

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

"EVALUACION DE MEDIOS DE CULTIVO, INFLUENCIA DE LUZ, TEMPERATURA Y
DETERMINACION DEL RANGO DE HOSPEDAJES DEL HONGO ENTOMOPHTHORA SP IN VITRO"

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA

DE LA

FACULTAD DE AGRONOMIA

POR

JOSE ANTONIO DE LEON NOBLES

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO ACADEMICO DE LICENCIADO EN

CIENCIAS AGRICOLAS

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1935

D.L.

01

T(71)

C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

DR. EDUARDO MEYER MALDONADO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	César A. Castañeda S.
VOCAL I:	Ing. Agr. Oscar R. Leiva Ruano
VOCAL II:	Ing. Agr. Jorge Sandoval Illescas
VOCAL III:	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
VOCAL IV:	P. Agr. Angel Leopoldo Jordán
VOCAL V:	P. Agr. Alex Gómez Chavarry

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO:	César A. Castañeda S.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Manuel Martínez
EXAMINADOR:	Ing. Agr. José Jesús Chonay P.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Freddy Hernández Ola
SECRETARIO:	Ing. Agr. Luis A. Castañeda

Guatemala, 27 de agosto de 19⁸⁵

HONORABLES MIEMBROS
JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE AGRONOMIA

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:

"EVALUACION DE MEDIOS DE CULTIVO, INFLUENCIA DE LUZ,
TEMPERATURA Y DETERMINACION DEL RANGO DE HOSPEDANTES
DEL HONGO ENTOMOPHTHORA SP. IN VITRO"

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

Deferentemente,

A handwritten signature in dark ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke, positioned above the printed name.

José Antonio de León Robles

amct.



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

20 de agosto de 1985

Ingeniero Agrónomo
César Castañeda
Decano Fac. Agronomía

Señor Decano:

En base a la designación hecha por esa decanatura, me permito informarle que procedí a asesorar y a revisar el escrito del trabajo de tesis "EVALUACION DE MEDIOS DE CULTIVO INFLUENCIA DE LUZ Y DETERMINACION DEL RANGO DE HOSPEDANTES DEL HONGO Entomophthora sp. IN VITRO", desarrollado por el estudiante José Antonio de León Robles, carnet No. 78-00919.

En la presente investigación, se presenta información básica valiosa para continuar investigando en la línea del control biológico como un componente del Manejo Integrado de Plagas.

Esta investigación fue realizada con el estricto apego a los procedimientos científicos; por lo que recomiendo su aprobación para que sea aceptada como trabajo de tesis de graduación en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

Atentamente,

Ing, Agr. MSc. Lauriano Figueroa
Subárea Protección de Plantas



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia
Asunto
.....

18 de septiembre de 1985

Ingeniero

César A. Castañeda S.
Decano Facultad de Agronomía
Presente

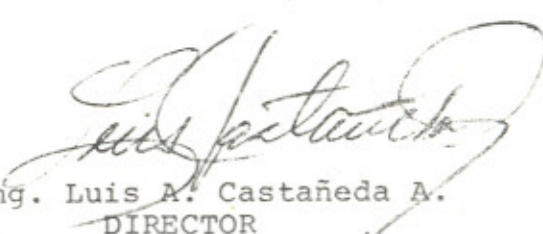
Señor Decano:

Por este medio informo a usted, que he revisado la Tesis de Grado del estudiante JOSE ANTONIO DE LEON ROBLES que se identifica con el carnet No.78-00919 titulada: "EVALUACION DE MEDIOS DE CULTIVO, INFLUENCIA DE LUZ, TEMPERATURA Y DETERMINACION DEL RANGO DE HOSPEDANTES DEL HONGO ENTOMOPHTHORA sp. IN VITRO", la cual se ajusta a las normas establecidas por la Facultad de Agronomía para estos trabajos.

Sin otro particular, me es grato suscribirme de usted.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS


Ing. Luis A. Castañeda A.
DIRECTOR

ACTO QUE DEDICO A:

DIOS

A MIS PADRES:

José Antonio de León Pineda

María del Carmen Robles de de León

A MI HIJO:

Manuel Alejandro

A MI FAMILIA Y AMIGOS

AGRADECIMIENTOS

- A MI ASESOR: Ing. Agr. MSc. Lauriano Figueroa Quiñónez; por su asesoría, revisión y corrección del presente trabajo de tesis.
- AL SEÑOR: Filadelfo Vásquez; por la realización del trabajo fotográfico.
- A LOS Ing. Agr. Amilcar Gutiérrez, Edil Rodríguez, Ronald Estrada, Domingo Amador, Sergio González, Luis Ortiz; por las recomendaciones y evaluación realizada al trabajo de tesis.
- A LOS Ing. Agr. César Marroquín Varela y Mario Francisco Chonay; por su valiosa colaboración y ayuda durante la realización de la presente tesis.
- A LOS Ing. Agr. José Abel Chavarría, Otoniel Chacón, Oswaldo López Muñoz, Luis Saravia y a la señorita Rossina Figueroa por su valiosa ayuda en el presente trabajo.
- A LA SEÑORA Ana María de Taracena, por su colaboración en el levantado del texto de la presente tesis.

CONTENIDO

	PAGINA
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. HIPOTESIS.....	4
4. REVISION DE LITERATURA.....	5
5. MATERIALES Y METODOS.....	
5.1 DETERMINACION DEL MEJOR MEDIO DE CULTIVO EN LA PRODUCCION MASIVA.....	9
5.2 INFLUENCIA DE LA LUZ Y TEMPERATURA EN LA PRODUC- CION	9
5.3 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO EN 20 ESPECIES PLAGA.....	10
6. RESULTADOS	
6.1 DETERMINACION DEL MEJOR MEDIO EN LA PRODUCCION MASIVA.....	13
6.2 INFLUENCIA DE LA LUZ Y TEMPERATURA EN LA PRODUC- CION.....	13
6.3 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD DEL HONGO EN 20 ESPECIES DE PLAGA.....	16
7. DISCUSION DE RESULTADOS.....	18
8. CONCLUSIONES.....	20
9. RECOMENDACIONES.....	21
10. BIBLIOGRAFIA.....	22

