

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

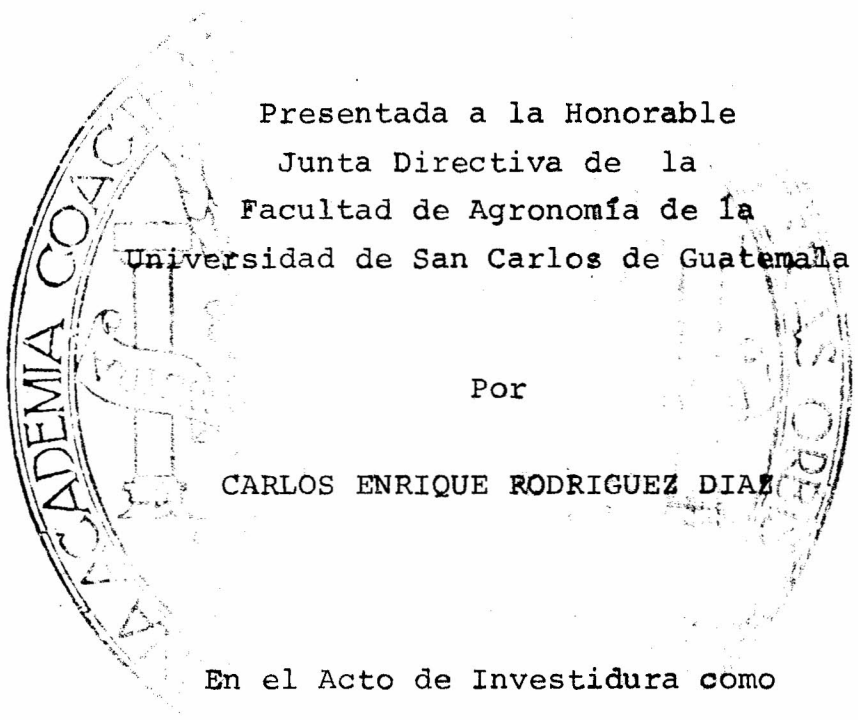
FACULTAD DE AGRONOMIA

"SENSIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATOGENO

Beauveria bassiana (Bals.) Vuill A 7 FUNGICIDAS

BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO"

T E S I S



Presentada a la Honorable
Junta Directiva de la
Facultad de Agronomía de la
Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

CARLOS ENRIQUE RODRIGUEZ DIAZ

En el Acto de Investidura como

INGENIERO AGRONOMO

En el Grado Académico de
LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, noviembre de 1983

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Eduardo Meyer Maldonado

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. César Castañeda
VOCAL I	Ing. Agr. Oscar René Leiva
VOCAL II	Ing. Agr. Gustavo Méndez G.
VOCAL III	Ing. Agr. Rolando Lara A.
VOCAL IV	Prof. Héber Arana
VOCAL V	Prof. Francisco Muñoz N.
SECRETARIO	Ing. Agr. Rodolfo Alvizures

TRIBUNAL QUE REALIZO

EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Dr. Antonio Sandoval S.
EXAMINADOR	Ing. Agr. Oscar Lionel Orozco
EXAMINADOR	Ing. Agr. Gustavo Herrera
EXAMINADOR	Ing. Agr. Manuel Martínez
SECRETARIO	Ing. Agr. Carlos Fernández



FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA

Edificio "F"

Ciudad Universitaria, Zona 12
GUATEMALA, CENTROAMERICA

8 de noviembre de 1983

Ing. Agr. MsC. César Castañeda
Decano de la Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad Universitaria, zona 12
Ciudad de Guatemala.

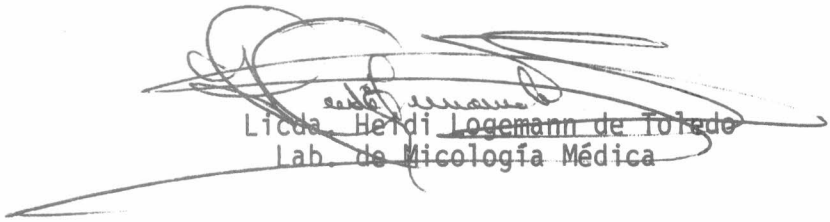
Señor Decano:

Me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que, en base a la designación emanada de su Despacho, procedí a asesorar el trabajo de tesis de Carlos Enrique Rodríguez Díaz, denominado: "SENSIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATOGENO Beauveria bassiana (Bals.) Vuill A 7 FUNGICIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO".

Debo manifestarle que esta investigación constituye un valioso aporte de la Facultad de Agronomía de la USAC al Control Microbiológico de la Broca del café (Hypothenemus hampei Ferr. 1867) con Beauveria bassiana, considero que la misma llena la calidad técnica y científica que nuestra Alma mater exige, por lo que sugiero su aprobación.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"



Licda. Heidi Logemann de Toledo
Lab. de Micología Médica

Guatemala, 8 de noviembre de 1983

Ing. Agr. Msc. César Castañeda
Decano de la Facultad de Agronomía
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
Ciudad.

Ing. Castañeda:

En atención a la designación que el decanato que honrosamente tiene usted a su cargo, me hiciera para asesorar a CARLOS ENRIQUE RODRIGUEZ - DIAZ en la ejecución de la tésis titulada:

"SENSIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill A 7 FUNGICIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO".

Me es grato comunicarle que dicho trabajo fue realizado con apego a las normas técnicas y científicas que la Universidad de San Carlos de Guatemala exige, por lo que esta investigación representa un valioso aporte a la caficultura nacional, así mismo es base para otras inquietudes científicas que pueden realizarse en un futuro próximo, por lo que sugiero que sea aprobada su publicación.

