 4,2 millones de dólares al año (ROWLAND Y DREYER, 2001; FERNANDEZ, 2002).

Por otro lado, debido al uso desmedido de estos agroquímicos, muchas veces por la escasez de alternativas de manejo de la plaga, se han observado efectos perjudiciales en el agroecosistema del cultivo y en el ambiente como resistencias a los insecticidas piretroides, residualidad de agroquímicos, eliminación y pérdida de los enemigos naturales e incidencia de plagas secundarias (GUILLEBEAU Y ALL, 1991).

En el Dpto. de San Martín, los daños causados por *Heliothis zea* y *Spodoptera frugiperda* a los cultivos de maíz durante muchos años fueron entre el 50 y el 70% de la plantación. Las aplicaciones de plaguicidas químicos han contribuido en buena parte al problema del cogollero (FERNANDEZ, 2003).

Por observaciones en campo, en la Cuenca Media del Río Mantaro, Huancavelica y Junín, se ha detectado la presencia del cogollero del maíz durante todo el año. Asimismo, por información proporcionada por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) del Ministerio de Agricultura de Perú se confirma que este insecto ha sido una de las principales plagas del cultivo en Huancavelica en el año 2010 (SENASA, 2011).

A raíz de esto, se originó un conflicto entre la reducción en el uso de plaguicidas químicos y la necesidad de mantener un adecuado nivel productivo, por lo que se pretendió encontrar alternativas seguras, efectivas y económicas a la utilización de los plaguicidas convencionales como los bioplaguicidas, productos biológicos o de origen natural que no ocasionaran los problemas de los plaguicidas tradicionales (DURAN, 2002).

Bajo condiciones naturales, el gusano cogollero cuenta con una amplia gama de enemigos nativos que regulan su población, algunos de ellos son reproducidos en laboratorio y liberados en los cultivos durante la fase de crecimiento, entre los cuales esta *Trichogramma spp*, que es capaz de parasitar hasta el 50% de las masas de huevo de la plaga, no obstante los plaguicidas limitan ampliamente su acción (LEZAMA, 1993).

El combate más eficaz del cogollero, se logra cuando las larvas están aún pequeñas; por ello se insiste siempre en la revisión periódica del maízal, desde que empiezan a germinar las plantas, observando atentamente las posturas, con el fin de tener una idea de cuándo emergerán las larvas y conseguir así mayor efectividad en el tratamiento (GARCÍA, 1975).

Los hongos entomopatógenos poseen extrema importancia en el control microbiano de insectos plaga causando la mortalidad de muchos insectos en distintas partes del mundo, estableciéndose como organismos naturales, eficientes y muy importantes en el control de estos. Son generalmente específicos y pueden ser integrados con otros agentes de biocontrol. Muchos de ellos son reconocidos como un factor de mortalidad importante en condiciones de campo; en algunos países los comercializan (KHACHATOURIANS, 1992).

Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos. Entre los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Akanthmyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (MONZÓN, 2001; ASAFF et al, 2002; PUCHETA, 2006).

Los hongos entomopatógenos fueron los primeros microorganismos que se reconocieron como causantes de enfermedades en los insectos. Como cualquier agente patológico pasan por varias fases para completar su desarrollo; estas son: adhesión, germinación, penetración, multiplicación, producción de toxinas, muerte del insecto, colonización, salida y esporulación. Dentro de los Deuteromicetes los

géneros más importantes que se ha encontrado causando enfermedades en los insectos están *Metarhizium anisoplae* y *Beauveria bassiana* (MONZÓN, 2003).

El hongo *B. bassiana* es conocido como entomopatógeno desde 1835 año en que se descubrió causando la muerte de gusanos de seda. Se encuentra de forma natural en suelos y sobre diversos órdenes de insectos (coleópteros, dípteros, heterópteros, homópteros, lepidópteros, tisanópteros) así como sobre ácaros tetraníquidos, por lo que ha sido utilizado para el control de plagas de dichos órdenes en diversos países (COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE, 1979).

Trabajos realizados en el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica Colombia, seleccionaron el aislamiento de *B. bassiana* por presentar un porcentaje de control del 100% sobre adultos del gusano blanco de la papa luego de 24 días de haber sido inoculado sobre el insecto bajo condiciones de laboratorio (TORRES Y COTES, 1999).

El hongo *B. bassiana* ha mostrado un alto nivel de control sobre insectos plagas como *Cylas formicarius elegantulus* Summers plaga de la batata (ALCALÁ et al., 1999), *Leptinotarsa decemlineata* en papa

(FURLONG Y GRODEN, 2003), *Tribolium casteanun*, gorgojo de las harinas (AKBAR et al., 2005), *Anthonomus eugenii* plaga del chile, (CARBALLO et al., 2001), la broca del café, *Hypothenemus hampei* (CÁRDENAS et al., 2007), *Spodoptera frugiperda* en maíz (GARDNER et al, 1997). Contra aleuródidos ha sido utilizado para el control de *Bemisia tabaci* (WRIGHT y KNAUF, 1994; KUROGL et al, 1993; LANDA t al, 1994), *Dialeurodes citri* (AVIDZBA, 1983) y *Trialeurodes vaporariorum* (SÜKHOVA, 1987; DIRLBEK et al, 1989; YARKULOV R., 1986).

### 1.3.2 Características generales de *Spodoptera frugiperda*

#### A. Ubicación taxonómica

REINO	:	Animalia
PHYLUM	:	Arthropoda
SUBPHYLUM	:	Mandibulata
CLASE	:	Insecta o Hexápoda
ORDEN	:	Lepidóptera
SUPERFAMILIA	:	Noctuoidea
FAMILIA	:	Noctuidae
GÉNERO	:	<i>Spodoptera</i>
ESPECIE	:	<i>Spodoptera frugiperda</i>
NOMBRE COMÚN	:	Gusano cogollero

Fuente: LUIS VALDIVIESO (1984)

#### B. Hábitat y distribución

*S. frugiperda* es un insecto migratorio considerado una plaga de importancia económica en el cultivo de maíz,

esta especie tiene su origen en los trópicos del Continente Americano, especialmente en América del Sur. En el Hemisferio Occidental se le ha encontrado desde el Sureste de Canadá hasta Chile y Argentina; frecuentemente es abundante en las áreas agrícolas. Es una especie de distribución tropical aunque se le encuentra también en zonas templadas (SALINAS, 2010).

En las regiones tropicales *S. frugiperda* se mantiene en actividad todo el año, pero en las áreas templadas el insecto no puede tolerar las temperaturas del invierno. En consecuencia, cada año emigra como insecto adulto de vuelo nocturno desde sus centros de origen hacia las regiones templadas, recorriendo en cada generación varios cientos de kilómetros (CASTRO, 2012).

### **C. Descripción biológica:**

Los adultos son palomillas que miden aproximadamente 3,75 cm. de extensión alar. En el macho son de color pardo claro, con marcas oscuras y líneas irregulares pálidas en el centro, mientras que las de la

hembra son más oscuras y grisáceas, con diseños menos notorios (MORÓN Y TERRÓN, 1988).

Los adultos presentan hábitos nocturnos y tienen una longevidad que varía de 4 a 8 días, dependiendo de las condiciones ambientales; las hembras durante su vida son capaces de producir hasta 3600 huevecillos. Los huevecillos son puestos en masas que varían de 40; 150 y hasta 1500 huevos por masa, colocadas en el envés de las hojas, cubiertas por escamas de la hembra. La incubación varía de 2 a 10 días (SILVAIN, 1987).

Las larvas son del tipo cruciforme, de color pardo amarillento a pardo oscuro; en sus regiones laterales son blanquecinas y presentan líneas longitudinales laterales pálidas y moteadas. La cabeza es parda con reticulaciones y franjas oscuras y en el último estadio alcanzan una longitud máxima de 30-38 mm. Las larvas neonatas viven en grupos al principio y se separan posteriormente, debido a sus hábitos caníbales, quedando en forma general una larva por planta de maíz. Inicialmente las larvas comienzan a

alimentarse en el envés de las hojas, se dispersan y se dirigen al cogollo de la planta de maíz; aquí se alimentan de las hojas en crecimiento, las cuales posteriormente muestran perforaciones irregulares (LAGUNES et al., 1985).

Las larvas pasan por seis estadios en un lapso que puede durar de 2 a 3 semanas; transcurrido este tiempo se introducen en el suelo para pupar. La cabeza de las larvas es de color negro en los últimos estadios, con la sutura epicraneal bien marcada; el cuerpo es cilíndrico, de color café gris dorsalmente y verde ventralmente, con líneas dorsales y subdorsales visibles (BORBOLLA, 1991).

Las pupas son de tipo obtecta y miden cerca de 2 cm. de largo; son de color pardo rojizo, con el protórax mas oscuro, encontrándose normalmente enterradas en el suelo, donde permanecen una semana aproximadamente y luego emergen como adultos; de esta forma, se reanuda su ciclo (LAGUNES et al., 1985).