LISTA DE CUADROS

	PAGINA
CUADRO 1: Nombre común, nombre científico, lugar de recolección y estados del insecto inoculados con el hongo <u>Entomophthora</u> sp.....	10
CUADRO 2: Producción de propágulos 10 ⁶ /cc del hongo <u>Entomophthora</u> a tres diferentes temperaturas, con luz y oscuridad en cinco medios de cultivo.....	13
CUADRO 3: Análisis de varianza del número de propágulos/cc del hongo <u>Entomophthora</u> sp. por efecto de la luz, temperatura y medios...	14
CUADRO 4: Comparación de medias del número de propágulos/cc del hongo <u>Entomophthora</u> sp, en cinco medios de cultivo, tres temperaturas con luz y oscuridad.....	15

LISTA DE FOTOS

	PAGINA
FOTOGRAFIA 1: Clamidosporas del hongo <u>Entomophthora</u> aisladas de chinche salivosa <u>Aenolamia postica</u>	24
FOTOGRAFIA 2: <u>Entomophthora</u> sp. parasitando <u>Aenolamia postica</u> adultos.....	24
FOTOGRAFIA 3: <u>Phyllophaga</u> sp. en estado de larva parasitada por <u>Entomophthora</u> sp.....	25
FOTOGRAFIA 4: Adultos de <u>Anopheles</u> sp. parasitados por <u>Entomophthora</u> sp.....	25

1. RESUMEN

En Guatemala en los últimos tres años se ha estado impulsando el Manejo Integrado de Plagas, como una filosofía nueva de manejo de plagas la cual hace uso máximo de los agentes de mortalidad natural que existen en los ecosistemas agrícolas. Dentro de estos tenemos los agentes de control tales como lo son las bacterias, hongos, virus, nemátodos, etc. que afectan las poblaciones de insectos plaga llevándolos a los niveles abajo del umbral económico de daño siempre que dentro del ecosistema se den las interrelaciones óptimas. Así en una de las fincas cañeras que comprende el Ingenio Concepción en el departamento de Escuintla, Guatemala; fueron encontrados adultos de chinche salivosa (Aenolamia postica) parasitados por un hongo que después de las pruebas de laboratorio fue identificado como perteneciente a la clase phycomycetes, orden Entomophthorales, género Entomophthora; a partir de este aislamiento inicial el inóculo se incrementó en tubos de PDA y mantenidos a temperatura de 19°C.

Como sustratos para la reproducción masiva del entomopatógeno aislado se probaron: arrizos, maíz quebrado, sorgo, trigo y cebada; todos precocidos. Luego en frascos enlenmeyer se colocaron 30g de cada medio con cuatro repeticiones de cada uno, esterilizados en autoclave a 120°C durante 30 minutos, en los que luego del enfriamiento en la cámara aséptica se procedió a la siembra, y observándose los frascos durante 20 días. De las cuatro repeticiones sólo dos se cubrieron totalmente con papel aluminio, evaluando las temperaturas de 22, 26 y 30°C.

Se recolectaron especímenes sanos de las siguientes clases de insectos plaga en estados de larva o adulto: Chinche salivosa (Aenolamia postica), mosca común (Musca domestica), gusano peludo (Estigmene acrea) áfidos (Aphis sp.), gusano de la col (Pieris brassicae), cornudo del tabaco (Manduca sexta), picudo del algodón (Anthonomus grandis), gallina ciega (Phyllophaga sp y Mellolontha sp.), falso medidor (Trichoplusia

ni), mosca del mediterraneo (Ceratitis capitata), gusano cogollero (Spodoptera frugiperda), zancudos (Anopheles sp.), gusano soldado (Spodoptera exigua), mosca blanca (Bemisia tabaci), picudo de la vaina del frijol (Aphion godmani), picudo del cardamomo (Cholus sp.) picudo del chile (Anthonomus eugeni), tortuguillas (Diabrotica sp.), araña roja (Tetranychus sp.). Se colocaron 10 insectos por cada repetición y a los que se inoculó con una concentración de 2×10 propágulos/cc, colocando cinco gotas de la suspensión de propágulos por insecto, mientras que los testigos se trataron con agua estéril.

El mejor medio para la reproducción del hongo resultó el arroz, sin embargo la temperatura y la luz no influyeron significativamente en la esporulación. En cambio la diferencia si fue significativa respecto al medio probado como sustrato para el incremento del entomopatógeno.

De las 20 especies inóculas, las especies de áfidos, mosca común, gallina ciega (solamente phyllophaga sp.), falso medidor, mosca del mediterraneo, chinche salivosa, zancudos, picudos de la vaina del frijol mostraron porcentajes de parasitismo que flucturaron entre un 70 y 95%.

2. INTRODUCCION

Los países subdesarrollados como el nuestro, tienen una agricultura que muestra diferencias muy grandes en cada una de sus áreas de producción. Es así como la zona occidental de Guatemala tiene un nivel muy pobre en cuanto a tecnología empleada en su producción así también el gasto de insumos y productos químicos es bastante reducido dado que la mayoría de productos son de subsistencia.

Mientras que las zonas Sur y Oriental donde la mayoría de productos son de exportación cuentan con una tecnología más avanzada y por ende una mayor inversión de recursos económicos en la compra de productos agrícolas que ayuden a mejorar producciones en áreas más reducidas. Esto ha llevado a buscar nuevas opciones en lo que se refiere al Manejo Integrado de Plagas de Insectos. El término Control Integral fue usado por primera vez por Bartlett en California "y se basa en la obtención de máxima eficiencia de los agentes de control natural ya establecidos en un sistema ecológico". (13)

A partir del concepto ecológico antes expuesto podemos establecer que entre los organismos vivientes y no vivientes que se encuentran en una estrecha interrelación en un área, es aquí donde las áreas extensivas con un solo cultivo han roto todas estas interrelaciones provocando desequilibrio, induciendo con esto al crecimiento de algunas poblaciones que provocan pérdidas en cantidad y calidad en la producción, como consecuencia en el incremento de poblaciones el renglón de insumos en la agricultura ha alcanzado niveles muy altos provocando disminuciones en la rentabilidad de los cultivos.