Atentamente,



ING. AGR. JOSE LUIS MONTERROSO

c.c.

/cmh

Guatemala,
noviembre de 1983

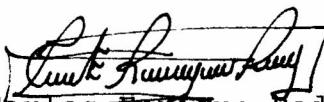
Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador:

De conformidad a lo que establece la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

"SENSIBILIDAD DEL HONGO ENTOMOPATOGENO
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill A 7
FUNGICIDAS BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO"

presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Deferentemente,



Carlos Enrique Rodríguez Díaz

AGRADECIMIENTO

A mis asesores, Licda. Heidi Logeman de Toledo y el Ing. Agr. José Luis Monterroso, por su interés y dedicación en la asesoría y colaboración para la elaboración de esta tesis.

A los Ingenieros Agrónomos Marco Tulio Aceituno y Juan Salvador Sandoval, por el apoyo moral e intelectual y desinteresado que me brindaron para mi formación profesional.

Al Departamento de Control y Certificación de Semillas.

TESIS QUE DEDICO

A DIOS

A mis Padres

Leonardo Raúl Rodríguez Avila
Elsa Cristina Díaz de Rodríguez

A mi Esposa

Marlyn De Cecco de Rodríguez

A mi Hijo

José Carlos Rodríguez De Cecco

A mis Hermanos

Lidia Amparo, Edith Celeste y
Edgar Raúl

A mis Familiares

En general

A mis Asesores

Licda. Heidi Logeman de Toledo
Ing. Agr. José Luis Monterroso

A mi Amiga

Marta Lucrecia Ponciano C.

A mi Pueblo

San Pedro Necta

A mi Patria

Guatemala

A la Facultad de Agronomía

A la Universidad de San Carlos

A mis Amigos

RESUMEN

El cultivo del café se ve afectado seriamente por la Broca del café (Hypothenemus hampei Ferr. 1867). Para controlar a esta plaga se han usado los agroquímicos. En el año de 1978 se detectó la presencia del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana parasitando a la Broca del café, desde ese entonces se ha venido investigando este hongo a fin de poder usarlo como un factor de control microbiológico para controlar este insecto, prometiendo este método mejores resultados que el uso de pesticidas.

El café se ve infestado por varias enfermedades que para su control se utilizan ciertos fungicidas, condición ésta que podría limitar la acción del Beauveria bassiana en el control microbiológico de la Broca del Café, razón ésta por la que se realizó esta tesis, la cual tiene como objetivo determinar la sensibilidad de este hongo a los 7 fungicidas más usados en la caficultura bajo condiciones de laboratorio. Los fungicidas usados fueron los siguientes: Bayletón, Benlate, Calixin, Difolatan, Ferbam, Oxicloruro de Cobre y Sicarol, todos estos en tres dosis, representadas así: 0.5 = la mitad de la dosis usada en el campo, 1.0 = la dosis usada en el campo, 1.5 = la dosis usada en el campo más la mitad de la misma.

Para evaluar estadísticamente este experimento, se usó el diseño experimental completamente al azar con siete fungicidas, cada uno con tres dosis y cuatro repeticiones, formando estos 21 tratamientos más un tratamiento formado por un testigo absoluto (sin aplicación de fungicida) teniendo entonces un total de 22 tratamientos. El análisis de varianza realizado a los 22 tratamientos determinó que existen diferencias altamente significativas entre los mismos por lo que se realizó la prueba de Tukey, resultando que los fungicidas inhiben el desarrollo del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana. El tratamiento testigo fue en el que más desarrolló el hongo y no presenta similitud estadística con ningún tratamiento. Los tres tratamientos con Oxicloruro de Cobre en sus dosis 0.5, 1.0 y 1.5 fue el fungicida que menos inhibió el desarrollo del Beauveria bassiana. El Sicarol en sus dosis de 0.5, 1.0 y Ferbam en su dosis de 0.5, fueron los que en ese orden siguieron en la inhibición del desarrollo del hongo. Estadísticamente tuvieron un resultado similar el Sicarol en su dosis de 1.5, Ferbam en la dosis de 1.0 y Bayletón en sus tres dosis. Los tratamientos que mayor inhibición provocaron al hongo fueron el Calixin, Benlate y Difolatan en sus tres dosis y el Ferbam en su dosis de 1.5.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVO	3
III. HIPOTESIS	4
IV. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
V. MATERIALES Y METODOS	13
V.1 Localización	13
V.2 Materiales y equipo de laboratorio	13
V.3 Metodología	14
V.4 Diseño experimental	19
V.4.1 Modelo estadístico	20
V.4.2 Tratamientos usados	20
V.5 Datos recabados	22
V.6 Análisis de datos	22
VI. RESULTADOS	23
VII. DISCUSION DE RESULTADOS	25
VIII. CONCLUSIONES	27
IX. RECOMENDACIONES	28
X. BIBLIOGRAFIA	29

I. INTRODUCCION

En Guatemala, desde 1978 se observó en plantaciones de café de la Estación de Fomento Chicolá, la presencia del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals.) Vuill parasitando a la Broca del café (Hypothenemus hampei Ferr. 1867) (13). Desde ese entonces se han venido realizando trabajos de investigación que permitan tener un conocimiento más profundo de este hongo, a fin de poder usarlo como un factor de control microbiológico contra la Broca del café, que es la plaga insectil de importancia económica más relevante en el cultivo del café en nuestro país.