#### D. Ciclo de vida:

*Spodoptera frugiperda*: es un insecto de metamorfosis completa (holometábola), que presenta el siguiente ciclo: Huevo - larva - pupa – adulto.

- **Huevo o postura:** el huevo es esférico con canales longitudinales paralelos entre sí, de medio milímetro aproximadamente, recién ovipuestos son de color verde claro y se va oscureciéndose gradualmente, hasta un color plomizo. Este es depositado en masas de 20 a 150 huevos, con un total entre 400- 500 huevos cubiertos con escamas y pelos que la hembra saca de su cuerpo para asegurar su protección.
- **La larva o gusano:** es eruciforme (cuerpo cilíndrico) con coloraciones que varían del ocre al verde claro; presentan tres líneas longitudinales oscuras con pelos blancos amarillentos; paralelos a estas existen dos bandas claras o dos bandas laterales sombreadas, presentan la cabeza claramente definida y de 6 a 7 estadios larvales, llegando a medir 4 cm. sólo

discernibles por el tamaño. Su color varía según el alimento pero en general son oscuras con tres rayas pálidas estrechas y longitudinales; en sus dorsos se distingue una banda negruzca más ancha hacia el costado y otra parecida pero amarillenta más abajo y en la frente de la cabeza una "Y" blanca invertida (PEREZ, 1993).

- **La pupa:** llamada crisálida en todos los insectos holometábolos, presenta pupa momificada de color marrón, de paredes esclerotizadas que detalla la forma del imago (último estadio de desarrollo), el cremáster está formado por dos espinas articuladas en su base, que ayuda a la pupa a desplazarse en la tierra.
- **El adulto o mariposa:** presenta hábito nocturno. La mariposa vuela con facilidad durante la noche, siendo atraída por la luz; es de coloración gris oscura, las hembras tienen alas traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabezcos o figuras irregulares llamativas en las alas delanteras, y las traseras son blancas. En reposo doblan sus alas sobre

el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax. Permanecen escondidas dentro de las hojarascas, entre las malezas, o en otros sitios sombreados durante el día y son activas al atardecer o durante la noche cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia, especialmente cuando soplan vientos fuertes. (CORPOICA, 2003).

### **1.3.3 CARACTERISTICAS GENERALES DE *Beauveria bassiana***

Fue en 1835 cuando el italiano Agostino Bassi descubrió al hongo actualmente conocido como *Beauveria bassiana* atacando al gusano de seda. Bassi fue uno de los pioneros en recomendar patógenos para el control de plagas. Este hongo es uno de los entomopatógenos más evaluados por su potencial para el control biológico de insectos; además de tener una amplia distribución geográfica, resulta patogénico a diversos órdenes de insectos (PACHECO, 2002).

**A. Ubicación taxonómica de *Beauveria bassiana***

REINO	:	Fungi
DIVISIÓN	:	Eumycota
SUBDIVISION	:	Deuteromycotina
CLASE	:	Deuteromicetes
ORDEN	:	Moniliales
FAMILIA	:	Moniliaceae
SERIE	:	Sympodulosporae
GÉNERO	:	<i>Beauveria</i>
ESPECIE	:	<i>Beauveria bassiana</i>

Fuente: BORROR et al, 1992

**B. Descripción morfológica**

El género *Beauveria* es un entomopatógeno imperfecto de hifas septadas, que contienen las estructuras reproductivas denominadas conidióforos o células conidiógenas sobre las cuales se desarrollan las conidias hialinas, redondeadas a ovoides, unicelulares. *Beauveria* ramifica su micelio para formar los conidióforos que son

simples e irregulares con un raquis alargado que terminan en vértices en forma de racimos, la célula conidiógena con base globosa o abultada presenta un adelgazamiento en el área de donde se insertan los conidios los cuales son globosos o subglobosos de 2 a 3  $\mu\text{m}$ , que se insertan sobre esterigmas curvados en forma irregular o dispuestos en zigzag. Se caracteriza por presentar una apariencia polvosa de color blanco algodonoso o amarillo cremoso (BARNETT Y BARRY, 1990).

El hongo en cultivo puro a 21 días de sembrado, alcanza su desarrollo completo y presenta un micelio de aspecto algodonoso de color blanco y tiene una esporulación abundante de color crema con textura de talco (BERLANGA, 1999).

### **C. Modo de acción**

El ciclo biológico de *B. bassiana* comprende dos fases: una patogénica y otra saprofítica. La fase de patogénesis ocurre cuando el hongo entra en contacto con el tejido vivo del huésped, y la saprofítica cuando el hongo

completa su ciclo aprovechando los nutrientes del cadáver del insecto.

*B. bassiana* es parásito facultativo, el cual posee conidias que constituyen la unidad infectiva del hongo. El proceso infectivo que lleva al insecto atacado por el hongo a morir se cumple en 5 fases: En la fase de adhesión o fijación los conidios de los hongos entomopatógenos están adaptados para fijarse a los insectos, así, la patogénesis inicia por la adhesión de un conidio al insecto, cuando el conidio se hincha durante la pregerminación, este empieza a secretar una sustancia adhesiva mucilaginosa. Una vez adheridas las unidades infectivas al insecto, se inicia la germinación. Este proceso es favorecido por factores como temperatura y requiere una humedad relativa alta (>90%); sin embargo, el microambiente del follaje, particularmente cuando hay rocío permite las condiciones propias, no obstante que el macroclima sea seco (PACHECO, 2002).

Durante la germinación, el tubo germinal produce enzimas que destruyen la pared celular y permiten que el

hongo penetre, requiriendo temperaturas entre 15 y 35°C. En muchos insectos, la epicutícula tiene varias capas, de las cuales, la externa es la más frágil al daño mecánico, aunque puede ser penetrada y degradada por las enzimas del hongo. La epicutícula interna, está constituida por polímeros de lipoproteínas estabilizadas por quinonas, que la hacen un poco más resistente a la penetración del hongo. Una vez que la epicutícula es alterada, el progreso de la micosis puede ocurrir por la penetración de hifas a través de la cutícula o por la penetración de estructuras que pueden extenderse formando placas de penetración (PACHECO, 2002).

El hongo usualmente crece en el hemocele y se transporta a través del sistema circulatorio y el linfático del insecto como cuerpos hifales, esencialmente blastosporas, las cuales se multiplican por fisión binaria. Al llevarse a cabo la invasión, el tubo germinal llega a la cavidad hemocélica, donde produce una gran variedad de metabolitos secundarios como son beauvericin, beauveriloides, bassianolide, isarolide, enniatinas, los cuales debilitan al

sistema inmune del huésped, y secreta también el oosporeína que es un metabolito con actividad bactericida y el cordicepin con actividad antibacterial (BERLANGA, 1999), que le ayuda a mantener un ambiente estéril y permite que el hongo invada toda la cavidad del cuerpo; en ese momento, el patógeno consume los nutrimentos disponibles en el hemocele, digiere los órganos y tejidos del hospedante (BIOTROPIC, 1998).

La muerte del hospedero generalmente ocurre a los cinco o seis días de la penetración del tubo germinal. Los cambios fisiológicos, citológicos y bioquímicos ocurridos en el insecto resultan de la interacción entre la actividad metabólica del hongo y el mecanismo de defensa del hospedero (PACHECO, 2002).

La muerte puede ser precedida por cambios en el comportamiento tales como temblor, pérdida de coordinación o tratar de subir a una posición más alta de la planta. Una vez muerto el insecto y cuando las condiciones ambientales son favorables, ocurre la esporulación, manifestándose por

los brotes de cuerpos fructíferos, llamados “conidióforos” en el integumento del hospedero y con esto el inicio de un nuevo ciclo. Bajo condiciones de humedad relativa alta el micelio del hongo se observa primero en las articulaciones y partes blandas de los insectos por donde sale más rápidamente y después de algunos días le cubre el cuerpo con material fungoso característico. En condiciones de viento y de baja humedad, los conidios se dispersan ubicándose sobre el suelo, plantas y la cutícula de nuevos hospederos (PACHECO, 2002).

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Lugar de experimentación

La investigación se realizó en el laboratorio de Micología Virología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG) Tacna-Perú, durante el periodo de Junio – Noviembre del 2013.

### 2.2 Material Biológico

- Plantas de *Zea mays*: obtenidas a partir de semillas de maíz del Instituto de Investigación, Producción y Extensión Agraria INPREX-UNJBG:
- Larvas de *Spodoptera frugiperda*: recolectadas en campo de cultivo de maíz infestado.
- Conidias de *Beauveria bassiana*: proveídas por el laboratorio de hongos entomopatógenos del Servicio de Sanidad Agraria (SENASA) Lima, Perú.

### **2.3 Diseño de la Investigación**

Se empleó el diseño completamente aleatorizado con post prueba y grupo control, con 6 tratamientos, 3 repeticiones por tratamiento y 20 unidades experimentales por repetición.