Esto ha involucrado la búsqueda de rutas alternativas para el control de estas poblaciones, es así como el control biológico ha ido incrementándose en los últimos años en nuestro país como el estudio y la determinación de nuevos agentes de control natural.

Fue así como se planteo la realización de la presente investigación con los siguientes objetivos.

1. Determinar el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno, mediante el uso de productos no elaborados entre los siguientes granos básicos: maíz quebrantado, arroz, sorgo, cebada y trigo.
2. Determinar la influencia de la luz y temperatura en la producción masiva del entomopatógeno.
3. Determinar la susceptibilidad de 20 especies de insectos plaga al entomopatógeno.

3. HIPOTESIS

1. Al menos uno de los cinco medios evaluados es superior para el desarrollo masivo del entomopatógeno.
2. La luz y la temperatura si afectan en alguna forma la reproducción masiva del entomopatógeno.
3. Al menos una de las 20 especies de insectos plaga evaluadas es susceptible al entomopatógeno.

4. REVISION BIBLIOGRAFICA

En Guatemala en los últimos tres años se ha estado impulsando el el Manejo Integrado de Plagas, como una filosofía nueva de manejo de plagas la cual hace uso máximo de los agentes de mortalidad natural que existen en los ecosistemas agrícolas. Dentro de estos agentes de control se tienen: bacterias, hongos, virus, nemátodos, etc. que afectan a las poblaciones de insectos plaga llevandolos a los niveles abajo de los umbrales económicos de daño, siempre que dentro del ecosistema se den las interrelaciones óptimas. Sin embargo en la agricultura moderna no ocurre esto en forma natural, sino que tendrá que manejarse el ecosistema a manera de propiciar el desarrollo de la epizootia en el momento más adecuado, para prescindir al mínimo del uso de plaguicidas químicos de los cuales se conocen la secuela de daños por el uso indiscriminado de los mismos.

El control biológico como un componente del manejo integrado de plagas se está desarrollando en muchos países que quieren desarrollar una agricultura moderna y más armónica con la naturaleza y dentro de los agentes de control biológico que se utilizan juegan un papel muy importante los hongos entomopatógenos, es así como en diversos países se realizan liberaciones masivas de hongos, en Brasil con el hongo Metarrhizium anisopliae (7). En México con las liberaciones masivas se controla gusano peludo (Estigmene acrea), (2). También se hacen liberaciones de entomopatógenos en Suecia y Estados Unidos (14). En América del Sur en Argentina y Chile específicamente con buen éxito liberaciones masivas en campo de hongos entomopatógenos como lo son Entomophthora y Beauveria bassiana (6).

Si se emprende la búsqueda de estos y otros agentes bióticos de mortalidad en nuestros sistemas agrícolas las encontramos en abundancia, pero se necesita realizar esta ardua tarea mediante programas de investigación. Para ello basta estudiar las epizootias que se desarrollan en los cultivos, estudiando la causa de los mismos, aislar, identificar, e incrementar los agentes bióticos cuando este fuera el caso. Posteriormente investigar la forma más adecuada de utilizarse estos entomopatógenos en el campo.

Fue así como en una de las fincas cañeras que comprende el Ingenio Concepción en el departamento de Escuintla, Guatemala, se observaron individuos de chinche salivosa (Aenolamia postica) muertas con diferente posición en las alas dado que algunas tenían las alas abiertas y otras con las alas cerradas. Según algunos técnicos nacionales esta diferencia en la posición de las alas correspondía a:

Las alas abiertas cuando estaban siendo parasitadas por el hongo Entomophthora, mientras que las chinches muertas con las alas cerradas era un síntoma indicativo que estaban siendo parasitadas por el hongo Metarrhizium. Fue así como en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se procedió a confirmar tal aseveración, encontrándose que en ambos casos las chinches procedentes de la finca cañera ya mencionada, eran parasitados únicamente por el hongo Entomophthora.

Este hongo pertenece a la clase Phycomycetes, orden Entomophthorales. El primer reporte que se tiene de una infección causada por el hongo Entomophthora fue reportado en moscas (Musca doméstica) por De Geer en 1796 (6). Ulliet y Schoken en 1949 reportaron por primera vez la infección del hongo Entomophthora sobre el gorgojo Halotydeus destructor (3). Pelch en 1940 reportó parasitismo de Entomophthora en larvas de Plutella maculipennis siendo el primer estadio larval más resistente a la infección del hongo. (2). Fisher en 1951 reportó parasitismo de Entomophthora sobre Panonychus citri (3). Los hongos parasitarios de Eutetranychus banskii fueron reportados por Fisher en 1954 identificando el organismo causante como un hongo del género Entomophthora (1). En México se han realizado liberaciones para el control de gusano peludo Estigmene acrea y langostas en 1960 (2). Así también Smith y Abbot llevaron a cabo experimentos para el control de gusano soldado Spodoptera frugiperda (2). Yendol y Pascke en 1965 describieron parasitismo en áfidos y mosquitos (4). Shelnne y Numa en 1966 observaron parasitismo en Eutetranychus sexmaculatus (1). Carner y Carneday observaron a Entomophthora infectando Tetranychus telarius y Tetranychus urticae (8).

Krejzova en 1972 cita a Entomophthora grilly parasitando saltamontes (3). Klein y Coppel citan parasitismo de Entomophthora en gorgojos investigación llevada en 1973 (4). MacLeod cita a Entomophthora parasitando mosca sierra experimento llevado a cabo en 1976 (8). Kramer reporta parasitismo de Entomophthora culicidi en adultos de Aedes aegypty (9). Carner conjujo experimentos para el control de termitas con Entomophthora en 1977 (8). Brandenburg reporta Entomophthora parasitando Tetranychus telarianus en 1982 (7). Wilding realizó trabajo sobre parasitismo en áfidos en 1983 (15). Alexopolus reporta enfermedad causada en seres humanos* por Entomophthora coronata (3). Sopper y colaboradores reportan control del hongo sobre Therioahis trifolli en California en 1965 (10).