En 1971, apareció la Broca del café, detectándose en ese año 1,400 hectáreas infestadas, la plaga ha avanzado cubriendo en la actualidad un área mayor de 130,000 hectáreas, equivalente al 63% de la superficie sembrada de café, con pérdidas que llegan en algunos casos hasta un 57.15% (12). El método químico es el que corrientemente se ha usado para el control de este insecto, respecto a esto; Arriaga y Penados (2) citan que la tragedia de la Broca no está en el insecto propiamente, sino en las nuevas plagas que surgirán al perturbarse el ecosistema cafetalero como consecuencia del uso de pesticidas.

Tomando en cuenta los resultados del tradicional control de esta plaga, se hace patente la necesidad de encontrar un

método más eficaz, siendo éste el control microbiológico, el cual incluye en sus estrategias el uso de hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga. En el caso de la Broca del café es Beauveria bassiana el hongo entomopatógeno que en forma inducida provoca fuertes epizootias, sin embargo, el cultivo del café se ve afectado por diversas enfermedades que para controlarlas es necesario el uso de fungicidas, condición que podría limitar el control microbiológico de la Broca del café con Beauveria bassiana, por esta razón se realizó este trabajo como tesis, el cual consiste básicamente en determinar bajo condiciones de laboratorio, la sensibilidad de este hongo a los 7 fungicidas más usados en el cultivo del café. La selección de estos fungicidas fue hecha en base a una encuesta realizada a gente relacionada directamente con la caficultura.

Este experimento se realizó en el laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en los meses de junio y julio de 1983. Para la evaluación estadística de esta investigación se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 22 tratamientos.

II. OBJETIVO

- 1) Determinar el efecto de 7 fungicidas en distintas dosis, sobre el desarrollo del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio.

III. HIPOTESIS

- 1) Los 7 fungicidas en sus distintas dosis afectan el desarrollo del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio.

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

El control microbiológico de insectos se puede definir como la utilización de microorganismos efectuada por el hombre con el objeto de controlar otras especies; en entomología, el control microbiológico es una de las técnicas que se emplean en el control biológico de insectos (14). Los agentes infecciosos de las enfermedades de los insectos son bacterias, hongos, virus, protozoarios y nemátodos (17).

En los últimos años, la patología de insectos ha tenido grandes avances, dándosele la real valía al papel que juegan los patógenos en el control natural de los insectos y desarrollando el interés de los entomólogos en las posibilidades de la utilización extensiva de microorganismos para el control de insectos plaga (6).

Las ventajas del uso de microorganismos como agentes de control de insectos plagas son varias; entre las más importantes están: son inofensivos para las plantas y los animales (17); son un medio de control barato (5, 6, 7); son inócuos de manipular y no dejan depósitos de residuos tóxicos ni tampoco contribuyen a la contaminación del ambiente (5, 6, 7); no ha habido evidencia de que haya ocurrido selección para resistencia en insectos tratados repetidas veces con patógenos (7).

Hall, citado por De Bach (6) dice que las posibilidades de usar hongos entomopatógenos para el control de insectos plaga fueron consideradas por primera vez en la última parte del siglo XIX.

Entre los hongos entomopatógenos, el género Beauveria es uno de los que mayor número de insectos parasita (1). Específicamente Beauveria bassiana en U.S.A. es el causante de enfermedades en 175 especies de insectos, por lo que se ha mostrado prometedor como medida de control para ciertos insectos destructivos (6).

En Guatemala, en la zona cafetalera de la vertiente del pacífico, se han realizado ensayos de control microbiológico de la Broca del café con el hongo entomopatógeno Beauveria bassiana y se reportan mortalidades de un 92% (4).

Monterroso^{1/} dice que el Beauveria bassiana al usarse en forma inducida como medio de control para la Broca del café, es más efectivo que los agroquímicos y que en el campo los fungicidas; Bayleton (triadimefon), Oxiclóruo de Cobre (oxiclóruo de cobre) y Sicarol (pyracarbolid) aunque producen cierta inhibición en el desarrollo del Beauveria bassiana,

^{1/} MONTERROSO, J.L. Experiencias de Campo con Beauveria bassiana. Guatemala, mayo de 1982. Comunicación Personal.

Este es capaz de parasitar a la Broca del café en forma aceptable.

Se sabe poco sobre el efecto de los pesticidas químicos sobre los microorganismos entomopatógenos. Sin embargo, existe la evidencia de que alguno de estos materiales no disminuyen la actividad de ciertos patógenos. Varias especies de hongos entomophthoraceous presentan diferentes reacciones a varios pesticidas, en pruebas que se hicieron en laboratorio. Sin embargo, no se considera que el hongo podría sufrir trastornos serios debido a los tratamientos con pesticidas en los campos, dado que los organismos podrían estar en un estado de espora en reposo cuando se estuvieran usando en forma general, los productos químicos (6).

El aislamiento de los hongos patógenos ha facilitado la utilización de métodos In Vitro, como el de difusión y el de dilución en agar o en caldo, por medio de los cuales se logra determinar su sensibilidad frente a diversos agentes químicos. Según García-Salas (8) de los métodos anteriores el mejor es el de dilución en caldo, especialmente porque proporciona más reproducibilidad en resultados.