#### **Tratamiento control:**

T<sub>0</sub>: Agua destilada + 20 larvas de *S. frugiperda*

#### **Tratamientos Experimentales:**

T<sub>1</sub>: Conidias de *B. bassiana* ( $1 \times 10^5$ ) + 20 larvas de *S. frugiperda*

T<sub>2</sub>: Conidias de *B. bassiana* ( $1 \times 10^6$ ) + 20 larvas de *S. frugiperda*

T<sub>3</sub>: Conidias de *B. bassiana* ( $1 \times 10^7$ ) + 20 larvas de *S. frugiperda*

T<sub>4</sub>: Conidias de *B. bassiana* ( $1 \times 10^8$ ) + 20 larvas de *S. frugiperda*

T<sub>5</sub>: Conidias de *B. bassiana* ( $1 \times 10^9$ ) + 20 larvas de *S. frugiperda*

### **2.4 Obtención de almácigo de maíz**

Se obtuvo el almácigo siguiendo el procedimiento de CIHDE, 2005. Se utilizó como contenedores bandejas y maceteros los cuales contaban con agujeros en la base que permitió la salida de exceso de agua.

Se utilizó como sustrato un tercio de tierra negra, un tercio de arena fina y un tercio de compost. Se extendió la mezcla en todo el contenedor, asegurándose de quitar toda partícula grande que pudiera evitar la emergencia de las plantas de maíz.

Una vez preparados los almácigos, estos se humedecieron y se hicieron unos pequeños surcos sobre la superficie de la tierra, en una distancia de 8 a 10 cm. entre sí y de 0,5 a 1 cm. de profundidad.

Se sembraron las semillas en cada surco y se presionó suavemente el sustrato para expulsar el exceso de aire que pudo haber quedado alrededor de la semilla, y así aumentar el contacto de la misma con el sustrato.

Una vez germinadas las plántulas de maíz, se colocaron los contenedores al sol 4 horas diarias, pasado una semana estos fueron colocados al sol todo el día. Durante todo el tiempo se mantuvo el almácigo bien regado, evitando que pudiera secarse. Finalmente las plantas de maíz desarrollaron un tamaño de 40 a 50 cm. en un periodo de 2 a 3 meses.

## **2.5 Determinación del ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda***

El insecto *S. frugiperda*, utilizado en el presente estudio, fue reproducido en el laboratorio mediante la técnica propuesta por GARCÍA, 1989.

Con la finalidad de contar con una población adecuada de larvas de *S. frugiperda* y tener un aprovisionamiento constante de presas para el estudio, estas se colectaron de un cultivo de maíz que no fue tratado con insecticida, procedente del distrito de Calana, Tacna.

Se colocó en envases de plástico esterilizados 50 larvas de *S. frugiperda* de los últimos estadios (entre 5to y 6to estadios). En el laboratorio se rotuló cada envase con la fecha de colecta en campo y se individualizó cada una de las larvas manteniéndolas a una temperatura promedio de  $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  y  $60\% \pm 10\%$  de humedad relativa. En cada envase se colocó hojas de maíz como alimento para las larvas las cuales se renovaron diariamente. Para garantizar la hidratación se asperjó con agua estéril, las paredes de cada envase. Se repitió este procedimiento hasta que las larvas hubieron alcanzado el estadio de pupa.

Las pupas sanas se depositaron en placas Petri y fueron colocadas dentro de una cámara que contuvo maceteros con hojas de maíz; donde se realizó la oviposición de *S. frugiperda*.

Se esperó la emergencia de los adultos. Luego de la emergencia, los adultos se alimentaron con solución de agua azucarada al 25%, diariamente (VÁSQUEZ, 2002).

Los huevos se colectaron manualmente revisando cuidadosamente las hojas de las plantas de los maceteros. Las posturas recuperadas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,2% para reducir la introducción de patógenos en la crianza, luego se colocaron en un frasco de vidrio estéril y se esperó la emergencia de las larvas. Los recipientes tuvieron ventilación adecuada para lo cual se hicieron pequeños orificios en la parte superior.

Un grupo de larvas se destinaron para la generación de nuevas larvas y otro grupo para realizar las pruebas de enfrentamiento o experimentación.

## **2.6 Obtención de las diferentes concentraciones de conidias de *Beauveria bassiana***

Se determinó las concentraciones de  $1 \times 10^9$  con/ml hasta  $1 \times 10^5$  con/ml con la ayuda de la cámara NEUBAUER.

Se tomó aproximadamente 3 gramos del arroz completamente cubierto con *B. bassiana* (sustrato) con ayuda de una pinza estéril para ser colocado en un frasco de vidrio al cual se adicionó 10 ml de agua destilada estéril con 0,1% de Tween 80. Se agitó fuertemente el frasco y a la vez con un vórtex, por espacio de 2 minutos; para lograr la separación de todas la conidias, luego se colocó a baño María 5 minutos. A este preparado se le denominó solución madre.

Con la ayuda de una pipeta Pasteur, se cargó la cámara de Neubauer con la suspensión de conidias de la solución madre y se cubrió con la laminilla cubreobjetos. Luego se utilizó un microscopio con el objetivo 40x y se contabilizó el número de conidias del hongo. Se repitió este mismo procedimiento para asegurar un mejor conteo.

Una vez obtenida la concentración de conidias de la solución madre que fue de  $1 \times 10^9$  con/ml, se hizo la segunda dilución tomándose

1 ml de la solución madre para luego agregar a esta 9 ml de agua destilada estéril y agitarse en el vórtex para continuar así la concentración de  $1 \times 10^8$  con/ml, y así sucesivamente hasta obtener las concentraciones:  $1 \times 10^7$  con/ml,  $1 \times 10^6$  con/ml y  $1 \times 10^5$  con/ml. Cada concentración estuvo contenida en un volumen de 10 ml. Estas concentraciones constituyeron los tratamientos experimentales. El tratamiento control estuvo constituido por agua destilada.

## **2.7 Experimentación de la aplicación de *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Spodoptera frugiperda***

Para cada uno de los seis tratamientos se utilizó 20 larvas de *Spodoptera* recién emergidas o I estadio. El proceso infectivo del hongo *B. bassiana* sobre cada larva, se realizó mediante aplicación tópica, del siguiente modo:

A cada una de las larvas previamente desinfectadas se les aplicó directamente con ayuda de una micropipeta 50 ul de las diferentes suspensiones de conidias ( $1 \times 10^9$  con/ml;  $1 \times 10^8$  con/ml;  $1 \times 10^7$  con/ml;  $1 \times 10^6$  con/ml;  $1 \times 10^5$  con/ml), garantizando que quedaran lo suficientemente húmedas para que las conidias entren en contacto con la

cutícula del insecto. De la misma forma se hizo el tratamiento control pero sólo agregando agua destilada estéril.

Las larvas infectadas se colocaron en recipientes plásticos conteniendo cada uno un segmento de hoja de maíz. Este proceso se hizo a la temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , con humedad relativa de  $60\% \pm 10\%$ , hasta que la larva murió por la infección del hongo en él desarrollado, en el tiempo de 7 días. El alimento de cada una de las larvas fue renovado diariamente y consistió en un trozo de hoja de maíz embebido en agua estéril.

## **2.8 Evaluación de la experimentación**

Se realizó durante 7 días continuos registrando la mortalidad diaria de las larvas de *S. frugiperda*.

La primera evaluación se realizó a las 24 horas después de la inoculación del hongo y así sucesivamente cada 24 horas hasta llegar a 7 días para determinar el número de larvas muertas por cada tipo de tratamiento.

Las larvas muertas se llevaron a cámara húmeda en placas Petri. Para verificar si fueron muertas por el hongo se dejó a las larvas en las placas hasta que se vio la aparición de estructuras fúngicas correspondientes a *B. bassiana*.

## **2.9 Identificación del hongo desarrollado sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda***

Se revisaron las cajas Petri constantemente para observar si había micelio del hongo de interés sobre las larvas. Cuando hubo micelio, se tomó cinco las larvas al azar y se colocó en placas Petri con APD (agar papa dextrosa) a fin de aislar colonias e identificar el hongo.

La identificación del hongo se hizo considerando la forma y el color de las colonias, hifas, conidias, células conidiógenas y fiálides, mientras que para las características macroscópicas se basó en la forma y color de la colonia, el crecimiento del sinema y la apariencia del hongo sobre su hospedero. Todo esto basado en fotos, esquemas y claves taxonómicas (HUMBER 1998).

## **2.10 Determinación de la concentración óptima de conidias de *Beauveria bassiana* para el máximo control de larvas de *Spodoptera frugiperda***

Se contó el número de larvas muertas por día en cada tratamiento durante los siete días de experimentación, con los datos acumulados se determinó el porcentaje y el número de larvas muertas para cada uno de los tratamientos ( $1 \times 10^9$  con/ml;  $1 \times 10^8$  con/ml;  $1 \times 10^7$  con/ml;  $1 \times 10^6$  con/ml y  $1 \times 10^5$  con/ml) como también para el tratamiento control por día. Se estableció como concentración óptima de conidias de *B. bassiana* a aquella donde se obtuvo el mayor porcentaje y número de larvas muertas de *S. frugiperda*.