MacLeod reporta control sobre Acythosiplon pisum con Entomophthora aphidis (15). En Africa existen registros sobre control de Phynete fabrisius en 1957 con el hongo Entomophthora (12). Hoffman reporta control de áfidos del género Pemphigus betae (12). Reportes de Entomophthora muscae parasitando dípetos del género Lucilia y Calliphora (12). Freisus reporta control sobre Pieris brassicae con Entomophthora sphaerosperma (12). El mismo autor describe control sobre Draucelacephala minerva con el mismo entomopatógeno (15). Dustan reporta control de Entomophthora sobre Psyllia mali (12, 1, 4).

Diversos estudios llevados acabo sobre todo en los Estados Unidos con este hongo sobre las vías de infección o acceso del hospedante se han plantado dos alternativas, siendo las siguientes:

1. Corroborada en diversos estudios la penetración del hongo del hospedante al romper el integumento e ingresar al interior por fragmentación de los talos y las hifas (6).
2. La otra alternativa es que la ruta de ingreso sea la boca aunque esto parece poco probable, que sea el tipo de alimentación o dieta de los insectos (6).

Algunos autores (8 y 3), realizaron experimentos relacionados a los factores nutricionales determinandose que algunas especies de Entomophthora como E. coronata y E. virulenta, crecen y esporulan bien en un medio sólido o líquido con harina de frijol soya, harina de semilla de algodón, glucosa, maltosa y maíz fermentado. Gustaffson en 1969 determinó que el medio antes mencionado como el mejor para la esporulación.

También los factores nutricionales juegan un papel importante en la esporulación, aunque ciertas especies no cuentan con evidencias concluyentes que un factor nutricional específico sea requerido para la esporulación pero no para el desarrollo. Hall y Dunn en 1958 encontraron que el medio necesitaba ser enriquecido con un cereal a fin de obtener un crecimiento adecuado y una buena producción de esporas de Entomophthora muscae y Entomophthora exitialis. (6)

Cohn indica que para el desarrollo de los conidios y estados resistentes es necesario el cultivo en gelatina y sangre (6). Sawyer en 1929 encontró que los carbohidratos y las grasas no son esenciales para el crecimiento de las especies de Entomophthora mientras que las proteínas son necesarias para completar el ciclo de vida (6).

En vista del anterior hallazgo y el hecho de que en Guatemala no existen estudios realizados con el hongo Entomophthora se planteo la posibilidad de poder utilizar aislamientos locales de este hongo para el control de chinche salivosa y otras plagas que este pudiese parasitar. Con el presente estudio se pretende generar información básica para la utilización del hongo en nuestro medio.

5. MATERIALES Y METODOS

- 5.1 Con el objeto de encontrar el medio más económico y en el que esporule mejor el hongo Entomophthora se procedió de la siguiente manera:

A partir del aislamiento inicial del hongo se incrementó el inóculo en PDA, utilizando para ello tubos de ensayo que fueron mantenidos a 29°C.

El segundo paso consistió en la preparación de 20 enlenmeyer de 125 cc de capacidad, con 30 g de cada uno de los cinco medios. Teniendo cada medio de cultivo cuatro repeticiones, donde cada enlenmeyer constituyó una repetición.

Posteriormente todos los medios fueron colocados en el autoclave horizontal y esterilizados durante 30 minutos a 120°C luego de un lapso de espera de 120 minutos para el enfriamiento fueron trasladados a la cámara aséptica.

En la cámara se procedió a preparar suspensiones fungicas con el hongo en agua estéril contenida en tubos con rosca, de estos tubos se tomó con una jeringa hipodérmica desechable; y se agregó un centímetro cúbico de la suspensión a cada enlenmeyer conteniendo los medios a evaluar.

- 5.2 Influencia de la luz y la temperatura sobre la producción masiva del entomopatígeno.

Para esto se realizaron cuatro repeticiones por cada medio de los cuales dos se cubrieron en forma completa con papel aluminio con esto se evaluo el factor luz en cada uno de los medios, además se introdujo un foco de 25W en la incubadora, pero esto incrementó la temperatura inhibiendo el crecimiento del hongo, por lo que el foco fue desechado. Se realizaron tres repeticiones completas variando las temperaturas a 22, 26 y 30° respectivamente evaluando así el parámetro de temperatura, ambos en función de la cantidad de propágulos producidos en cada medio y cada temperatura;

para esto se diluyeron los 30 g de cada medio en 1000 cc de agua, luego con una agitadora de suelo se separó el micelio del medio, luego se tomó una alicuta y por medio de un Hematocímetro se tomaron registros de cada medio para determinar el de mayor producción de propágulos del hongo.

5.3 Susceptibilidad de 20 especies de insectos plaga al entomopatógeno.

Una vez incrementado el hongo se procedió a la recolección de insectos de las especies plaga más importantes económicamente en nuestra agricultura los que se presentan en el Cuadro No. 1.

CUADRO 1:

NOMBRE CIENTIFICO, NOMBRE COMUN, LUGAR DE RECOLECCION Y ESTADOS
DEL INSECTO INOCULADOS CON EL HONGO ENTOMOPHTHORA SP.,
GUATEMALA, 1984.

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	PROCEDENCIA	ESTADO
<u>Estigmene acrea</u>	gusano peludo	ciudad capital	larva
<u>Musca domestica</u>	mosca común	ciudad capital	adultos
<u>Aphis sp.</u>	áfidos	ciudad capital	adultos
<u>Diabrotica sp.</u>	tortuguillas	Chimaltenango	adultos
<u>Pieris brassicae</u>	gusano de la col	ciudad capital	larvas
<u>Antonomus grandis</u>	picudo del alg.	Escuintla	adultos
<u>Manduca sexta</u>	cornudo del tab.	Barcena V.N.	larvas
<u>Cholus sp.</u>	picudo del card.	Retalhuleu	adultos
<u>Anthonomus eugeni</u>	picudo del chile	Barcena V.N.	adultos
<u>Aenolamia postica</u>	chinche salivosa	Escuintla	adultos
<u>Ceratitis capitata</u>	mosca del medit.	Sn. M. Petapa	adultos
<u>Phyllophaga sp.</u>	gallina ciega	Barcena V.N.	larvas
<u>Trichoplusia ni</u>	falso medidor	ciudad capital	larvas