En U.S.A., Ignoffo et al (11) realizaron un trabajo llamado "Sensibilidad del hongo entomopatógeno Nomuraea rileyi a pesticidas químicos usados en la soya", evaluaron la sen-

sibilidad de este hongo a 7 fungicidas, siendo éstos: Benlate (benomyl), Bravo (chlorothalonil), Dithane M-45 (zinc iron maneb), Du-ter (fentin hydroxide ferbam), Fungisperse (sulfur-zineb), Lorvek (pyroxichlor) y Manzate (maneb).

Nomuraea rileyi causa epizootias en forma natural a 6 insectos plaga que afectan a la soya.

La metodología que emplearon es la siguiente: se cultivó el hongo entomopatógeno Nomuraea rileyi en Sabouraud -Maltosa-Agar fortificado con extracto de levadura. Se hicieron las diluciones de conidias en agua estéril, los conteos de las conidias fueron hechos con un hemocitómetro. Las diluciones fueron guardadas a una temperatura de 20°C hasta que se usaron. El medio SMA se colocó en cajas petri, cuando se solidificó, el medio se sembró en las cajas una suspensión de .1 ml que contenía una determinada cantidad de conidias, una hora más tarde se colocó un disco de papel que había sido esterilizado y remojado con el fungicida seleccionado y fue colocado en el centro de cada una de las cajas petri previamente sembradas. Se usaron 3 concentraciones, la dosis recomendada se designó como R, la mitad de la dosis recomendada se designó $\frac{1}{2}$ R y 1/10 de la dosis recomendada se designó como 1/10 R. Cada concentración fue repetida tres veces. Se dejó un testigo en el cual no se aplicó ningún fungicida. Todas las cajas fueron incubadas a 25[±] 1°C. Al realizar las lecturas se observó que el único fungicida que no inhibió el

desarrollo del N. rileyi fue el Lorvek y el fungicida que inhibió más significativamente el desarrollo del hongo fue el Benlate (11).

El Benlate es un fungicida que inhibe el desarrollo de varios hongos entomopatógenos. En U.S.A. se han realizado diversos experimentos en relación a lo expuesto anteriormente, así: Soper, Holbrook y Gordon (16) reportan que el Benlate inhibió el desarrollo de los hongos entomopatógenos Entomophthora culicis, E. exitalis, E. thateriana y E. virulenta. Wilding (18) dice que el hongo entomopatógeno Cephalosporium aphidicola es sensible al Benlate. Ollmert y Kenneth (15) dicen que los hongos entomopatógenos Verticillium sp., Verticillium lecanii y Beauveria bassiana son sensibles al Benlate.

En México, Gutiérrez (10) realizó un estudio "In Vitro" para determinar la sensibilidad del hongo patógeno Sclerotinia minor con el objeto de determinar un control químico para este microorganismo. El S. minor fue enfrentado a los fungicidas: Benlate 50 W (benomyl) y Botrán (DCNA) con cuatro dosis y cinco repeticiones. Las pruebas se llevaron a cabo usando cajas petri de 90 mm de diámetro, conteniendo cada una 20 ml del medio papa-dextrosa-agar + fungicida bien disuelto en 10 ml de agua destilada estéril. Se dejaron dos cajas testigo que contenían únicamente PDA. En el centro de

las cajas se colocó un disco de 8 mm de medio PDA + hongo de 6 días de edad. Las 50 cajas de petri usadas fueron incubadas durante 36 días bajo condiciones de laboratorio. Los resultados indicaron que el Benlate y el Botrán inhiben el crecimiento micelial, siendo más efectivo el Benlate. En el caso del Botrán existió diferencia entre las dosis no siendo así en el Benlate; en ambos productos las dosis altas causaron una mayor inhibición en el hongo. O sea que en las pruebas de control químico In Vitro, el Benlate a todas las dosis usadas tuvo efectos fungicidas sobre el S. minor en contraste, el Botrán a las mismas dosis, únicamente redujo el crecimiento micelial.

En Guatemala, García-Salas (8) estudió la sensibilidad "In Vitro" de 40 cepas de hongos, tanto patógenos como contaminantes, a las siguientes sustancias: ciclofosfamida, metotrexate, trimetoprim-sulfumetozazole, metil p-hidrobenczoato (metil parabeno) y propil p-hidroxibenczoato (propil parabeno). Determinando la concentración inhibitoria de cada uno de estos productos.

La metodología usada fue la siguiente: las cepas se inocularon en agar-sabouraud y se incubaron por 7 días a 25° C., las sustancias investigadas, en sus diferentes concentraciones se disolvieron en 5 ml de alcohol metílico al 95% y se agregaron al caldo Sabouraud. Los caldos

preparados se inocularon con cada una de las cepas de hongos y se incubaron 14 días a 25° C, revisados a los 7 y 14 días, para determinar si hubo crecimiento en alguno de ellos. La ciclofosfamida y metotrexate, a las concentraciones examinadas no presentan actividad inhibitoria en las diferentes especies de hongos estudiadas. A la combinación trime-toprim/sulmetoxazole fueron sensibles las 40 cepas de hongos tanto patógenos y no patógenos. Los parabenos presentaron una amplia actividad inhibitoria en todos los hongos (8).