## **2.11 Establecimiento de la concentración óptima de conidias de *B. bassiana* para la mayor tasa de muerte de las larvas de *S. frugiperda***

Establecido el porcentaje y el número de larvas muertas acumulados por día durante los siete días en que duró la experimentación en cada uno de los tratamientos control y experimental, la tasa de muerte se determinó dividiendo el número de muerte de las larvas de

*S. frugiperda* con el tiempo en que esta muerte se produjo en cada uno de los tratamientos.

## **2.12 Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos fueron corregidos de acuerdo a ALVES (1987), por la fórmula de Abbot y luego normalizados según CALZADA (1997) por la transformación angular arcoseno. Se utilizó la técnica de ANOVA al 95% para establecer la diferencia de medias de los diferentes tratamientos y la prueba de Duncan para determinar el mejor promedio a un nivel de confianza del 95%.

### **III. RESULTADOS**

**CUADRO 01:** Promedios del porcentaje de mortalidad de 20 larvas de *Spodoptera frugiperda* causadas por diferentes concentraciones de conidias de *Beauveria bassiana* durante siete días de exposición bajo condiciones de laboratorio.

TIEMPO (Días)	PORCENTAJE DE MORTALIDAD (%)																	
	T <sub>0</sub>			T <sub>1</sub> 1x10 <sup>5</sup> con/ml			T <sub>2</sub> 1x10 <sup>6</sup> con/ml			T <sub>3</sub> 1x10 <sup>7</sup> con/ml			T <sub>4</sub> 1x10 <sup>8</sup> con/ml			T <sub>5</sub> 1x10 <sup>9</sup> con/ml		
	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>	DE	DC <sup>1</sup>	DT <sup>2</sup>
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	3,33	8,61	3,33	3,33	8,61
3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,67	11,67	9,88	18,33	18,33	25,31	46,67	46,67	43,08
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	14,76	15,00	15,00	22,79	33,33	33,33	35,17	55,00	55,00	47,87
5	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	14,76	8,33	8,33	16,60	25,00	25,00	29,92	45,00	45,00	35,17	65,00	65,00	47,87
6	0,00	0,00	0,00	8,33	8,33	16,59	10,00	10,00	18,05	25,00	25,00	29,92	56,67	56,67	48,85	71,67	71,67	57,91
7	0,00	0,00	0,00	10,00	10,00	18,43	10,00	10,00	18,05	26,67	26,67	31,07	56,67	56,67	48,85	73,33	73,33	58,93

**Fuente:** Elaboración propia

T<sub>0</sub>: Tratamiento control, H<sub>2</sub>O destilada

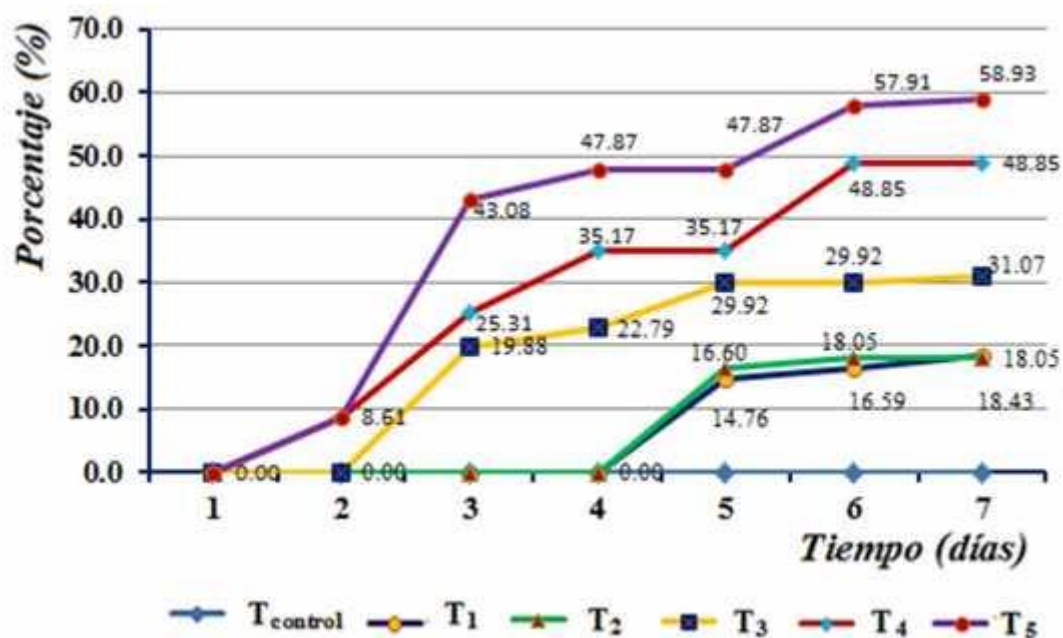
T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub>: Tratamientos experimentales, conidias de *B.bassiana*

DE: Datos experimentales

DC<sup>1</sup>: Datos corregidos por la ecuación de Abbot

DT<sup>2</sup>: Datos transformados con arcoseno

Figura 01: Curvas de los promedios de los porcentajes de mortalidad de las 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* durante siete días de exposición bajo condiciones de laboratorio en función de los datos transformados con arcoseno.



Fuente: Cuadro 01

#### Interpretación:

En el Cuadro 01 y Figura 01, se observan los promedios de porcentajes de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda* causados por *B. bassiana* por la cual el mayor porcentaje de mortalidad se alcanza en el tratamiento T<sub>1</sub> ( $1 \times 10^5$  con/ml) al séptimo día con 18,43%, en el T<sub>2</sub> ( $1 \times 10^6$

con/ml) con 18,05% al día final del experimento. En el **T<sub>3</sub>** ( $1 \times 10^7$  con/ml) a los siete días con 31,07%. En el **T<sub>4</sub>** ( $1 \times 10^8$  con/ml) a los seis días con 48,85% y finalmente en el **T<sub>5</sub>** ( $1 \times 10^9$  con/ml) a los siete días con 58,93%. En el tratamiento control no hubo presencia de larvas muertas.

**CUADRO 02:** Valores máximos de mortalidad de 20 larvas de *S. frugiperda* en sus tres repeticiones (*R*) y promedios causadas a los siete días de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio.

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE MORTALIDAD (%)											
	<i>R</i> <sub>1</sub>			<i>R</i> <sub>2</sub>			<i>R</i> <sub>3</sub>			PROMEDIO DE MORTALIDAD		
	<i>DE</i>	<i>DC</i> <sup>1</sup>	<i>DT</i> <sup>2</sup>	<i>DE</i>	<i>DC</i> <sup>1</sup>	<i>DT</i> <sup>2</sup>	<i>DE</i>	<i>DC</i> <sup>1</sup>	<i>DT</i> <sup>2</sup>	<i>DE</i>	<i>DC</i> <sup>1</sup>	<i>DT</i> <sup>2</sup>
<b>T<sub>0</sub></b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>T<sub>1</sub>: 1 x10<sup>5</sup></b>	10,00	10,00	18,43	10,00	10,00	18,43	10,00	10,00	18,43	10,00	10,00	18,43
<b>T<sub>2</sub>: 1 x10<sup>6</sup></b>	10,00	10,00	18,43	15,00	15,00	22,79	5,00	5,00	12,93	10,00	10,00	18,05
<b>T<sub>3</sub>: 1 x10<sup>7</sup></b>	30,00	30,00	33,21	25,00	25,00	30,00	25,00	25,00	30,00	26,67	26,67	31,07
<b>T<sub>4</sub>: 1 x10<sup>8</sup></b>	60,00	60,00	50,77	60,00	60,00	50,77	50,00	50,00	45,00	56,67	56,67	48,85
<b>T<sub>5</sub>: 1 x10<sup>9</sup></b>	75,00	75,00	60,00	75,00	75,00	60,00	70,00	70,00	56,79	73,33	73,33	58,93

**Fuente:** Cuadro 01

T<sub>0</sub>: Tratamiento control, H<sub>2</sub>O destilada  
T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub>: Tratamientos experimentales, conidias de *B. bassiana*  
***DE***: Datos experimentales  
***DC*<sup>1</sup>**: Datos corregidos por la ecuación de Abbot  
***DT*<sup>2</sup>**: Datos transformados con arcoseno

### Interpretación:

En el Cuadro 02, se observa que los valores máximos de porcentaje de mortalidad promedio de larvas *S. frugiperda*, varía a nivel de los diferentes tratamientos durante el séptimo día, obteniéndose los promedios más bajos; 18,43% y 18,05% en los tratamientos  $T_1$  ( $1 \times 10^5$  con/ml) y  $T_2$  ( $1 \times 10^6$  con/ml) respectivamente, y los promedios más altos; 48,85% y 58,93% en los tratamientos  $T_4$  ( $1 \times 10^8$  con/ml) y  $T_5$  ( $1 \times 10^9$  con/ml) respectivamente.