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	PROCEDENCIA	ESTADO
<u>Spodoptera frugiperda</u>	gusano cogollero	Santa Rosa	larvas
<u>Mellolontha</u> sp.	gallina ciega	Barcena V.N.	larvas
<u>Anopheles</u> sp.	zancudos	ciudad capital	larvas y adultos
<u>Tetranychus</u> sp.	araña roja	ciudad capital	adultos
<u>Spodoptera exigua</u>	gusano soldado	ciudad capital	larvas
<u>Bemisia tabaci</u>	mosca blanca	ciudad capital	adultos
<u>Apion godmani</u>	picudo de la v.d.f.	Barcena V.N.	adultos

De cada especie plaga se colocaron 10 insectos por caja con cuatro repeticiones, estos insectos fueron inoculados con una suspensión del hongo en agua estéril (cinco gotas por insecto) con una concentración de 2×10^6 propágulos/cc dejando a el mismo número de cajas inoculadas unicamente con agua estéril (cinco gotas por insecto) que sirvieron como testigo.

La revisión de las cajas inoculadas se hizo a partir del quinto día después de la inoculación y en forma periódica se llevó un registro cada dos días por espacio de 20 días máximo.

Para la escogencia del mejor medio de cultivo se tomó en cuenta el número de propágulos/cc y el precio de los diferentes sustratos utilizados como medio de reproducción. Los resultados se analizaron utilizando el Modelo estadístico de un diseño completamente al azar con arreglo factorial, cuyo modelo es:

$$Y_{jklm} = U + \alpha_k + \beta_l + \gamma_m + \delta_{kl} + \epsilon_{km} + \eta_{lm} + \zeta_{jklm} + E_{jklm}$$

donde:

Y_{jklm} = variable respuesta de la jklm-enésima unidad experimental

- U = efecto de la media general
- k α = efecto del k-ésimo tratamiento
- l δ = efecto del l-ésimo tratamiento
- m ρ = efecto de m-ésimo tratamiento
- kl $\alpha\delta$ = efecto del kl-ésimo tratamiento
- lm $\delta\rho$ = efecto del lm-ésimo tratamiento
- km $\alpha\rho$ = efecto del km-ésimo tratamiento
- lmk $\alpha\delta\rho$ = efecto del klm-ésimo tratamiento
- ejklm = error experimental de la jklm-ésima unidad experimental

Las medias del número de propágulos/cc de suspensión se compararon mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia, usando como comparador:

$$W_p = q \ 5\% (30, 30) S\bar{x}$$

(Valores $\times 10^5$) Guatemala, 1964.

DONDE:

30 = grados de libertad de error

30 = números de medias a comparar

$S\bar{x}$ = error standard del experimento = $\sqrt{\frac{\text{C.M. error}}{\text{No. repeticiones}}}$

En la determinación del parasitismo de las plagas en estudio por el hongo Entomophthora, se comprobaron mediante el porcentaje de parasitismo en cada especie de insectos muertos y parasitados en los tratamientos con hongo. El testigo se utilizó como comparador visual o para poder determinar los cambios que ocurren en los insectos antes de morir y presentar síntomas de parasitismo por el hongo.

2. Influencia de la luz y la temperatura en la reproducción del hongo.

El cuadro 2 presenta los valores producidos en la reproducción del hongo. En el mismo se aprecia la variación en los diferentes medios evaluados y el número de propágulos/cc producidos en los mismos.

6. RESULTADOS

1. Determinación del mejor medio para la reproducción masiva del entomopatógeno.

A los 20 días posteriores a la siembra del hongo en los frascos enlenmeyer se procedió a realizar el conteo de propágulos/cc. en cada uno de los cinco medios probados, a las tres diferentes temperaturas usadas y bajo las condiciones de luz utilizadas. Los resultados de esta prueba se consignan en el cuadro 2.

CUADRO 2

PRODUCCION DE PROPAGULOS/cc* DEL HONGO ENTOMOPHTHORA SP.
A TRES DIFERENTES TEMPERATURAS, CON LUZ Y OSCURIDAD
EN CINCO MEDIOS DE CULTIVO.
(Valores x 10⁶) Guatemala, 1984.

MEDIOS DE CULTIVO	22°C		26°C		30°C	
	Luz	Osc.	Luz	Osc.	Luz	Osc.
Arroz	2.25	1.94	2.15	2.22	2.36	2.24
Maíz Quebrantado	1.74	1.69	1.78	1.565	1.94	1.82
Sorgo	0.92	0.88	0.91	0.87	1.08	0.83
Cebada	0.97	0.78	0.91	0.97	0.83	0.93
Trigo	0.78	0.78	0.89	1.05	1.07	0.96

* Propágulos (cualquier parte del soma del hongo capaz de ocasionar infección.

2. Influencia de la luz y la temperatura en la producción del hongo.

El cuadro 2 presenta los valores promedio en la esporulación del hongo. En el mismo se aprecia la variación en los diferentes medios evaluados y el número de propágulos/cc producidos en los mismos.

El análisis de varianza que se utilizó para determinar la influencia de la temperatura, luz y oscuridad y los medios se presenta en el cuadro 3 donde puede apreciarse que existe diferencia significativa en la interacción de la temperatura, luz, oscuridad y medios afectando de este modo la producción de propágulos del hongo, como se muestra en la comparación de medias del número de propágulos/cc del hongo Entomophthora sp. en el cuadro 4.