En Honduras, Bustamante y López (3) desarrollaron una metodología para evaluar la tolerancia de la sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis var. difformis) al Benlate bajo condiciones de laboratorio. La metodología fue la siguiente: tomaron muestras de hojas con la sintomatología de la enfermedad bien definida. Las prepararon en el laboratorio. Hicieron un medio de cultivo agar-agua deionizada, a esto le agregaron una cantidad determinada del fungicida, usaron 5 dosis, con 3 repeticiones, dejando un testigo con agar-agua. La mezcla agar-agua-Benlate la colocaron en cajas petri. La hoja enferma la colocaron en la parte interna de la tapadera de la caja petri, sobre el agar, por 30 minutos. Luego realizaron un montaje del hongo y observaron, determinando lo siguiente: cuando el hongo es sensible al Benlate, la ascospora no germina, emite un tubo

germinativo corto, deforme y distorsionado y cuando el hongo no es sensible al Benlate, que es la tolerancia al mismo, la ascospora presenta tubos germinativos largos y no presentan deformación o distorsión.

V. MATERIALES Y METODOS

V.1 Localización

Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos, ciudad universitaria, zona 12, ciudad Guatemala, que está ubicada a una altura de 1,502.32 metros sobre el nivel del mar y a una longitud de $90^{\circ} 35' 11''$ (9).

V.2 Materiales y equipo de laboratorio

- Agua estéril
- Algodón
- Autoclave
- Aza
- Balanza analítica
- Beaker
- Cámara de transferencia
- Cubre objetos y porta objetos
- Espátula
- Ermenmeyers
- Formalina al 2%
- Fósforos
- Frascos de vidrio de 120 cm^3 de capacidad
- Hemocitómetro (cámara de Neubauer)

- Horno de convección
- Incubadora
- Jeringas
- Marcador para vidrio
- Mechero de Bunsen
- Micropipeta
- Microscopio
- Papel estaño
- Papel periódico
- Pipetas
- Refrigeradora
- Tubos de ensayo.

V.3 Metodología

La metodología que se usó es la siguiente:

1. Se contaba con una cepa del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana, la cual se cultivó en arroz, encontrándose en perfectas condiciones. Se guardó a una temperatura constante de 27° C.
2. Se preparó un medio de cultivo agar-Sabouraud. De la cepa de Beauveria bassiana se hicieron inoculaciones en este medio, el cual se dejó por un tiempo de tres semanas a una temperatura constante de 27°C

para que el hongo se esporulara abundantemente.

3. Se preparó un medio de cultivo caldo Sabouraud, de este medio se aplicaron 5 ml en cada tubo de ensayo, éstos se dejaron por 24 horas a una temperatura ambiente para observar si en los mismos existía o no contaminación.

4. Se prepararon las diluciones en los 7 fungicidas; de cada uno de ellos se usaron 3 dosis (Cuadro 1) con 4 repeticiones. Las dosis se designaron de la siguiente forma:

0.5 = la mitad de la dosis recomendada en el campo

1.0 = la dosis recomendada en el campo

1.5 = la dosis recomendada en el campo más la mitad de la misma.

CUADRO No. 1

LAS TRES DOSIS DE LOS SIETE FUNGICIDAS

Fungicidas	Dosificaciones		
	0.5	1.0	1.5
Bayleton (triadimefon)	20gr/12 lts*	40gr/12 lts	60gr/12 lts
Benlate (benomyl)	14gr/12 lts	28gr/12 lts	42gt/12 lts
Calixin (tridemorph)	10cc/12 lts	20cc/12 lts	30cc/12 lts
Difolatan (folcid)	28gr/12 lts	56gr/12 lts	84gr/12 lts
Ferbam (ferbam)	28gr/12 lts	56gr/12 lts	84gr/12 lts
Ox. de Cu. (ox. de Cu)	28gr/12 lts	56gr/12 lts	84gr/12 lts
Sicarol (pyracarbolid)	10cc/12 lts	20cc/12 lts	30cc/12 lts

* Litros de agua

Las anteriores dosificaciones se diluyeron en agua estéril (Cuadro No. 2). Para medir los fungicidas sólidos se usó la balanza analítica y para los líquidos la micro-pipeta. Las dosis de los fungicidas se diluyeron de acuerdo al siguiente ejemplo:

La dosis del Bayleton para su uso en el campo es de 40gr/12 lts. de agua, así:

40 gr de Bayletón-----12 lts de agua

x gr de Bayletón----- 1 lt de agua

x = 3.33 gr de Bayletón/1 lt de agua

1 litro = 1000 ml

3.33 gr de Bayletón _____ 1000 ml de agua

x gr de Bayletón _____ 6.5 ml de agua

x = 0.0216450 gr de Bayletón/6.5 ml de agua.

Se tomó 6.5 ml de agua como factor para diluir el fungicida, debido a que 1 ml de agua representa a la dilución del producto propiamente dicha + 5 ml de agua que representan a los 5 ml de caldo Sabouraud que contenía cada tubo de ensayo + .5 ml de agua que representa a .5 ml de suspensión de esporas que inocularon en cada tubo de ensayo; la sumatoria de estas cantidades es = 6.5 ml de agua. Por lo que así se mantuvo la concentración de las dosis de los 7 fungicidas.

Entonces las dosis de Bayletón quedaron así:

Dosis 0.5 = 0.0108225 gr de Bayletón/6.5 ml de agua

Dosis 1.0 = 0.0216450 gr de Bayletón/6.5 ml de agua

Dosis 1.5 = 0.0324675 gr de Bayletón/6.5 ml de agua.