**CUADRO 03: Análisis de varianza para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas a los siete días por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio**

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	$F_{(\alpha=0,05)}$
Tratamiento	5	7098,9	1419,79	201,01**	3,11
Error	12	84,8	7,06		
Total	17	7183,7			
C.V. = 12,90 %			S $\check{y}$ = 1,53		

\*\* : Diferencias altamente significativas.

Fuente: Cuadro 02

### Interpretación:

El análisis de varianza realizado a los promedios obtenidos durante los siete días de experimentación en los diferentes tratamientos, indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos debido a que el F calculado (201,01) es superior al F tabular (3,11) a un nivel de confianza del 95% (Cuadro 03).

**CUADRO 04: Prueba de Duncan para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de *S. frugiperda* causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio**

Nº	Tratamientos	Promedios (%)	Significancia ( $F_{\alpha=0,05}$ )
1	T <sub>5</sub> : 1 x10 <sup>9</sup>	58,93	a
2	T <sub>4</sub> : 1 x10 <sup>8</sup>	48,85	a
3	T <sub>3</sub> : 1 x10 <sup>7</sup>	31,07	b
4	T <sub>1</sub> : 1 x10 <sup>5</sup>	18,43	c
5	T <sub>2</sub> : 1 x10 <sup>6</sup>	18,05	c
6	T <sub>0</sub>	0,00	c

Fuente: Cuadro 02

**Figura 02:** Barras comparativas para los valores máximos de porcentaje de mortalidad de 20 larvas de *S. frugiperda* causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio



**Fuente:** Cuadro 04

**Interpretación:**

En el Cuadro 04 y Figura 02, se observa que al séptimo día del experimento el mejor porcentaje de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* son causadas en los tratamientos T<sub>4</sub> ( $1 \times 10^8$  con/ml) y T<sub>5</sub> ( $1 \times 10^9$  con/ml) con 48,85% y 58,93% respectivamente a un nivel de confianza del 95%.

**CUADRO 05: Valores de tasa de muerte (larva/día) correspondientes a los valores máximos del número de larvas de *S. frugiperda* en sus tres repeticiones (*R*) causados a los siete días de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio.**

TASA DE MORTALIDAD				
Tratamientos	<i>R</i> <sub>1</sub>	<i>R</i> <sub>2</sub>	<i>R</i> <sub>3</sub>	Promedio
<b>T<sub>0</sub></b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>T<sub>1</sub>: 1 x10<sup>5</sup></b>	0,00	0,40	0,33	0,24
<b>T<sub>2</sub>: 1 x10<sup>6</sup></b>	0,40	0,50	0,25	0,38
<b>T<sub>3</sub>: 1 x10<sup>7</sup></b>	1,00	1,00	0,71	0,90
<b>T<sub>4</sub>: 1 x10<sup>8</sup></b>	2,00	2,00	1,40	1,81
<b>T<sub>5</sub>: 1 x10<sup>9</sup></b>	2,50	2,50	2,00	2,33

T<sub>0</sub>: Tratamiento control, H<sub>2</sub>O destilada

T<sub>1</sub>-T<sub>5</sub>: Tratamientos experimentales, conidias de *B.bassiana*

**Fuente:** Cuadro 02

### Interpretación:

En el Cuadro 05, se observa que la tasa de mortalidad promedio en las diferentes concentraciones es variable, observándose una mayor tasa de mortalidad en el T<sub>5</sub> (1x10<sup>9</sup> con/ml) con 2,33 a diferencia de los tratamientos T<sub>1</sub> (1 x10<sup>5</sup> con/ml), T<sub>2</sub> (1x10<sup>6</sup> con/ml) y T<sub>c</sub>, que presentaron los valores más bajos.

**CUADRO 06: Análisis de varianza para los valores máximos de la tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda* causadas a los siete de exposición por las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio.**

F.V.	G.L.	S.C	C.M	Fc	F <sub>(α=0,05)</sub>
Tratamiento	5	13,1	2,63	56,06**	3,11
Error	12	0,6	0,05		
Total	17	13,7			
C.V. = 2,60 %				S <sub>y</sub> = 0,12	

\*\* : Diferencias ligeramente significativas.

**Fuente:** Cuadro 05

**Interpretación:**

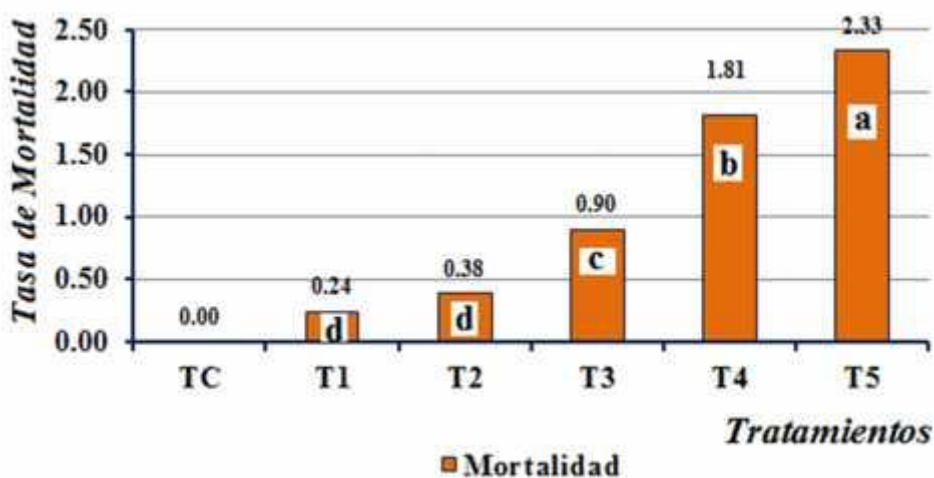
El análisis de varianza realizado a los promedios obtenidos en los diferentes tratamientos indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos debido a que el F calculado (56,06) es mayor al F tabular (3,11) a un nivel de confianza del 95% (Cuadro 06).

**CUADRO 07:** Prueba de Duncan para los valores máximos de la tasa de mortalidad las 20 larvas de *S. frugiperda* causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de *B.bassiana* bajo condiciones de laboratorio.

Nº	Tratamientos	Promedios (%)	Significancia ( $F_{\alpha=0,05}$ )
1	T <sub>5</sub> : $1 \times 10^9$	2,33	a
2	T <sub>4</sub> : $1 \times 10^8$	1,81	b
3	T <sub>3</sub> : $1 \times 10^7$	0,90	c
4	T <sub>2</sub> : $1 \times 10^6$	0,38	d
5	T <sub>1</sub> : $1 \times 10^5$	0,24	d
6	T <sub>0</sub>	0,00	e

Fuente: Cuadro 05

**FIGURA 03:** Barras comparativas de la tasa de mortalidad promedio de las larvas de *S. frugiperda* causada a los siete días de exposición de las diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* bajo condiciones de laboratorio.



Fuente: Cuadro 05

**Interpretación:**

Al realizar la prueba de Duncan a los datos experimentales se observa en el Cuadro 07 y Figura 03, que hubo diferencias significativas entre los tratamientos, el  $T_5$  ( $1 \times 10^9$  con/ml) fue el que presentó la mayor tasa de mortalidad con 2,33, seguida del  $T_4$  ( $1 \times 10^8$  con/ml) con 1,81 y las menores tasas de mortalidad en  $T_1$  y  $T_2$  con 0,24 y 0,38 respectivamente.

#### IV. DISCUSIÓN

En el Cuadro 01 y Fig. 01 se muestra la mortalidad acumulada en función de las larvas muertas hasta los siete días en todos los tratamientos evaluados, también se observa una relación entre la mortalidad de *S. frugiperda* frente a las concentraciones de conidias de *B. bassiana* en los diferentes tratamientos evaluados. Varios investigadores sostienen que existe correlación positiva entre el número de conidias infectivas y la mortalidad por micosis (VILAS & ALVES 1988; BRENES CARBHALO, 1994). En este estudio los resultados obtenidos han seguido esta misma tendencia.

Los mayores porcentajes de mortalidad, 58,93% y 48,85% alcanzados al final de la experimentación se registraron con la concentraciones más altas y disminuyeron a medida que la concentración del inóculo se redujo; esto coincide con los trabajos de ZÚÑIGA y REDOLFF (1981); quienes consiguieron valores de hasta 63,6% de muerte conforme se incrementaba la concentración en un tiempo promedio de siete días, al estudiar la susceptibilidad de larvas de *S. frugiperda* frente a la infección por *B. bassiana* frente a dosis crecientes. Los bajos porcentajes de mortalidad obtenidos, se podrían

aumentar con una dosis mayor de conidios en relación de que se logra cubrir más la superficie corporal de la plaga con los conidios del hongo y por lo tanto una probabilidad mayor de incremento de muerte.

Aunque no se consiguió porcentajes de muerte por encima de los 90% para ninguno de los tratamientos, estos resultados plantean la necesidad de utilizar concentraciones más altas de hongos para obtener niveles óptimos de control o cambio de cepa adecuada para su uso sobre esta plaga.