CUADRO 3

ANALISIS DE VARIANZA DEL NUMERO DE PROPAGULOS/CC DEL HONGO
ENTOMOPHTHORA SP. POR EFECTO DE LA LUZ, TEMPERATURAS Y
 MEDIOS DE CULTIVO.
 (GUATEMALA, 1984)

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S. DE CUADRA DOS	C. MEDIOS	Fc.	Ft.
Tratamientos	29	1.80448×10^{13}	6.22234×10^{11}	23.65*	1.85
Temperaturas	2	1.47884×10^{11}	7.39420×10^{10}	2.81	3.32
Medios de cultivo	4	1.74071×10^{13}	4.35178×10^{12}	165.38*	2.69
Luz - oscuridad	1	6.78000×10^{10}	6.7800×10^{10}	2.58	4.17
Temp. medios	8	1.54716×10^{11}	8.47930×10^{10}	3.22*	2.27
Temp. Luz, osc.	2	6.32000×10^{10}	3.16000×10^{10}	1.20	3.32
Medios-luz osc.	4	2.81600×10^{10}	7.02900×10^9	0.27	2.69
Temp. medios, luz	8	9.65384×10^{11}	1.20673×10^{11}	4.58*	2.27
error	30	7.89400×10^{11}	2.63133×10^{10}		
Total	59	1.88342×10^{13}			

* Indica diferencia significativa al 5% para Ft.

COEFICIENTE DE VARIACION = 12.13%

CUADRO 4

COMPARACION DE MEDIAS: NUMERO DE PROPAGULOS/CC DEL HONGO
ENTOMOPHTHORA SP. EN CINCO DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO,
 TRES TEMPERATURAS, CON LUZ Y OSCURIDAD.
 GUATEMALA, 1984.

MEDIO	CONDICION	TEMPERATURA	MEDIAS
arroz	luz	30	2.36x10 ⁶ ...
arroz	luz	22	2.25x10 ⁶ ...
arroz	oscuridad	30	2.24x10 ⁶
arroz	oscuridad	26	2.22x10 ⁶ ...
arroz	luz	26	2.15x10 ⁶
arroz	oscuridad	22	1.94x10 ⁶
maíz	luz	30	1.94x10 ⁶
maíz	oscuridad	30	1.82x10 ⁶
maíz	luz	26	1.78x10 ⁶
maíz	luz	22	1.74x10 ⁶
maíz	oscuridad	22	1.69x10 ⁶
maíz	oscuridad	26	1.69x10 ⁶
sorgo	luz	30	1.56x10 ⁶
trigo	luz	30	1.08x10 ⁶
trigo	oscuridad	26	1.07x10 ⁶
cebada	oscuridad	26	1.05x10 ⁶
cebada	luz	22	0.969x10 ⁶
trigo	oscuridad	30	0.969x10 ⁶
cebada	oscuridad	30	0.960x10 ⁶
sorgo	luz	22	0.926x10 ⁶
sorgo	luz	26	0.920x10 ⁶
cebada	luz	26	0.913x10 ⁶
trigo	luz	26	0.909x10 ⁶
sorgo	oscuridad	22	0.893x10 ⁶
sorgo	oscuridad	26	0.876x10 ⁶

MEDIO	CONDICION	TEMPERATURA	MEDIAS	
sorgo	oscuridad	30	0.867×10^6	f
cebada	luz	30	0.832×10^6	
trigo	luz	22	0.832×10^6	
trigo	oscuridad	22	0.780×10^6	
cebada	oscuridad	22	0.778×10^6	

COMPARADOR $W_p = 0.198 \times 10^6$ Propágulos/cc.

3. Prueba de patogenicidad del hongo sobre 20 especies de insectos y arácnidos plaga inoculados.

Los insectos parasitados por el hongo fueron observados durante 20 días, con revisiones periódicas cada dos días. Los insectos muertos se colocaron en cajas de Petrí, con papel filtro humedecido con agua estéril, luego de 24 a 48 horas de haber colocado los insectos en estas cajas se observó el aparecimiento del micelio blanco cremoso del hongo, que emerge por todo el integumento del cuerpo del insecto, el que permanece así por espacio de 10 a 15 días antes de desecarse completamente.

El cuadro 5 presenta el porcentaje de parasitismo obtenidos en las 20 especies de insectos inoculados y los días promedio en que se manifiesta el hongo.

CUADRO 5

EFFECTO DE LA INOCULACION DE ENTOMOPHTHORA SP. EN 20 ESPECIES PLAGA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.
GUATEMALA, 1984

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	ESTADO DEL INSECTO	INSECTOS INOCULADOS	INSECTOS PARASITADOS	% PARASIT.
<i>Estigmene acrea</i>	gusano peludo	larva	40	0	0
<i>Musca doméstica</i>	mosca común	adultos	40/10*	12	70
<i>Aphis</i> sp.	áfidos	adultos	200/3	180	95
<i>Diabrotica</i> sp.	tortuguillas	adultos	40	0	0
<i>Pieris brassicae</i>	gusano de la col	larvas	40	0	0
<i>Anthonomus grandis</i>	picudo del alg.	adultos	40	0	0
<i>Manduca sexta</i>	cornudo del tab.	larvas	40	0	0
<i>Cholus</i> sp.	picudo del card.	adultos	40	0	0
<i>Anthonomus eugeni</i>	piduco del chile	adultos	40/15	25	62.5
<i>Aenolamia postica</i>	chinche salivosa	adultos	40/8	38	95
<i>Ceratitis capitata</i>	mosca del medit.	adultos	40/8	34	85
<i>Phyllophaga</i> sp.	gallina ciega	larvas	40/15	36	90
<i>Trichoplusia nii</i>	falso medidor	larvas	40/8	37	92.5
<i>Spodoptera frug.</i>	gus. cogollero	larvas	40	0	0
<i>Mellolontha</i> sp.	gallina ciega	larvas	40	0	0
<i>Anopheles</i> sp.	zánqudos	adultos	40/5	36	90
<i>Tetranychus</i> sp.	araña roja	adultos	40	0	0
<i>Spodoptera exigua</i>	gusano soldado	larvas	40	4	10
<i>Bemisia tabaci</i>	mosca blanca	adultos	40	0	0
<i>Apion godmani</i>	picudo v. del fr.	adultos	40	36	90

* días en que aparece el hongo en los insectos después de la inoculación.

7. DISCUSION DE RESULTADOS

Como lo muestran los resultados obtenidos del cuadro 2, el mejor medio para la reproducción masiva del entomopatógeno, es el arroz a temperaturas que oscilen entre 22 y 30°C. ya que con este medio y con estas temperaturas, se obtiene un buen crecimiento del hongo. El maíz quebrantado también es un buen medio, pero debido al método de quebrantamiento utilizado (piedra) se tuvieron muchos problemas con bacterias que no fueron identificadas.