CUADRO No. 2

DILUCIONES DE LAS DOSIS DE LOS SIETE FUNGICIDAS

Fungicidas	Dosificaciones		
	0.5	1.0	1.5
Bayletón	.0108225gr/6.5 ml*	.0216450gr/6.5 ml	.0324675 gr/6.5 ml
Benlate	.0075725gr/6.5 ml	.0151450gr/6.5 ml	.0227175 gr/6.5 ml
Calixin	.0053950cc/6.5 ml	.0107900cc/6.5 ml	.0161850 cc/6.5 ml
Difolatan	.0151450gr/6.5 ml	.0302900gr/6.5 ml	.0454350 gr/6.5 ml
Ferbam	.0151450gr/6.5 ml	.0302900gr/6.5 ml	.0454350 gr/6.5 ml
Ox. de Cu.	.0151450gr/6.5 ml	.0302900gr/6.5 ml	.0454350 gr/6.5 ml
Sicarol	.0053950cc/6.5 ml	.0107900cc/6.5 ml	.0161850 cc/6.5 ml

* ml de agua estéril

De cada dilución de dosis de los 7 fungicidas se aplicó 1 ml en el tubo de ensayo correspondiente.

5. A las tres semanas, el hongo ya había esporulado en forma abundante por lo que se hizo la suspensión de esporas. Del medio de cultivo agar-Sabouraud se tomó con una aza estéril la mayor cantidad de hongo posible, el que se puso en un frasco que contenía 50 ml de agua estéril, éste se agitó fuertemente para separar del micelio las esporas, estas últimas por su mayor peso quedaron en la parte inferior y el micelio por su menor peso se fue a la

parte superior, lo que se desechó. Se tomó 1 ml de la suspensión de esporas y con el hemocitómetro se realizó un conteo de las mismas. Se inoculó .5 ml de suspensión de esporas en cada tubo de ensayo.

6. Los tubos de ensayo con caldo Sabouraud, suspensión de esporas y la dilución de fungicida, además del testigo que tenía caldo Sabouraud y suspensión de esporas, se incubaron a una temperatura constante de 27°C por espacio de tres semanas, tiempo suficiente para determinar la sensibilidad del hongo. Se realizaron dos observaciones, una a la primera semana y la otra a la segunda semana, para determinar cualquier anomalía. A la tercera semana se realizó el conteo de esporas con el hemocitómetro, en los tubos que presentaron esporulación del hongo.

V.4 Diseño experimental

Para la evaluación estadística, se usó un diseño completamente al azar, con 22 tratamientos. 21 tratamientos formados por los 7 fungicidas usados en 3 dosis y 1 tratamiento testigo en el cual no se aplicó ningún fungicida. La unidad experimental fue un tubo de ensayo y se usaron 4 repeticiones.

V.4.1 Modelo estadístico

$$Y_{ij} = M + \tau_i + E_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, \dots, t$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, t$$

De donde:

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij -ésima unidad experimental

M = Efecto de la media general

τ_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

E_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la ij -ésima unidad experimental

V.4.2 Tratamientos usados

Los fungicidas que se utilizaron fueron los siguientes: Bayletón, Benlate, Calixin, Difolatan, Ferbam, Oxiclورو de Cobre y Sicarol.

Se utilizaron estos 7 fungicidas por ser los más usados en la caficultura. Se usaron 3 dosis, una dosis alta, una dosis media y una dosis baja. La dosis baja se designó como 0.5, representando ésta la mitad de la dosis usada en el campo. La dosis media se designó como 1.0,

representando ésta la dosis usada en el campo. La dosis alta se designó como 1.5, representando así la dosis usada en el campo más la mitad de la misma.

En total se formaron 22 tratamientos (Cuadro No. 3)

CUADRO No. 3
TRATAMIENTOS USADOS

Número del tratamiento	Fungicida	Número representativo de las dosis	Dosis recomendada para el campo, usada en bomba de 12 lts de agua	Dosis aplicada en cada tubo de ensayo que contenían un volumen de 6.5 ml
1	Bayletón	0.5	20 grs.	0.0108225 grs.
2	Bayleton	1.0	40 grs.	0.0216450 grs.
3	Bayletón	1.5	60 grs.	0.0324675 grs.
4	Benlate	0.5	14 grs.	0.0075725 grs.
5	Benlate	1.0	28 grs.	0.0151450 grs.
6	Benlate	1.5	42 grs.	0.0227175 grs.
7	Balixin	0.5	10 cc.	0.0053950 cc.
8	Calixin	1.0	20 cc.	0.0107900 cc.
9	Calixin	1.5	30 cc.	0.0161850 cc.
10	Difolatan	0.5	28 grs.	0.0151450 grs.
11	Difolatan	1.0	56 grs.	0.0302900 grs.
12	Difolatan	1.5	84 grs.	0.0454350 grs.
13	Ferbam	0.5	28 grs.	0.0151450 grs.
14	Ferbam	1.0	56 grs.	0.0302900 grs.
15	Ferbam	1.5	84 grs.	0.0454350 grs.
16	Ox. de Cu	0.5	28 grs.	0.0151450 grs.
17	Ox. de Cu	1.0	56 grs.	0.0302900 grs.
18	Ox. de Cu	1.5	84 grs.	0.0454350 grs.
19	Sicarol	0.5	10 cc.	0.0053950 cc.
20	Sicarol	1.0	20 cc.	0.0107900 cc.
21	Sicarol	1.5	30 cc.	0.0161850 cc.
22	No se aplicó fungicida (testigo absoluto)			

V.5 Datos recabados

- 1) Se anotó la cantidad de esporas que habían en 1 ml que se extrajo de la suspensión madre de esporas. De esta suspensión se sembró .5 ml en cada tubo de ensayo.

- 2) Se tomaron datos de la cantidad de esporas que existían en 1 ml. de la solución que había en los tubos de ensayo donde esporuló el hongo.