Los más altos porcentajes de mortalidad alcanzados a los seis y siete días de incubación nos indica la virulencia del hongo para establecerse en toda la superficie del insecto por lo menos a los seis días y como máximo a los siete días.

En el trabajo realizado por ALVES et al. (2002) y SANTAMARÍA et al. (1998) se menciona que el periodo requerido para matar al insecto es variable, dependiendo de la cantidad de esporas que se depositen sobre el mismo, temperatura, especie, tamaño y edad del insecto, pero en la mayoría de las condiciones, la muerte suele ocurrir en aproximadamente a las 72 horas.

Todas las concentraciones a evaluar produjeron síntomas iniciales en las larvas como manchas oscuras en el tegumento y pérdida de movimiento que indicaron que las larvas estaban infectadas con el hongo. Los síntomas de la invasión del hongo en el hemocele, produce parálisis al insecto; esto explicaría la inmovilidad y rigidez observada en las larvas coincidiendo con las descripciones de VARGAS (2003), LECUONA et al. (1996) quienes además, mencionaron que durante la germinación del hongo se produce una degradación enzimática de la cutícula, causada por la secreción de endoproteasas, quitinasas y lipasas, entre otras enzimas; la presencia de manchas necróticas evidencia sitios de penetración del hongo, como una respuesta a la acción lítica de las enzimas liberadas durante la penetración tal como lo menciona BAUTISTA (1999) al evaluar la patogenicidad de *B. bassiana* sobre *S. piceifrons* peruviana, produciendo muerte a partir del segundo día.

Las características observadas en los tratamientos tales como aparición del micelio después de las 48 horas de muerte de la larva al ser colocadas en cámara húmeda indica que la muerte fue causada por el hongo *B. bassiana* (ROBERTS y HUMBER, 1984; KERSHAW et al. 1999). El hongo *B. bassiana* al esporular en los cadáveres de las larvas de *S. frugiperda*, adquirir un aspecto algodonoso, y formar sinemas, confirma

las descripciones de TANADA Y KAYA (1993) para el género *Beauveria* sp. en la cual observó todas estas características.

En la Figura 03 los resultados obtenidos sobre tasa de mortalidad de larvas de *S. frugiperda*, demuestran que en el tratamiento T<sub>5</sub> (1x10<sup>9</sup> con/ml) se obtuvo la mayor tasa de muerte, siendo esta 2,33 al haber provocado el 58,93% de mortalidad en un periodo de siete días lo cual indica alto grado de patogenicidad. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros investigadores (HIDALGO ET AL., 1998; ALVES ET AL., 2002.; SAMUELS ET AL., 1989).

Los resultados obtenidos demuestran la susceptibilidad de *S. frugiperda* al hongo entomopatógeno *B. bassiana* sugiriendo el uso de estos microorganismos para ser usados como un método alternativo de lucha para el control de este tipo de insectos plaga y de esta forma evitar el uso indiscriminado de pesticidas químicos. Los entomopatógenos son organismos vivos, pueden dispersarse y sobrevivir en lugares con nuevas condiciones y finalmente establecerse en ellas.

## V. CONCLUSIONES

En las condiciones trabajadas se concluye en lo siguiente:

1. El tratamiento  $T_5$  ( $1 \times 10^9$  con/ml) de *B. bassiana* originó el mayor porcentaje de mortalidad; 58,93% en la población de 20 larvas de *S. frugiperda*.
2. El tratamiento  $T_5$  ( $1 \times 10^9$  con/ml) de *B. bassiana*, produjo la mayor tasa de mortalidad; 2,33 larvas/día en la población de 20 larvas de *S. frugiperda*.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Elaborar y evaluar nuevas formulaciones a concentraciones más altas de conidias de *B. bassiana* para el control de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio.
2. Ejecutar estudios en campo que permitan observar la acción de *B. bassiana* para el control de *S. frugiperda*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKBAR V., LORD, J.C., NECHOLS; J.R., Y T.M LOUGHIN, 2005.**  
Efficacy of *Beauveria bassiana* for red flour beetle when applied with plant essential oils or in mineral oil and organo silicone carriers Journal of Economic Entomology Vol.98 (3)..
- ALCALÁ D., MARCANO A., Y M. MORALES, 1999.** Patogenicidad de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* sobre adultos del picudo de la batata *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Curculionidae) Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16: 52-63.
- ALVES S., 1987.** Estudio de formulaciones de *Metarhizium Anisopliidae* (Metsch.) Sorox bajo diferentes condiciones de almacenamiento. Ecosistemas12:78-87.
- ALVES, S. B., ROSSI, L.S., LOPES, R.B., TAMAI M.A. Y R.M PEREIRA, 2002.** *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) Journal of. Invertebrate Pathology Vol. 81 (2): 70-77.
- ANDREWS, K, 1990.** Maíz y Sorgo. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura. Departamento de Protección vegetal

Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Ed. KeithL pp .547-566. Honduras.

**AQUESOLOK IRATXE, 2011.** Producción de un bioinsecticida artesanal a base del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda* para su uso en plantaciones de maíz en la Sierra Central de Perú. Universidad Pública de Navarra, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.

**ASAFF T. A. V. Y; REYES, E. V; LOPEZ y M DE LA TORRE, 2002.** Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. Avance y perspectiva vol.21: pp. 291-295. México.

**AVIDZBA, N. S., 1983:** Bioecology of citrus whitefly and its integrated management. 10th International Congress of Plant Protection. Proceedings of a conference held at Brighton , 20-25 november, 1983. Plant protection for human welfare, 3: 1031. England.

**BARNETT H. L. Y BARRY B. H., 1990.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth edition. Macmillan publishing company, New York, Collier Macmillan publishers, 215 p. London.

**BAUTISTA, N. 1999.** Evaluación de la patogenicidad de las cepas *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre

*Schistocerca piceifrons peruviana*. En condiciones de laboratorio. Ayacucho. Tesis. Universidad San Cristóbal de Huamanga Ayacucho – Perú. 44pp.

**BERLANGA P. A. M. 1999.** Taxonomía de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. DGSV-SAGAR. Tecomán. Col. Méx. 5p.

**BIOTROPIC. S. A. de C. V., 1998.** Soluciones Biológicas para la Agricultura Moderna. Folleto de Divulgación. 32 p. Guadalajara – Mexico.

**BORBOLLA, I. S. 1991.** Estudio comparativo de insecticidas a diferentes dosis y número de aplicaciones para el control de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) en maíz de temporal. Agronomía en Sinaloa. Vol. 1, 21 – 30p. México.

**BORROR D. J. CH. A, TRIPLEHOM, AND N. F. JOHNSON, 1992.** An introducción to the study of insect. Harcourt Brace College Publisher. Sixt ed. Philadelphia. Pa. 875 p. USA.

**BRENES S, CARVALHO M., 1994.** Evaluación de *Beauveria bassiana* (Bals.) para el control biológico del picudo del plátano *Cosmopolites Sordidus* (Germar). Manejo integr. Plagas 31: 17-21.

- BUSATO, G. R.; GRUZTMACHER, A. D.; DE OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. A.; KOPP, M. M.; DE BANDEIRA, J.; MAGALAHES, T, 2004.** Analise da estrutura e diversidade molecular de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) asociadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. Neotropical Entomology Vol. 33, 709-716p.
- CALZADA BENZA, JOSÉ, 1997.** Métodos Estadísticos para la investigación. Editorial Jurídica S.A. Lima, Perú. Pp: 644-667
- CARBALLO, M., RODRÍGUEZ, L. Y J. DURÁN, 2001.** Evaluación de *Beauveria bassiana* para el control del picudo del chile en laboratorio. Manejo Integrado de Plagas. Nº 42:54-59. Costa Rica.
- CÁRDENAS, A., VILLALBA, D., BUSTILLO, A., MONTOYA, E. Y GÓNGORA, C, 2007.** Eficacia de mezclas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. Cenicafé 58(4): 293-303.
- CASTRO SANTANA, J.L., 2012.** Manejo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz. Tesis Ing. Agr. Bogota, Colombia. 213-342 p.

**CENTRO DE INVESTIGACIONES DEL HOMBRE EN EL DESIERTO (CIHDE), 2005.** Cultivando el desierto. Guía de prácticas Universidad Arturo Prat. Iquique-Chile.

**COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE, 1979.** CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. N° 602: *Beauveria bassiana*.

**COMPTON. L. P, 1990.** Agronomía del sorgo. CENTA. C.A. S. ed. 301p. El Salvador.

**CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, CORPOICA, 2003.** Boletín informativo. El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*. Smith). Programa Nacional de Transferencia de Tecnología, Pronatta. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Francisco Negrete Baron.

**COTES, A., 1999.** Evaluación de la actividad biocontroladora de cepas nativas de hongos entomopatógenos contra el gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* (Hustache) mediante su utilización individual o combinada Revista Colombiana de Entomología 25:121-129. Colombia.