Con los otros medios evaluados no se tiene diferencia significativa por lo tanto los resultados obtenidos son similares entre si pero muy bajos en comparación a la producción de propágulos lograda en arroz y maíz quebrantado.

Económicamente los medios evaluados difieren en el precio de adquisición en el mercado, siendo así que el costo de cada uno por kilogramo es el siguiente: arroz Q.0.55/kg, maíz Q.0.22/kg, los precios de los dos mejores medios difieren entre si, pero con arroz no existen problemas de contaminación por quebrantamiento, además rinde un volumen mucho más de dos veces que el maíz.

En lo referente a los otros medios evaluados (sorgo, cebada, trigo) los precios de los mismos en el mercado local son de Q.0.33, 0.66 y 0.88/kg respectivamente pero el crecimiento del hongo es reducido.

En la determinación de la influencia de la luz y la temperatura en el crecimiento del hongo no es significativa, y la significancia que se aprecia en el cuadro 3 se debe sobre todo al medio que se utiliza como sustrato dado que no existe significancia por si solo de los parámetros de luz y temperatura.

Respecto a las pruebas de patogenicidad realizadas se determinó que las especies de áfidos, falso medidor, mosca del mediterráneo, mosca común, chinche salivosa, gallina ciega, zancudos, gorgojos de la vaina del frijol se obtuvieron altos porcentajes de parasitismo.

No así en el resto de especies que no muestran ninguna susceptibilidad al hongo.

En larvas de zancudos se observa un control de 100% pero debido al medio líquido en el que se desarrolló la prueba el hongo no se manifestó. También las tortuguillas del género Diabrotica sp. no muestran ninguna susceptibilidad al hongo. Los áfidos, se desprenden al tercer día luego de inoculados lo que confirma lo reportado por Aruta (5).

8. CONCLUSIONES

1. El mejor medio para la reproducción del hongo es el arroz a temperaturas que oscilen entre 22 y 30°C. en su orden puede usarse maíz quebrantado pero con un sistema de quebrantamiento diferente al evaluado en este trabajo, los otros tres medios evaluados no tienen diferencia significativa entre ellos de tal manera que pueden utilizarse indistintamente.
2. Para la evaluación de los factores: luz y temperatura, los valores obtenidos no muestran ninguna significancia, por lo tanto puede utilizarse cualquiera de las tres temperaturas evaluadas, y el factor luz en la forma probada.
3. Solamente las siguientes ocho de las 20 especies evaluadas son altamente susceptibles al hongo: áfidos Aphis sp., chinche salivosa Aenolamia postica, mosca del mediterráneo Ceratitis capitata, gallina ciega Phyllophaga sp., falso medidor, Trichoplusia ni, zancudos Anopheles sp., mosca común, Musca doméstica, picudo de la vaina del frijol, Apion godman con porcentajes de parasitismo que fluctúan entre 70 y 95%.

9. RECOMENDACIONES

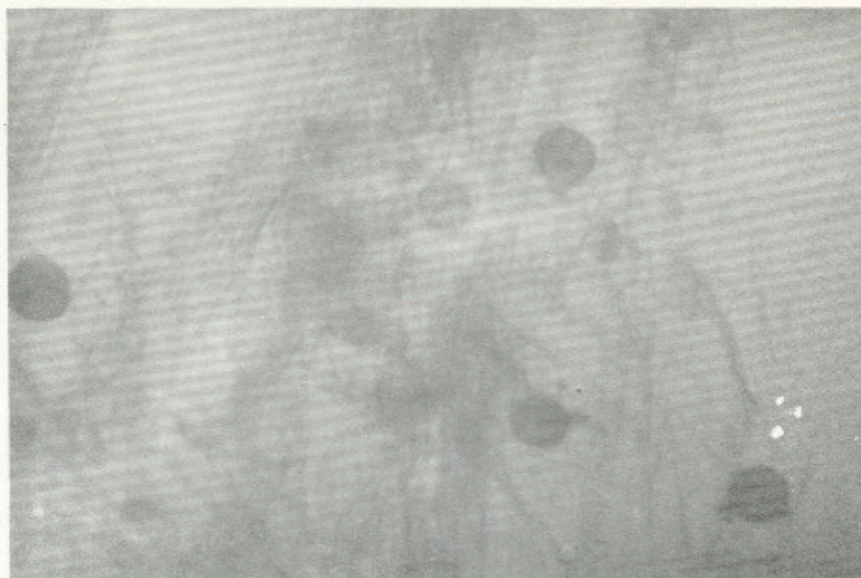
1. Se recomienda la reproducción masiva del hongo Entomophthora sp. utilizando como medio o sustrato, el arroz precocido e incubarlo a temperaturas que oscilen entre 22 y 30°C.
2. Dado que a nivel de laboratorio presentaron buenos porcentajes de parasitismo por el hongo se recomienda hacer ensayos de campo para el control de: gallina ciega (Phyllophaga sp.), chinche salivosa (Aenolamia postica), áfidos (Aphis sp.), moscas del mediterráneo (Ceratitis capitata), mosca común (Musc doméstica) falso medidor (Trichoplusia ni), zancudos (Anopheles sp.), picudo de la vaina del frijol (Aphion godmani).
3. Así mismo, llevar a cabo nuevos ensayos de parasitismo con otras plagas de importancia nacional.