V.6 Análisis de datos

Para realizar el diseño experimental fue necesario aplicar la transformación $\sqrt{x + 1}$. Luego se efectuó el análisis de varianza, de acuerdo al modelo estadístico del diseño completamente al azar.

Finalmente, para determinar qué tratamientos eran los causales de las diferencias, se efectuó la prueba de Tukey al análisis.

VI. RESULTADOS

El conteo realizado con el Hemocitómetro a 1 ml extraído de la suspensión madre de esporas dió como resultado 1,880,000 esporas en dicho volúmen. De esta suspensión se sembró en .5 ml en cada tubo de ensayo.

CUADRO No. 4
RESULTADO DE LOS CONTEOS DE ESPORAS/1 ml

Número del Tratamiento	Fungicida	Número Representativo de las dosis	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4
1	Bayletón	0.5	15,000	11,000	13,000	16,000
2	Bayletón	1.0	9,000	7,000	10,000	11,000
3	Bayletón	1.5	6,000	8,000	8,000	7,000
4	Benlate	0.5	-	-	-	-
5	Benlate	1.0	-	-	-	-
6	Benlate	1.5	-	-	-	-
7	Calixin	0.5	2,000	1,000	3,000	2,000
8	Calixin	1.0	3,000	2,000	2,000	1,000
9	Calixin	1.5	2,000	1,000	1,000	2,000
10	Difolatan	0.5	-	-	-	-
11	Difolatan	1.0	-	-	-	-
12	Difolatan	1.5	-	-	-	-
13	Ferbam	0.5	21,000	28,000	18,000	26,000
14	Ferbam	1.0	18,000	15,000	26,000	23,000
15	Ferbam	1.5	-	-	-	-
16	Ox. de Cu	0.5	139,000	236,000	129,000	168,000
17	Ox. de Cu	1.0	102,000	102,000	69,000	71,000
18	Ox. de Cu	1.5	65,000	68,000	76,000	64,000
19	Sicarol	0.5	53,000	67,000	50,000	52,000
20	Sicarol	1.0	40,000	47,000	31,000	48,000
21	Sicarol	1.5	21,000	18,000	30,000	20,000
22	No se aplicó fungicida (testigo absoluto) = 1,025,000.					

CUADRO No. 5
ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
Tratamientos	21	4 ₁ 291,844.79	204,307.56	675.54**
Error	66	19,967.23	302.53	
Total	87	4 ₁ 311,812.02		

Coeficiente de Variación = 11.60%

CUADRO No. 6
PRUEBA DE TUKEY (VALOR DEL COMPARADOR = 52.18)

No. de Tratamiento	Fungicida	Dosis	X	Tukey al 1%
22	Testigo	(sin fun.)	1 ₁ 025,000	a
16	Ox. de Cu	0.5	406.92	b
17	Ox. de Cu	1.0	291.97	c
18	Ox. de Cu	1.5	261.00	cd
19	Sicarol	0.5	235.18	de
20	Sicarol	1.0	202.99	ef
13	Ferbam	0.5	151.92	fg
21	Sicarol	1.5	148.43	g
14	Ferbam	1.0	142.39	gh
1	Bayleton	0.5	116.97	ghi
2	Bayleton	1.0	95.86	hi
3	Bayleton	1.5	85.01	ij
7	Calixin	0.5	43.97	jk
8	Calixin	1.0	43.97	jk
9	Calixin	1.5	38.19	jk
4	Benlate	0.5	1.00	k
5	Benlate	1.0	1.00	k
6	Benlate	1.5	1.00	k
10	Difolatan	0.5	1.00	k
11	Difolatan	1.0	1.00	k
12	Difolatan	1.5	1.00	k
15	Ferbam	1.5	1.00	k

VII. DISCUSION DE RESULTADOS

El análisis de varianza efectuado a los datos obtenidos del experimento, indicó que existían diferencias altamente significativas entre los tratamientos efectuados, por lo que se hizo necesario realizar una prueba de Tukey. La mencionada prueba nos formó varios grupos de tratamientos que tenían un comportamiento similar en cuanto al efecto de inhibición sobre el desarrollo del hongo entomopatógeno Bauveria bassiana, sin embargo, se destaca el tratamiento testigo (sin aplicación de fungicida), el cual además de presentar la mayor media de todos los tratamientos no presentó similitud estadística con ningún otro tratamiento. También se puede observar en los resultados de esta prueba, que el tratamiento con Oxidloruro de Cobre a la dosis 0.5 fue el que mayor media presentó entre los tratamientos en que se utilizaron fungicidas, lo que nos indica que es el tratamiento que menos inhibe el desarrollo del hongo. Los tratamientos que le siguen son Oxidloruro de Cobre en sus dosis de 1.0 y 1.5 respectivamente. Luego de los tratamientos ya mencionados, aparecen los tratamientos con Sicarol en sus dosis de 0.5, de 1.0 y el Ferbam en su dosis de 0.5. Los tratamientos que tuvieron un resultado intermedio en cuanto a la inhibición del hongo, fueron: Sicarol a la dosis 1.5, Ferbam a la dosis 1.0 y Bayletón en sus tres dosis usadas. Por último, los tratamientos que más inhibieron el desarrollo del hongo entomopatógeno Beauveria

bassiana y que estadísticamente se manifestaron como iguales en la prueba de Tukey fueron: Calixin, Benlate y Difolatan en sus tres dosis, además del Ferbam en sus dosis de 1.5.