**DURAN, J., 2002.** Bioplaguicidas: Guía de Ingredientes Activos en América Central. Turrialba 145.

- FERNANDEZ, J.L., 2002.** Estimación de umbrales económicos para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lep.: Noctuidae) en el cultivo del maíz. Investigaciones Agrarias: Producción y Protección Vegetales 17: 467-474.
- FERNANDEZ, S., 2003.** Ciclo de vida de *Spodoptera ornithogalli* (Guenée) en el Cultivo del algodonero en el Valle medio del Sinú. Revista de divulgación científica Facultad de ciencias agrícolas Universidad de Córdoba. Ediciones Gráficas del Caribe Ltda. Boletín. Técnico., N° 2. Córdoba – Colombia.
- FURLONG, M. J Y E. GRODEN., 2003.** Starvation induced stress and the susceptibility of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, to infection by *Beauveria bassiana* Journal Invertebrate Pathology Vol.83(2):127- 138.
- GARCÍA, J. L., 1975.** Revisión bibliográfica sobre las plagas del maíz, arroz y sorgo en Venezuela. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales "Ezequiel Zamora"(UNELLEZ). Guanare. (Multigrafiado, sin paginación). Venezuela.
- GARCÍA, J.L. Y CLAVIJO, S., 1989.** Efecto de la alimentación sobre la longevidad, fertilidad y fecundidad de *Spodoptera frugiperda* (Smith). Entomología. 5 (6). 47-53 pp.

- GARDNER, W., SUTTON, R. Y R. NOBLET., 1997.** Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, and *Nosema necatrix* on Soybean Foliage. Environmental Entomology, Vol.6 (5):616-618.
- GUILLEBEAU, L.P. Y J.N. ALL., 1991.** Use of pyrethroids, methomyl and chlorpyrifos to control fall armyworm (Lep: Noctuidae) in whorl stage field corn, sweet corn and sorghum. Florida Entomologist 74: 261-270.Florida.
- HIDALGO, E., MOORE, D. Y G. LEPATOUREL, 1998.** The effect of different formulations of *Beauveria bassiana* on *Sitophilus zeamais* in stored maize Journal of Stored Products Research Vol. 34 (2-3): 171-179.
- HRUSKA, A.J. Y F. GOULD, 1997.** Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatrea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): Impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. Journal of Economic Entomology 90 (2): 611-622.
- HUMBER , R., A., 1998.** Entomopathogenic fungal identification. APS/ESAWorkshop. November 7, 1998. APS/ESA Joint Annual Meeting. Las Vegas, NV. 26.

- KERSHAW, J.; E. R. MOORHOUSE, R. BATEMAN, S. E. REYNOLDS & A. K. CHARNLEY., 1999.** The role of destruxin in the pathogenicity of *Metharhizium anisoplae* for three species of insects. *Journal of Invertebrate Pathology*. 74: 213-223.
- KHACHATOURIANS G., 1992.** Virulence of five *Beauveria strain*, *Paecilomyces farinosus*, and *Verticillium lecanii* against the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invertebr. Pathol.* 59, 212-214. EE.UU.
- LAGUNES T. A., M. C. RODRÍGUEZ Y R. R. DOMÍNGUEZ, 1985.** Plagas del maíz en la mesa central. Centro de Entomología y Acarología, Colegio de postgraduados, 18 - 21p. México.
- LANDA, Z.; OSBORNE, L. S. y EYAL, J., 1994.** Standard in vivo bioassay to assess entomogenous fungi on whiteflies. *Sbornik, Jihoceska Univerzita Zemedelska Fakulta, Ceske Budijovice, Fytotechnicka Rada*, 11 (2): 3-14.
- LECUONA, R. E.; B.PAPIEROK, & RIBA, 1996.** Hongos entomopatógenos. En: *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. R.E. Lecuona (ed). Buenos Aires, Argentina. p: 36-60.
- MADRIGAL, S.B., 2001.** *Fundamentos de control biológico de plagas*. 453 p. Medellin –Colombia.

- MONZON A., 2001.** Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. No. (63):95-103 Costa Rica.
- MONZÓN, A., 2003.** Folleto de métodos de manejo de hongos entomopatógenos. 5 pp. Costa Rica.
- MORÓN, A. M. Y R. TERRÓN, 1988.** Entomología práctica. Instituto de Ecología. Vol. 12, 373 – 423p. México.
- PACHECO S.C., 2002.** Efectividad biológica de los entomopatógenos *B. bassiana* (Bals.) Vuill. y *Metarhizium anisoplae* (Metsch.) Sor., sobre el picudo del agave tequilero *Scyphophorus acupunctatus* Gyll., en Atotonilco, Jalisco. Tesis profesional, Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 69 p. Chapingo, México.
- PASHLEY, D. P. 1998.** Sex linkage and speciation in Lepidoptera. pp. 309-319. In Howard, D.; Berlocher, S. (eds). Endless forms: species and speciation. Oxford. NY.
- PEREZ; E. JASSIC; J Y REINÉS, M., 1993.** Estudio experimental de la influencia de la temperatura en la palomilla del maíz (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith). Departamento de Manejo de Plagas, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). 340 pp. Habana-Cuba.

- PINEDA. L. L., 1995.** Guía tecnológica de cultivo del sorgo. Instituto Nicaraguense de Tecnología Agropecuaria (INTA). 14 pp. Managua-Nicaragua.
- PUCHETA D. M., 2006.** Evaluación del efecto insecticida de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae*, y *Paecilomyces fumosoroseous* sobre mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), en frijol (*Phaseolus vulgaris L.*). Universidad Autónoma Metropolitana.
- ROBERTS, D. & R. HUMBER, 1984.** Entomopathogenic fungi. In Infection proceses of fungy. A Bellagio conference, Roberts, D; Aisy, J. (Eds). March 21- 25, 1983. The Rockefeller Foundation. New York. p: 1-12.
- ROWLAND, R. Y M. DREYER, M., 2001.** Efectos de *Azadirachta indica* y Carbofuran granulado en control de *Spodoptera frugiperda* asociada al cultivo de maíz. Esporas 1(1): 175-179.
- SALINAS HERNÁNDEZ HAIDY, 2010.** Identificación de haplotipos de *Spodoptera frugiperda* en algunas poblaciones de Colombia para el estudio del comportamiento migratorio de la especie. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
- SAMUELS, K. D. Z., HEALE, J. B., Y LLEWELLYN, M., 1989.** Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium*

*anisopliae* toward *Nilaparvata lugens*. Journal of Invertebrate Pathology, Vol.53: 25-31.

- SANTAMARÍA, A., COSTA-COMELLES. A., ALONSO, A., RODRÍGUEZ, J. Y FERRER, J., 1998.** Ensayo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin para el control de la mosca blanca de los cítricos *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae) y su acción sobre el parasito *Cales noacki* (Howard) (Hymenoptera: Aphelinidae) Bol. Sanidad Vegetal Plagas 24:695-706.
- SENASA, 2011.** Servicio nacional de sanidad agraria. Ministerio de agricultura. Lima-Perú.
- SILVAIN, J. F. 1987.** *Spodoptera frugiperda*. SUAD-ORSTOM, 2 p. Francia.
- TANADA, Y Y KAYA, H K., 1993.** Fungal Infections. Pp. 318 – 366. *En: Insect Pathology*. Academic press, Inc. United states of America.
- TORRES, L., 1999.** Evaluación de la actividad biocontroladora de cepas nativas de hongos entomopatógenos contra el gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax* (Husta-che) mediante su utilización individual o combinada. Trabajo de pregrado, CO, Universidad Javeriana. p. 68. Bogotá.

- VALDIVIESO, L. y E. NÚÑEZ, E., 1984.** Plagas del maíz y sus enemigos naturales. Manual Técnico N° 4 INIPA, CICIU, 66 pp. Lima – Perú.
- VARGAS, M., 2003.** Caracterización de tres cepas de *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch y su virulencia en *Phthorimea operculella* (Séller) y *Symmetrischema tangolias* (Gyen). Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 78pp.
- VÁSQUEZ, J., J.L. ZEDDAM Y A. A. TRESIERRA, 2002.** Control biológico del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae) con el baculovirus SfNPV, en Iquitos-Perú. Folia Amazónica 13 (1-2): 25-39.
- VILAS A, ALVES S., 1988.** Patogenicidad de *Beauveria spp.* e seu efeito asociado ao inseticida monocrotofos sobre *Castnia licus* (Drury, 1770) (Lepidóptera: *Castniidae*). An. Soc. entom. Brasil, 17(2):305-332.
- WRIGHT, J. E. y KNAUF, T. A., 1994.** Evaluation of Naturalis-L for control of cotton insects. Brighton Crop Protection Conference: Pests & Diseases: 45-52.
- YARKULOV, F. Y., 1986.** The biological method in greenhouses in the Maritim Territory. Zashchita Rastenii, 12: 20-21.

**ZÚÑIGA D, REDOLFI I., 1983.** Infección de *Beauveria bassiana* (Bals)  
sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) en laboratorio. Rev. Per.  
Entom. 24(1); 103-106.