10. BIBLIOGRAFIA

1. AINSWORT, G.C. and SSUSMAN, A.S. The fungi; and advanced treatise. New York, Academic Press, 1968. v. 3 pp. 228-235.
2. ALCONCER GOMEZ, L. El combate microbiológico de algunas plagas por medio de agentes patógenos para insectos. Fitofilo (Mé-co) 26:5-22. 1968.
3. ALEXOPOLUS, C.J. Introductory micology. Canadá, Wiley, 1979. pp. 218-221.
4. ALLEN, C.G. IGNOFFO, C.M. and JAQUES, R.P. Microbial control of insects pests, future strategies in pest management systems. USDA/University of Florida, 1978. pp. 229-230.
5. ARUTA, C., CARRILLO, R. y GONZALEZ, S. Determinación para Chile de hongos entomopatógenos del género Entomophthora. Agro Sur (Chile) 2 (2):62-70. 1974.
6. BACH, P. DE. Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Trad. por Carlos Manuel Castaños. México, Continental, 1969. pp. 614-734.
7. BRANDEMBURG, R.C. and KENEDDY, G.C. Relation ship of Neozygetes floridana to two apotted spider mite tetranychus u. Economy Control entomol. 75(4):691-694. 1982.
8. BURGESS, H.D. and HUSSEY, N.W. Microbial control of insects and mmites. London, Academic Press, 1971.
9. KRAMER, J.P. Entomophthora culici as a pathogen of adults Aedes aegypty. Aquat insect. 4(2):221-228. 1983.
10. PITZPATRICK, H.M. The lower fungi Phycomycetes. Washington, Mac Graw Hill, 1930. pp. 292-298.
11. RODAS CASTAÑEDA, E. Evaluación de medios de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno Beauveria bassiana bals. (Vuil). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1981. 53p.
12. STEINHAUS, E.A. Principles of insects pathology. Washington, Mac-Graw Hill, 1949. pp. 320-340.
13. U.S. NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCE. Manejo y Control de plagas de insectos. Trad. por Modesto Rodríguez de la Torre. México, Limusa, 1982. v. 3, p. 522.

14. _____. Microbial processes. Washington, 1979. pp. 98-102.
15. WILDING, N.C. The effect of the insecticides in the population of aphidis. Ann. Opl. of Biology. 100(2):73-79. 1982.





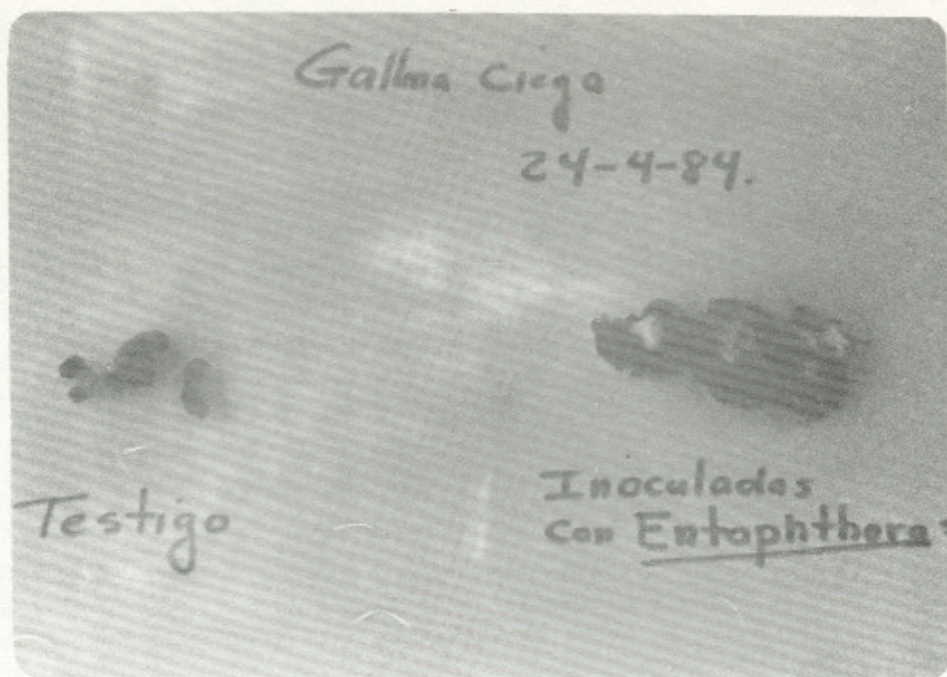
FOTOGRAFIA 1

CLAMIDOSPORAS DEL HONGO ENTOMOPHTHORA, AISLADAS DE CHINCHÉ SALIVOSA.
(AENOLAMIA POSTICA).



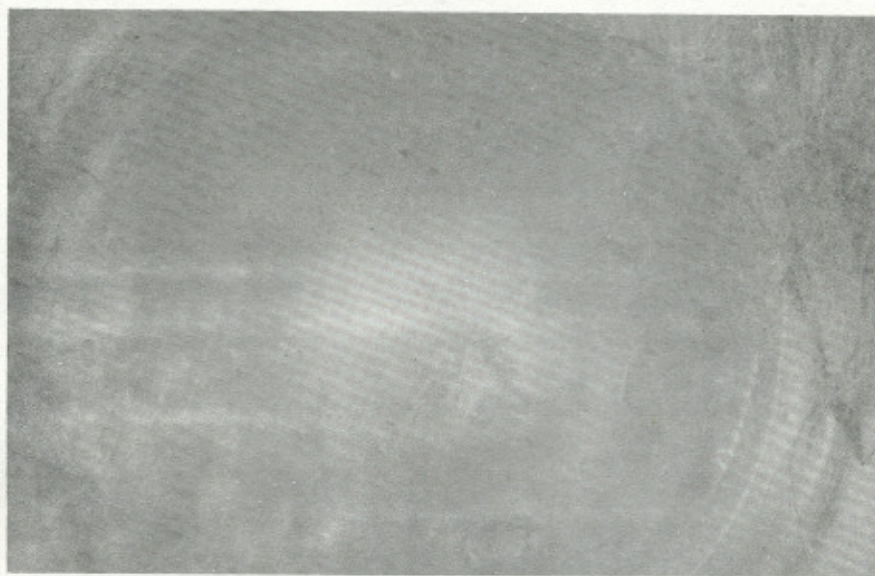
FOTOGRAFIA 2

ENTOMOPHTHORA SP. PARASITANDO AENOLAMIA POSTICA ADULTOS.



FOTOGRAFIA 3

PHYLLOPHAGA SP. EN ESTADO DE LARVA PARASITADO POR ENTOMOPHTHORA SP.



FOTOGRAFIA 4

ADULTOS DE ANOPHELES SP. PARASITADOS POR ENTOMOPHTHORA SP. GUAT. 1984

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



Ciudad Universitaria, Zona 12
GUATEMALA, CENTROAMERICA

"IMPRIMASE"


Ing. Agr. César Castañeda
DECANO