VIII. CONCLUSIONES

- 1) Los 7 fungicidas en sus tres dosis, tienen influencia sobre el desarrollo del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio
- 2) Los tres tratamientos con Oxiclорuro de Cobre son los que menos inhiben el desarrollo del Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio.
- 3) Entre los tratamientos con Oxiclорuro de Cobre el que menos inhibe el desarrollo del Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio es el de la dosis 0.5.
- 4) Los tratamientos que más inhibición provocan en el desarrollo del Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio son: Calixin, Benlate, Difolatan, todos en sus tres dosis estudiadas y el Ferbam en su dosis de 1.5.
- 5) El tratamiento testigo (sin aplicación de fungicida) fue el que más desarrollo del hongo Beauveria bassiana presentó.
- 6) Las dosis más altas en los 7 fungicidas usados provocaron la mayor inhibición en el desarrollo del Beauveria bassiana bajo condiciones de laboratorio.

IX. RECOMENDACIONES

- 1) Si se desea realizar un control microbiológico de la Broca del café (Hypothenemus hampei Ferr. 1867) con el hongo entomopatógeno Beauveria bassiana, lo más conveniente es no aplicar fungicidas.
- 2) Si es necesario hacer aplicaciones de fungicida cuando se esté realizando el control microbiológico de la Broca del café con el Beauveria bassiana, lo mejor es utilizar el fungicida Oxicloruro de Cobre, siempre y cuando éste fuese el indicado.
- 3) Si es necesario utilizar los fungicidas que en esta investigación manifestaron una mayor inhibición en el desarrollo del hongo estudiado, es conveniente dejar un periodo prudencial de tiempo para poder aplicar el control microbiológico de la Broca del café con el Beauveria bassiana.
- 4) Es conveniente realizar un estudio de la sensibilidad del hongo entomopatógeno Beauveria bassiana a los 7 fungicidas ya evaluados en el laboratorio, en condiciones de campo, para evaluar su comportamiento en ese ambiente.

X. BIBLIOGRAFIA

1. AINSWORTH, G. C. and SUSSMAN, A. S. The fungi an advanced treatise. New York, Academic Press, 1968. pp. 227-236.
2. ARRIAGA, M. V. y PENADOS, R. R. Campaña contra la broca del café. Informe de labores Oct. 1978 - Mar. 1979, San Antonio Suchitepéquez, Guatemala, Asociación Nacional del Café, 1979. 29 p.
3. BUSTAMANTE, M. y LOPEZ, S. Metodología para evaluar la tolerancia del hongo a los fungicidas sistémicos. La sigatoka negra del plátano (Musa AAA y AAB) y su impacto económico en Centro América y Sureste de México (Guatemala) 1982: 39-40.
4. CONGRESO NACIONAL de Manejo Integrado de Plagas, 1°, GUATEMALA, 1983. Memorias. Guatemala, Asociación Guatemalteca de Manejo Integrado de Plagas, 1983. 402 p. Del 21 al 25 de febrero.
5. COOKE, R. C. Fungi, man and his environment. London, Longman Group Limited, 1977. p. 69.
6. DE BACH, P. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Trad. por Carlos Manuel Castaños. México, Compañía Editorial Continental, 1981. pp. 715-736.
7. FALCON, L. A. and SMITH, R. F. Guidelines for integrated control of cotton insect pests. Rome, FAO, 1974. pp. 51.
8. GARCIA-SALAS, J.E. Sensibilidad In Vitro. Tesis Quim. Biol. Guatemala. USAC, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1983. 26 p.
9. GUATEMALA, INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. Registro anual 1980. Guatemala, 1980.
10. GUTIERREZ, A. Etiología y control de la marchitez de la lechuga (Lactuca sativa L.) en Xochimilco Edo. de México. Tesis Mag. Sc. Rama de Fitopatología, C.P. Chapingo, México, 1980. 83 p.
11. IGNOFFO, C. M. et al. Sensitivity of the entomopathogenic fungus Nomuraea riveyi to chemical pesticides use on soybeans. Environmental Entomology (U.S.A.) 4(5): 765-768. 1975.

12. MONTERROSO, J. L. Evaluación del daño causado por la broca del fruto del café (Hypothenemus hampei Ferr. 1867). Guatemala, DIGESA, 1981. 6 p.
13. _____. Incidencia de Beauveria bassiana sobre la broca del cafeto (Hypothenemus hampei Ferr. 1867) y su reproducción en coco (Cocos nucifera L.) en Guatemala. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. Boletín No. 6, 1981. 6 p.
14. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manejo y control de plagas de insectos. Trad. por Modesto Rodríguez de la Torre. México, Limusa, 1980. v. 3. pp. 190-215.
15. OLMERT, I. and KINNETH, R. G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, Beauveria bassiana, Verticillium lecanii and Verticillium sp. to fungicides and insecticides. Environmental Entomology (U.S.A.) 3: 560-563. 1974.
16. SOPER, R. S., HOLBROOK, F.R. and GORDON, C. C. Comparative pesticide effects on Entomophthora and phytopathogen Alternaria solani. Environmental Entomology (U.S.A.) 3: 560-563. 1974.
17. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Yearbook of agriculture 1952; Insects. Washington, D. C., 1952. 780 p.
18. WILDING, N. The effect of systemic fungicides on aphid pathogen Cephalosporium aphidicola. Plant Pathology (U.S.A.) 21: 137-139. 1972.

Vo Bo
 Opa Ramirez S



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

"IMPRIMASE"

ING. AGR. CESAR A. CASTAÑEDA S.
D E C A N O