## **VIII. ANEXOS**

**ANEXO 1:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_0$  de *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO CONTROL ( $T_0$ )							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	0	0	0	0	0	0
3	20	0	0	0	0	0	0
4	20	0	0	0	0	0	0
5	20	0	0	0	0	0	0
6	20	0	0	0	0	0	0
7	20	0	0	0	0	0	0

**ANEXO 2:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_1$  ( $1 \times 10^5$  con/ml) de *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO $T_1$							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	0	0	0	0	0	0
3	20	0	0	0	0	0	0
4	20	0	0	0	0	0	0
5	20	0	0	2	10	1	5
6	20	0	0	2	10	2	10
7	20	0	0	2	10	2	10

**ANEXO 3:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_2$  ( $1 \times 10^6$  con/ml) de *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO $T_2$							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	0	0	0	0	0	0
3	20	0	0	0	0	0	0
4	20	1	5	2	10	1	5
5	20	2	10	2	10	1	5
6	20	2	10	3	15	1	5
7	20	2	10	3	15	1	5

**ANEXO 4:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_3$  ( $1 \times 10^7$  con/ml) *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO $T_2$							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	0	0	0	0	0	0
3	20	2	10	3	15	0	0
4	20	3	15	3	15	3	15
5	20	6	30	5	25	4	20
6	20	6	30	5	25	4	20
7	20	6	30	5	25	5	25

**ANEXO 5:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_4$  ( $1 \times 10^8$  con/ml) de *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO $T_2$							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	0	0	1	5	1	5
3	20	4	20	4	20	3	15
4	20	8	40	7	35	5	25
5	20	9	45	9	45	9	45
6	20	12	60	12	60	10	50
7	20	12	60	12	60	10	50

**ANEXO 6:** Registro de mortalidad diaria de 20 larvas de *S. frugiperda* causadas por la concentración  $T_5$  ( $1 \times 10^9$  con/ml) de *B. bassiana*, bajo condiciones de laboratorio en el periodo de siete días.

TRATAMIENTO $T_2$							
Días	Total de larvas	R1		R2		R3	
		Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas	Larvas muertas
		N°	%	N°	%	N°	%
1	20	0	0	0	0	0	0
2	20	1	5	0	0	1	5
3	20	10	50	10	50	8	40
4	20	11	55	11	55	11	55
5	20	12	60	14	70	13	65
6	20	15	75	15	75	13	65
7	20	15	75	15	75	14	70

**ANEXO 7:** Almacigos de maíz.



**ANEXO 8:** Larvas de *Spodoptera frugiperda* sobre maíz.



**ANEXO 9:** Crianza de *Spodoptera frugiperda* en vasos descartables.



**ANEXO 10:** Larva de *S. frugiperda* criada en vaso descartable.



**ANEXO 11:** Obtención de huevecillos de larvas de *S. frugiperda*.



**ANEXO 12:** Preparación de diferentes concentraciones de *B. bassiana*.



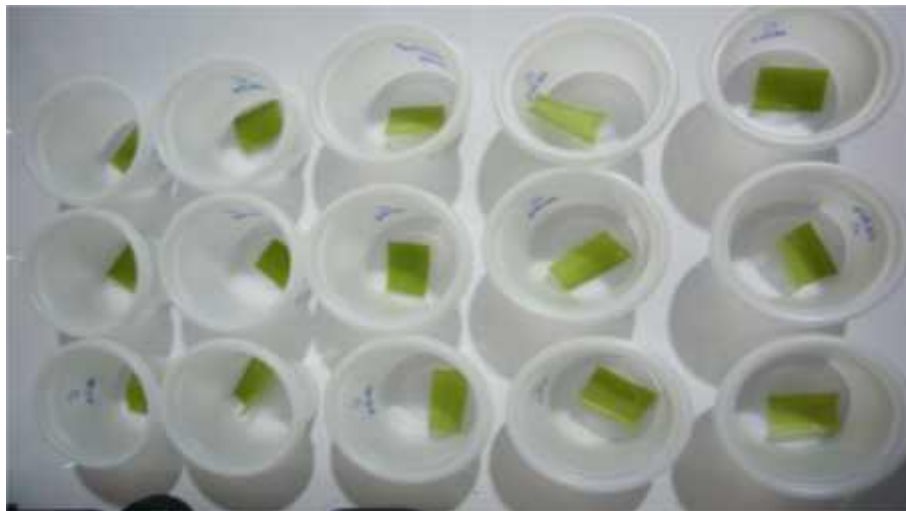
**ANEXO 13:** Larvas de neonatas de *S. frugiperda* listas para la aplicación de conidias de *B. bassiana*.



**ANEXO 14:** Aplicación de diferentes concentraciones de conidias de *B. bassiana* sobre de larvas de *S. frugiperda*.



**ANEXO 15:** Individualización de larvas de *S. frugiperda* sometidas a cada tratamiento con *B. bassiana*.



**ANEXO 16:** Incubación de larvas de *S. frugiperda* infectadas con las diferentes concentraciones de *B. bassiana*.



**ANEXO 17:** Cámara húmeda para larvas muertas de *S. frugiperda* por acción de conidias de *B. bassiana*.



**ANEXO 18:** Lámina con larvas de *Spodoptera frugiperda* sobre las cuales sobresale el micelio de *B. bassiana*.



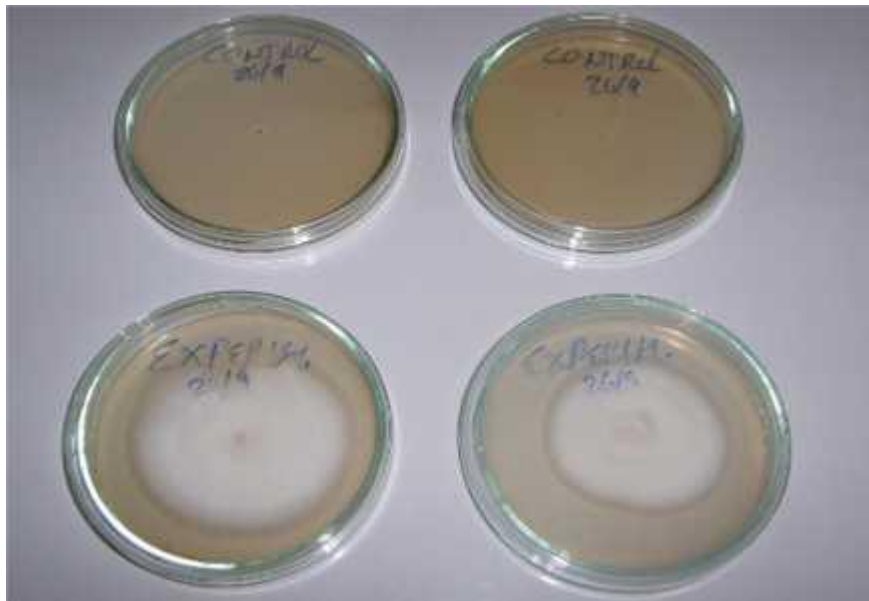
**ANEXO 19:** Observación con microscopio de larva de *S. frugiperda* infectada cubierta completamente con micelio de *B. bassiana*.



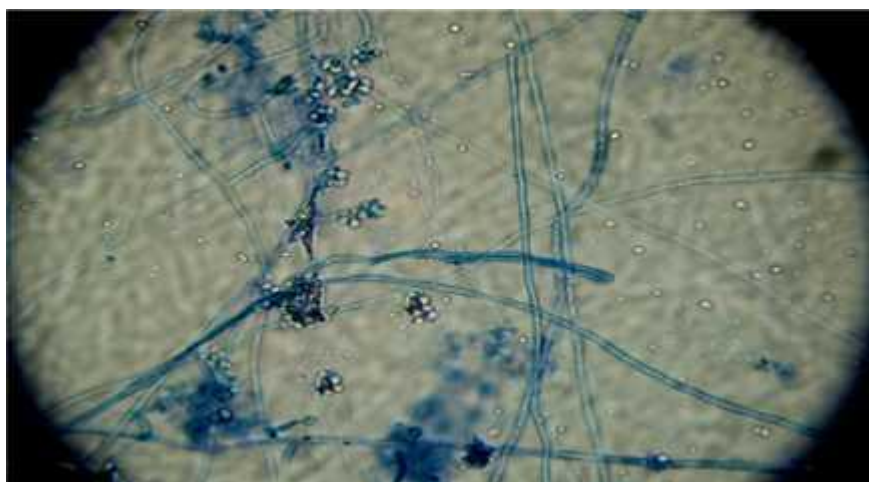
**ANEXO 20:** Preparación de medio de cultivo para aislamiento de *B. bassiana*.



**ANEXO 21:** Medio de cultivo Agar papa dextrosa con *B. bassiana* después de 20 días de incubación.



**ANEXO 22:** Observación con microscopio, estructuras de *B. bassiana*.



A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'D' followed by several loops and a horizontal line at the bottom.

Msc. Daladier Castillo Cotrina

Asesor

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized initial 'I' followed by several loops and a horizontal line at the bottom.

Bach. Isaura Luque Candia

Tesista